



**UZUN SÜRELİ EGZERSİZ EĞİTİMİ (ANTRENMAN) YAPMIŞ
SIÇANLARLA, AKUT OLARAK KOŞTURULAN SIÇANLARDA
TÜKETİCİ EGZERSİZ SONRASI KALP DOKUSUNDA
HEPSİDİN VE İNTERLÖKİN-6 EKSPRESYONU DEĞİŞİKLİKLERİ**

BADEGÜL SARIKAYA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KASIM 2014

*Bu tezi; hayatım boyunca emeklerini asla ödeyemeyeceğim
canım babam Battal AKPINAR'a ,
canım annem Nergiz AKPINAR'a
ithaf ediyorum...*

Badegül SARIKAYA tarafından hazırlanan “UZUN SÜRELİ EGZERSİZ EĞİTİMİ (ANTRENMAN) YAPMIŞ SIÇANLARLA, AKUT OLARAK KOŞTURULAN SIÇANLARDA TÜKETİCİ EGZERSİZ SONRASI KALP DOKUSUNDA HEPsİDİN VE İNTERLÖKİN-6 EKSPRESYONU DEĞİŞİKLİKLERİ” 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 Pınar

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

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

Başkan : Prof.Dr.Lamia Pınar

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

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

Üye : Prof.Dr.Deniz Erbaş

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

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

Üye : Prof.Dr.Metin Baştuğ

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

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

Tez Savunma Tarihi: 27/11/2014

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

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.

Badegül SARIKAYA

27.11.2014

UZUN SÜRELİ EGZERSİZ EĞİTİMİ (ANTRENMAN) YAPMIŞ SIÇANLARLA,
AKUT OLARAK KOŞTURULAN SIÇANLARDA TÜKETİCİ EGZERSİZ SONRASI
KALP DOKUSUNDA HEPSİDİN VE İNTERLÖKİN-6 EKSPRESYONU

DEĞİŞİKLİKLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Badegül SARIKAYA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kasım 2014

ÖZET

Egzersiz kardiyovasküler sisteme faydaları bulunmakta, ancak şiddetli egzersiz kalp hasarına neden olabilmekte ve özellikle IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokin üretimini indüklemektedir. Başlıca IL-6 tarafından düzenlenen hepsidin seviyeleri, egzersiz sonunda artmaktadır. Hepsidin, şiddetli egzersizin olumsuz etkilerine karşı olası bir protektif faktördür, çünkü ekstraselüler demir seviyesini azaltmaktadır. Bu çalışmada, antrenmansız ve uzun süreli antrenman yapmış sıçanların kalp dokularında tüketici egzersize yanıt olarak IL-6 ve hepsidin mRNA ekspresyonu değişiklikleri karşılaştırılmıştır. Otuz adet erkek Wistar albino türü sıçan, hiç koşu yaptırılmayan sedanter kontroller (kon) (n=6), antrenman yaptırılmayıp tüketici egzersiz uygulandıktan hemen sonra feda edilen (akut hemen) (n=6) ve bir gün sonra feda edilen grup (akut 1) (n=6), uzun süreli antrenman yaptırılıp tüketici egzersizden hemen sonra feda edilen (kronik hemen) (n=6) ve 1 gün sonra feda edilen (kronik 1) (n=6) grup olmak üzere rastgele 5 gruba ayrılmıştır. Genel anestezi altında sıçanların kalpleri çıkarılmış ve dokular RT-PCR yöntemi ile incelenmiştir. PCR ürünleri, agaroz jel elektroforezi sonrası bant yoğunlukları UV kamera ile görüntülenerek Image J programı ile analiz edilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS 20.0 programı kullanılmış, anlamlılık düzeyi $p \leq 0,05$ olarak kabul edilmiştir. IL-6 mRNA ekspresyonu seviyesi kontrol grubuna göre akut hemen, kronik hemen ve kronik 1 gruplarında anlamlı artış göstermiş ($p < 0,05$), maksimum düzeye akut hemen grubunda ulaşmıştır. Hepsidin mRNA ekspresyon seviyesi, kontrole kıyasla sadece kronik 1 grubunda anlamlı artış göstermiştir ($p < 0,05$). Artmış IL-6 seviyesi, tüketici egzersizin kalp dokusunda inflamasyona neden olabileceğini göstermektedir. Ancak, uzun süreli antrenman, IL-6 ve inflamasyon artışını düşürmektedir. Antrenmanlı grupta artış gösteren hepsidin seviyesinin olası koruyucu etkisi, IL-6'nın ve uzun süreli antrenmanın anti-inflamatuvar etkileri aracılığı ile açıklanabilir.

Bilim Kodu : 1023

Anahtar Kelimeler : Tüketici egzersiz, IL-6, Hepsidin, Kalp

Sayfa Adedi : 76

Danışman : Prof. Dr. Lamia PINAR

İkinci Danışman : Yrd. Doç. Dr. Ali Doğan DURSUN

INTERLEUKIN-6 AND HEPCIDIN EXPRESSION CHANGES IN CARDIAC TISSUE
OF LONG-TERM TRAINED AND ACUTELY RUN RATS AFTER AN EXHAUSTIVE
EXERCISE

(Master Thesis)

Badegül SARIKAYA

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

November 2014

ABSTRACT

Exercise benefits the cardiovascular system, but strenuous exercise can cause cardiac damage and induce proinflammatory cytokine production, particularly of IL-6. Hepcidin levels, which are primarily regulated by IL-6, increase when concluding exercise. Hepcidin is a possible protective factor against the adverse effects of strenuous exercise because it decreases extracellular iron levels. This study compared changes in IL-6 and hepcidin mRNA expression in response to exhaustive exercise in the hearts of trained and untrained rats. Thirty male Wistar albino rats were randomly assigned to groups: sedentary controls (Con) that never ran in the experiment; untrained animals that were acutely forced to complete exhausting exercise, sacrificed immediately after exhaustion (UT-i) (n=6) and 1 day after exhaustion (UT-1) (n=6); and trained animals that received long-term exercise training were forced to complete exhausting exercise, were sacrificed immediately after exhaustion (T-i) (n=6) and 1 day after exhaustion (T-1) (n=6). The rats were sacrificed under anesthesia by intracardiac blood collection method, cardiac tissues were taken and cardiac IL-6 and hepcidin mRNA expression levels were examined by reverse-transcription polymerase chain reaction. After agarose gel electrophoresis, the band intensities of PCR products were monitored by an UV camera and then were analyzed using Image J program. The statistical analyses were performed by using SPSS 20.0 program. The statistical evaluation was accepted as significant when p value for each test is $\leq 0,05$. IL-6 mRNA expression levels significantly increased in the UT-i, T-i, and T-1 groups compared with the Con group ($p < 0,05$), with maximal IL-6 expression found in the UT-i group. Hepcidin mRNA expression significantly increased in the T-1 group ($p < 0,05$), compared to control. Increased IL-6 levels in rats show that exhaustive exercise can cause cardiac inflammation. However, long-term training attenuated IL-6 levels and inflammation. The possible protective effect of increased hepcidin in the trained groups could be explained by IL-6-mediated anti-inflammatory effects and long-term training.

Science Code : 1023

Key Words : Exhaustive exercise, IL-6, Hepcidin, Heart

Page Number : 76

Supervisor : Prof. Dr. Lamia PINAR

Co-Supervisor : Assist. Prof. Dr. Ali Doğan DURSUN

TEŞEKKÜR

Akademik yaşamda olduğu kadar özel hayatta da bana yol gösteren, sevgisi ve şefkatiyle beni her zaman çalışmaya teşvik eden, değerli vaktini esirgemeyen, maddi ve manevi desteğini her daim hissettiğim, O'nun öğrencisi olmakla gurur duyduğum çok değerli hocam Prof. Dr. Lamia PINAR'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca, beni bir aile ortamı içinde yetiştiren ve akademik yaşama hazırlayan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan tüm hocalarıma,

Labaratuvar çalışmaları sırasında bütün olanakları ile tez çalışmama katkıda bulunan saygı değer hocalarım Prof. Dr. Metin BAŞTUĞ ve Prof. Dr. Hakan FIÇICILAR'a,

Tez çalışmamın ilk başladığı günden itibaren gerek labaratuvar çalışmaları sırasında gerek yazım aşamasında büyük katkılar sağlayan, akademik ve labaratuvar bilgilerini bana özveri ve sabır içinde aktaran ve öğreten değerli hocam Yard. Doç. Dr. Ali Doğan DURSUN'a,

Göstermiş olduğu ilgi ve kolaylıklar için saygı değer hocam Yard. Doç. Dr. Faruk Metin ÇOMU'ya,

Tez çalışmamın düzenlenmesi aşamasında benimle sabahlara kadar çalışan, her yorulduğumda beni tekrar ayağa kaldıran, bana çok büyük sabır ve anlayış gösteren, bu zorlu süreçteki en büyük manevi destekçim olan eşim Çağlar SARIKAYA'ya teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Egzersizde Enerji Kaynağı	5
2.2. Egzersiz Tipleri.....	5
2.3. Egzersizin Yararları.....	6
2.4. Egzersiz Adaptasyonları	7
2.4.1. Direnç egzersizinde kardiyak adaptasyonlar	8
2.4.2. Dayanıklılık egzersizinde kardiyak adaptasyonlar	9
2.5. Tüketici Egzersiz	9
2.5.1. Tüketici egzersizin kalp dokusuna etkileri	10
2.6. Egzersizde İnflamatuvar Yanıt	10
2.7. Egzersizde Salınımı Artan Akut Faz Proteinleri	12
2.7.1. Hepsidin.....	12
Hepsidin' in kaynağı	12
Demir metabolizması	13

Demirin barsaklardan emilimi	13
Hepsidin sentezinin düzenlenmesi.....	15
Hepsidin ve egzersiz	15
2.8. Egzersizde Salınımı Artan Sitokinler	16
2.8.1. İnterlökin-6 ve kaynakları.....	17
İnterlökin-6 ve inflamasyon.....	17
İnterlökin-6 ve egzersiz	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi	21
3.1.1. Gruplar	21
Kontrol grubu	21
Akut hemen grubu.....	21
Akut 1 grubu.....	22
Kronik hemen grubu.....	22
Kronik 1 grubu	22
3.2. Egzersiz Protokolü.....	22
3.2.1. Koşu bandına (treadmill) uyum uygulaması.	22
3.2.2. Antrenman (kronik egzersiz) uygulaması	22
3.2.3. Tüketici egzersiz uygulaması.	23
3.3. Cerrahi Uygulama	23
3.4. Analiz Yöntemleri	23
3.4.1. Dokuların homojenizasyonu ve total ribonükleik asit (RNA) izolasyonu.	23
3.4.2. Total RNA konsantrasyonu ölçümü ve kalitesinin kontrolü.....	25
3.4.3. Komplementer deoksiribonükleik asit (cDNA) sentezi ve RT-PCR reaksiyonu.	26
3.4.4. GAPDH, IL-6, hepsidin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)	27

3.4.5. GAPDH, IL-6, hepsidin jel elektroforezi ve görüntülenmesi	29
3.4.6. İstatistiksel analiz.....	30
4. BULGULAR	31
4.1. Tükenme Süreleri	31
4.2. mRNA Ekspresyon Oranları.....	31
4.2.1. IL-6 mRNA ekspresyon değişiklikleri	31
4.2.2. Hepsidin mRNA ekspresyon değişiklikleri.....	33
5. TARTIŞMA.....	35
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	57

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Aerobik ve direnç egzersizinin yararları	7
Çizelge 3.1. GAPDH, IL-6, hepsidin için primer dizinleri, hedef DNA dizini nükleotit sayısı	27
Çizelge 4.1. Akut ve kronik grupların tükenme süreleri	31
Çizelge 4.2. Deneklerin IL-6 ve hepsidin mRNA ekspresyon seviyeleri	31

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. Gruplara göre kalp dokusu IL-6 mRNA ekspresyon seviyeleri.....	33
Şekil 4.2. Gruplara göre kalp dokusu hepsidin mRNA ekspresyon seviyeleri.....	34

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Direnç egzersizinin kardiyak etkileri.....	8
Resim 2.2. Dayanıklılık egzersizinin kardiyak etkileri	9
Resim 2.3. Barsakta demir geri emiliminin sistemik düzenlenmesi	14
Resim 2.4. IL-6'nın kaynakları ve etkileri.....	18
Resim 4.1. IL-6 mRNA ekspresyon bant görüntüleri	32
Resim 4.2. Hepsidin mRNA ekspresyon bant görüntüleri	33

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
°	Derece
°C	Santigrat derece
dk	Dakika
g	Yer çekimi ivmesi
kD	Kilodalton
kg	Kilogram
km	Kilometre
m	Metre
mA	Mili amper
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram
nm	Nanometre
ng	Nanogram
pmol	Pikomol
rpm	Dönüş/dakika
u	Ünite

Kısaltmalar	Açıklamalar
A230	230 nm dalga boyundaki absorbans
A260	260 nm dalga boyundaki absorbans
A280	280 nm dalga boyundaki absorbans
ATP	Adenozin trifosfat
BAP	Bilimsel araştırma projesi
BNP	Beyin kaynaklı natriüretik peptid

Simgeler	Açıklamalar
BMP	Bone morfojenetik protein
Ca⁺²	Kalsiyum
cDNA	Komplementer deoksiribonükleik asit
CNTF	Silyer nörotrofik faktör
CRP	C-reaktif protein
CSF	Koloni stimulan faktörler
CT-1	Kardiyotrofin-1
cTn	Kardiyak troponin
cTNI	Kardiyak troponin I
cTNT	Kardiyak troponin T
dATP	Deoksiadenozintrifosfat
dCTP	Deoksisitozintrifosfat
DCYTB	Duedonal sitokrom-b
dGTP	Deoksiguanozintrifosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNase	Deoksiribonükleaz
dNTP	Deoksinükleotidtrifosfat
DMT-1	Divalen metal taşıyıcı-1
dTTP	Deoksitimintrifosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetikasit
EICR	Egzersizindüklediği kardiyak yeniden modellenme
Fe⁺³	Ferrik
FPN	Ferroportin
GAPDH	Gliseraldehid3-fosfodehidrogenaz
HCP-1	Hem taşıyıcı protein-1
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein bağlı kolesterol
HFE	Hemakromatoz proteini
HIF 1	Hipoksi ile indüklenebilen faktör I
HJV	Hemojuvelin
HO-1	Hem oksijenaz-1
IL	İnterlökin
IL-1	İnterlökin-1
IL-1 α	İnterlökin-1 α

Simgeler	Açıklamalar
IL-1 β	İnterlökin-1 β
IL-1ra	İnterlökin-1 reseptör antagonisti
IL-6	İnterlökin-6
IL-6r	İnterlökin-6 reseptörü
IL-8	İnterlökin-8
IL-10	İnterlökin-10
IL-11	İnterlökin-11
IMA	İskemi modifiye albümin
IRAP	İnterlökin-1 reseptör antagonist protein
IRE	Demir yanıt elementleri
IRP	Demir düzenleyici proteinler
JAK	Janus Kinaz
LEAP-1	Karaciğerin eksprese ettiği antimikrobiyal peptit
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein bağlı kolesterol
LIF	Lösemi inhibitör faktör
LPS	Liposakkarit
MgCl₂	Magnezyum klorür
mHJV	Hemojuvelinin membran formu
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit
NFκB	Nuclear factor kappa B
OSM	Onkostatin M
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
RT-PCR	Revers-transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
SAA	Serum amiloid A
STAT	Signal Transducer and Activator of Transcription
TfR-2	Transferrin reseptör 2
TNF-α	Tümör nekroz faktör- α
TNF-β	Tümör nekroz faktör- β
sTNF-r1	Soluble transferin reseptör I
sTNF-r2	Soluble transferin reseptör II

Simgeler**TNFsR****VO₂max****NFAT****MAPK****Açıklamalar**

TNF soluble reseptör

Maksimal oksijen tüketimi

Nuclear factor of activated T-cells

Mitogen-activated protein kinase

1. GİRİŞ

Fiziksel aktivite, iskelet kaslarının kasılmasına bağılı olarak, enerji tüketimini bazal düzeyin üzerine çıkaran bedensel harekettir. Egzersiz, fiziksel aktivitenin alt sınıfı olarak kabul edilir, planlı yapılandırılmış, istemli, fiziksel uygunluğun bir ya da birkaç unsurunu geliştirmeyi amaçlayan, uzun sürmesi gereken vücut aktivitesidir [1]. Düzenli egzersiz, kronik birçok hastalığın önlenmesinde ve tedavisinde oldukça etkindir. Kardiyovasküler sağlık için gereken tedavi edici yaşam tarzı değişikliklerinin en önemli unsurlarından biri olup yaşam süresini uzatmaktadır. Egzersizin, birçok farmakolojik ajanda da olduğu gibi, yan etkilerinin yanında (iskelet-kas travması, metabolik ve kardiyovasküler stres...) bir de üst-doz limiti bulunmaktadır. Bu limiti aşan uzunluk ve şiddetteki egzersiz, kalpte ve damarlarda patolojik yapısal değişikliklere ve 'yeniden modellenme'ye yol açabilmektedir. Ancak uzun süreli antrenman, dayanıklılığı artırarak, bu üst-doz limitini daha ileri düzeylere taşıyabilir [2].

Fiziksel egzersiz, stresin bir prototipi olarak değerlendirilmektedir. Cerrahi operasyonlar, travma, yanık, sepsis gibi birçok klinik stres; egzersizle benzerlikleri olan hormonal ve immünolojik yanıtları uyarmaktadır [3]. İnflamasyon, vücudun stresli uyarılara karşı oluşturduğu akut faz yanıtıdır. Akut faz yanıtı, kan akımında artışla birlikte, sıvı, lökosit ve inflamasyon belirteçleri olan sitokinlerin ve akut faz proteinlerinin sentezinin uyarılması ve birikimi ile karakterizedir [4]. Egzersizde de organizmanın savunma yanıtlarından olan akut faz yanıtı uyarılmaktadır [3]. Akut faz yanıtı, sitokinlerin yapımını ve inflamasyon bölgesine dağılımını, lenfositlerin, lökositlerin ve diğer antijen temizleyici hücrelerin akımını kolaylaştırarak; hasar alanının sınırlandırılmasını, hasarlayıcı ajanın yok edilmesi ya da en azından izolasyonunu sağlar [4, 5].

Sitokinler, inflamatuvar yanıtı aracılık eden, pro- ve anti-inflamatuvar özellik gösteren bir grup polipeptittir [4]. Akut inflamasyon, iskelet ve kalp kasında oksidatif stresin artması ve interlökin-6 (IL-6), interlökin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekroz faktör α (TNF- α) gibi sitokin sentezinin artması ile ilişkilidir. IL-6, IL-1 β ve TNF- α 'nın artmış seviyeleri muhtemelen pro-oksidan ve pro-inflamatuvar çevreyi etkilemekte, zamanla iskelet ve kalp kası fonksiyonlarının bozulmasına yol açmaktadır [6].

IL-6 inflamasyonun önemli araçlarından biri olup, geniş bir aktivite aralığına sahiptir. Birincil konak yanıtında ve doku tamirinde rol almakla birlikte, homeostatik ve nöroendokrin fonksiyonları da etkilemektedir. IL-6'nın doku hasarı ve enfeksiyonda özellikle karaciğer dokusuna etki edip, akut-faz plazma proteinlerinin sentezini uyardığı bilinmekte [7], bu nedenle değişen sentez düzeylerinin saptanması, inflamasyon şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılabilir [4].

Fiziksel aktivitenin türü ve şiddetinin salınan sitokin tipini etkilediği bilinmekle birlikte, egzersizin süresinin de sitokin sentezi ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. Egzersizde IL-6, tüm diğer sitokinlerden çok daha yüksek miktarda üretilmektedir. Şiddetli bir egzersizde TNF- α ve IL-1 β 'da 2-3 kat artış görülürken, IL-6'da dramatik artış saptanmıştır [4]. Egzersizde inflamatuvar faktörlerin yanı sıra metabolik yanıtların da IL-6 üretiminde rolü olduğu gösterilmiştir [3].

Doku bütünlüğünün bozulmasına neden olan her durumda 'inflamasyon' olarak bilinen lokal reaksiyon görülmekte, vücudun demir metabolizması da bu durumdan etkilenmektedir. Aktive olmuş inflamatuvar hücreler tarafından salınan sitokinler, akut-faz yanıtının ortaya çıkmasından ve karaciğerdeki protein sentezi değişimlerden sorumludur. İnflamasyon sürecinde karaciğerde sentezlenen ve bir akut faz proteini olan hepsidin, hipoferremine'e yol açarak demir dengesinin düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir [5]. Demir; hemoglobin, miyogloblin ve sitokromların temel elementidir. Eritropoezin yanı sıra, oksidatif metabolizma ve hücrel enerji üretiminde yer alır. Normal demir metabolizmasının korunması, özellikle iskelet kas hücreleri ve kalp kası hücreleri gibi yoğun metabolizma ve yüksek enerji ihtiyacı olan hücreler için önemlidir. Bu nedenle, demir eksikliği, egzersiz kapasitesini sınırlandırabilir [8].

Ancak demirin yüksek düzeyleri, redoks yeteneği nedeniyle, serbest oksijen radikallerinin üretimine neden olup, hücrel bileşenlere zararlar verebileceğinden, demirin doku ve plazmadaki düzeylerinin sıkı bir şekilde kontrol edilmesi gerekmektedir. İnflamatuvar koşullarda, bu elemente ulaşılabilirliği azaltmak için demir trafiği dolaşımdan retikuloendotelial sisteme doğru yönelir [5]. Vücut demir deposunun azalması durumunda, anemi ve hipokside hepatik hepsidin ekspresyonu down-regüle olurken; demir yüklemesi ve inflamatuvar sinyallerle hepsidin ekspresyonu up-regüle olmaktadır [9].

Bu çalışmada, tüketiciler egzersiz sonucu oluşabilecek bir kardiyak hasarda, pro-inflamatuvar IL-6 ve demire bağlı oksidatif stres artışını engelleyerek koruyucu bir rol oynadığı belirtilen hepsidin ilişkisinin kurulmasına çalışılacak; bu iki faktör, antrenman yaptırılmış sıçanlar ile akut olarak tüketici egzersize zorlanan sıçanların kalp dokusunda, incelenerek, irdelenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

Fiziksel egzersiz veya fiziksel antrenman, belirli bir fiziksel kapasitesinin artırılması ya da sürdürülmesini amaçlayan, planlı ve yapılandırılmış hareketlerdir [10]. Ev işleri, alışveriş yapma ve diğer günlük yaşam aktiviteleri fiziksel aktivite kapsamına girmekte; aerobik (tempolu yürüyüş, spor müsabakaları, bisiklete binme, yüzme) veya anaerobik (ağırlık kaldırma...) gibi vücut aktiviteleri ise planlı yapılandırılmış olduklarından egzersiz kapsamında değerlendirilmektedir [11].

Fiziksel aktivitenin sıklık, süre ve yoğunluk olmak üzere üç bileşeni bulunmaktadır. Sıklık (frequency); belirli bir dönemde aktivitenin gerçekleştirilme sayısını tanımlamaktadır. Süre (duration); aynı süre içerisinde aktivite sırasında harcanan toplam zamanı göstermektedir. Yoğunluk (intensity); aktivite sırasında bir kişi tarafından tüketilen enerji miktarını açıklamaktadır [11].

2.1. Egzersizde Enerji Kaynağı

Fiziksel aktivitede kullanılan enerji kaynağı başlıca aktivitenin yoğunluğu ve süresine bağlı olmakla birlikte, kişinin bu tip egzersizdeki göreceli kapasitesi de belirleyicidir. Enerji maddelerinin kullanımını belirleyen faktörler: Egzersizin yoğunluğu (yoğunluk arttıkça daha fazla karbonhidrat kullanılır), egzersizin süresi (süre uzadıkça yağların katkısı artar), kişinin egzersiz öncesindeki karbonhidrat depoları ve fiziksel uygunluğudur [12].

İskelet kasları, kasılma için kabaca 3 enerji kaynağını kullanır: 15-30 saniyelik yüksek şiddetli aktiviteler için, ATP-Fosfokreatinin kullanıldığı alaktik anaerobik sistem; 30-90 saniye süreli ve maksimum yoğunluktaki egzersizler için glikolitik-laktik anaerobik sistem ve daha uzun süreli egzersizler için oksidatif-aerobik sistemdir [12].

2.2. Egzersiz Tipleri

Kas kasılmasının mekanik ve metabolik özellikleri bulunmaktadır.

Mekanik sınıflandırma kas kasılmasının ekstremitte hareketi üretip üretmediği temeline dayanmaktadır. Dinamik (izotonik) egzersiz ekstremitte hareketine neden olup, kas liflerinin boyunda kısalma meydana geldiğinde konsantrik, kas liflerinin boyunda uzama

olduğunda ise eksentrik kasılma olarak adlandırılır. Statik (izometrik) egzersizlerde ise ekstremite hareketi oluşmamakta, kasın boyu sabit kalmaktadır [13].

Kas kasılmasının metabolik sınıflandırılması ise enerji üretimi için oksijen kullanımına bağlı olarak aerobik veya anaerobik metabolizma olarak adlandırılmaktadır [13].

Birçok fiziksel aktivite, dinamik ve statik kasılmalar ile aerobik ve anaerobik metabolizmayı farklı oranlarda birlikte içerdiğinden, aktiviteler baskın mekanik ve/veya metabolik özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. Buna göre aktivite tipleri, fizyolojik yanıtların da değiştiği ‘dinamik-aerobik (dayanıklılık)’ egzersizler ve ‘dinamik-anaerobik (direnç)’ egzersizler olarak sınıflandırılmaktadır [13].

Fiziksel aktivite yoğunluğuna göre hafif (light), orta (moderate) ve şiddetli (vigorous) olarak üç seviyede sınıflandırılır [11].

2.3. Egzersizin Yararları

Düzenli fiziksel aktivite; kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, kanser, hipertansiyon, obezite, depresyon ve osteoporoz gibi birçok kronik hastalığın ve prematüre doğumların önlenmesinde önemlidir [14]. Egzersizin yararları aerobik ve direnç egzersizlerinde birbirine benzer şekildedir (Çizelge 2.1.) [15].

Çizelge 2.1. Aerobik ve direnç egzersizinin yararları

AEROBİK EGZERSİZ	DİRENÇ EGZERSİZİ
Kardiyovasküler patofizyoloji	Vücut Bileşimi
Maksimal kardiyak debide artma	Kas kuvvetinde artma
Miyokardiyal kan akımında artma	Kemik mineral yoğunluğunda artma
Periferik oksijen dağılımında artma	Yağsız vücut kütlelerinde artma
Miyokardiyal oksijen ihtiyacında azalma	% Vücut yağında azalma
Sempatik hiperaktivitede azalma	Glikoz metabolizması
Endotel fonksiyonda artma	Bazal insülin seviyesinde azalma
Fibrinolizde artma	İnsülin duyarlılığında artma
Kardiyovasküler risk faktörleri	Plazma lipitleri ve lipoproteinler
Dinlenim kan basıncında azalma	HDL kolesterolde artma
HDL kolesterolde artma	LDL kolesterolde azalma
Trigliseritte azalma	Trigliseritte azalma
İnsülin direncinde azalma	Kardiyovasküler dinamikler
Fiziksel fonksiyon	VO ₂ maksimumunda artma
Egzersiz kapasitesinde artma	Bazal metabolik hızda artma
Günlük aktivite performansında artma	Dinlenim kan basıncında azalma
Psikolojik durum	Sağlık İlişkili Yaşam kalitesi
Yaşam kalitesinde artma	Özgüvende artma
Depresyon ve endişede azalma	Fonksiyonel bağımsızlıkta artma

2.4. Egzersiz Adaptasyonları

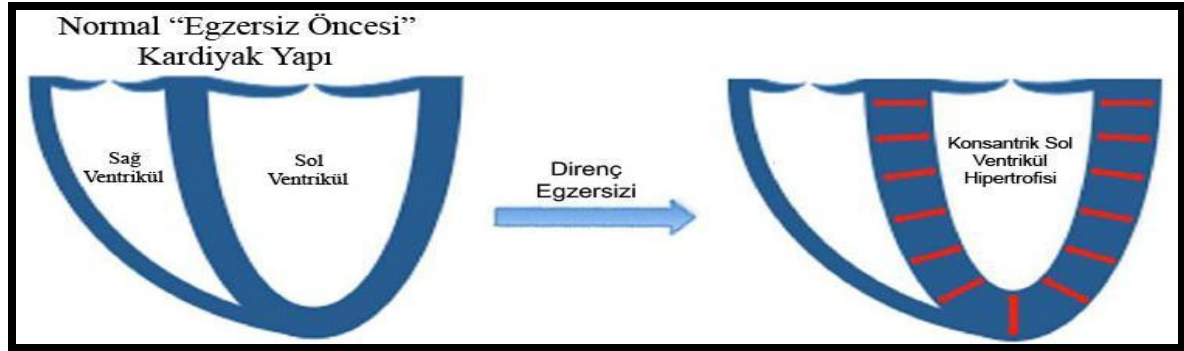
Sağlıklı bireyler, egzersize karşı egzersiz kapasitesinde artışla sonuçlanan çeşitli fonksiyonel ve yapısal değişiklikler geliştirmektedir. Egzersize adaptasyon; kardiyovasküler, pulmoner, endokrin-metabolik, immünolojik ve iskelet kaslarını içeren birçok organ sisteminin koordine yanıtı ile ortaya çıkar. Kardiyovasküler sistem

egzersizden direkt etkilenir ve fiziksel antrenman sırasında gerçekleşen önemli akut değişikliklerin birçoğundan sorumludur [16].

Tekrarlı, ağır fiziksel egzersiz miyokard yapı ve fonksiyonunda önemli değişikliklere neden olmaktadır. Bu süreç, egzersizin indüklediği kardiyak yeniden modellenme (Exercise induced cardiac remodelling-EICR) olarak adlandırılmaktadır. EICR, ventriküllerde genişleme, miyokardiyal hipertrofi ve atriyal dilatasyonu içerir. EICR, kardiovasküler sistemin, egzersiz yapan iskelet kaslarının gereksinimlerini karşılama yeteneğini geliştirmektedir [17].

2.4.1. Direnç egzersizinde kardiyak adaptasyonlar

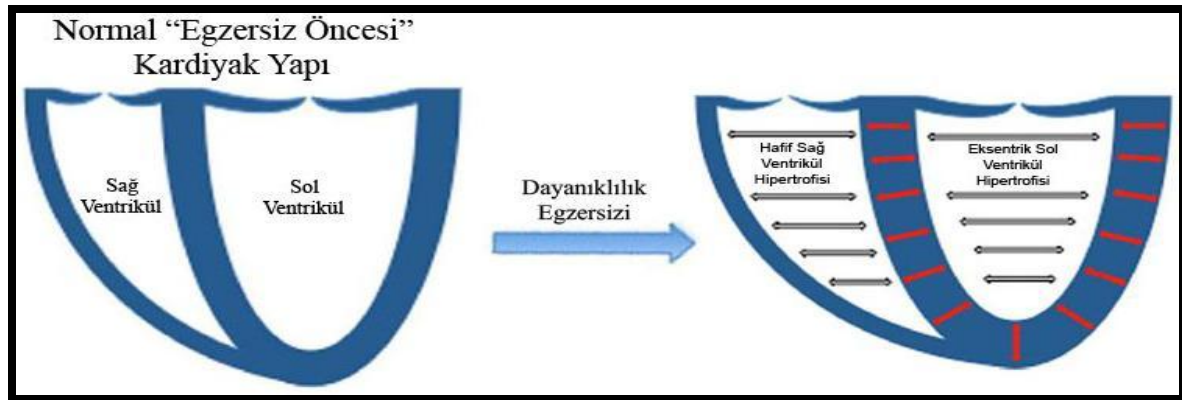
Direnç egzersizi sırasında görülen kardiyovasküler yanıtlardan miyokard ve vasküler sisteme etki eden basınç ve hacim yüklenmesi sorumludur. Basınç yüklenmesinde direncin büyüklüğü, çalışan kas kütlesi ve dinlenme ile tekrarlar arasındaki kasılma süresi önemlidir [18]. Direnç egzersizi yapan atletlerde sol ventrikül kütlesi ve duvar kalınlığı artmasına rağmen, sol ventrikül boyutlarında değişiklik olmadığından konsantrik hipertrofi görülmektedir [19] (Resim 2.1).



Resim 2.1. Direnç egzersizinin kardiyak etkileri. Dinlenme sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu normal ya da hiperdinamik olabilmekte, erken diyastolik fonksiyon normal veya hafif azalmış; geç diyastolik fonksiyonda kompensatuvar artış olabilmektedir. Sol atriyum boyutu normal kalmakta veya hafif genişleyebilmektedir. Direnç egzersizinde sağ ventrikülde remodeling görülmemektedir [17]

2.4.2. Dayanıklılık egzersizinde kardiyak adaptasyonlar

Aerobik egzersizde ise miyokarda ve vasküler sisteme etki eden en önemli faktör hacim yüklenmesidir. Akut dayanıklılık (aerobik) egzersizinde kalp hızı, kalp debisi ve aktivitenin yoğunluğu ile uyumlu VO_2 pikte artış gerçekleşmektedir. Atım hacmi erken dönemde artarken, sonrasında plato çizmektedir [18]. Akut dayanıklılık egzersizi kardiyak hasar belirteçlerinde artışın da görüldüğü önemli bir stres faktörüdür. Akut dayanıklılık egzersizinde kardiyak yorgunluk (cardiac fatigue) olarak bilinen geçici sistolik ve diyastolik bozulmalar da görülebilmektedir [20]. Dayanıklılık sporları yapan atletlerde sol ventrikül iç boyutu ve kütlesi, sol ventrikül duvar kalınlığında hafif artış ile karakterize eksentrik sol ventrikül hipertrofisi görülebilmektedir [19] (Resim 2.2.).



Resim 2.2. Dayanıklılık egzersizinin kardiyak etkileri. Dinlenim sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu değişmemekte veya hafif azalmakta, erken sol ventrikül diyastolik fonksiyonu değişmemekte veya artmaktadır. Sağ ventrikül dilatasyonu, atriumlarda genişleme gözlenebilmektedir [17]

2.5. Tüketici Egzersiz

Zorlu tüketici egzersiz ile artan oksijen kullanımı mitokondriyal sistemden elektron kaçağında artışa neden olup hücre içi pro-oksidan ve anti-oksidan homeostazisi bozabilmektedir [21]. Tüketici egzersiz, reaktif oksijen radikallerini arttırarak (ROS), makromoleküllerin oksidasyonu, enzimatik ve non-enzimatik antioksidan savunma sistemlerinde bozulma, anormal sinyal transdüksiyonu veya hücrelerin disfonksiyonu ile kas, karaciğer, akciğer ve kalp gibi dokularda oksidatif hasara neden olmaktadır [22, 23].

2.5.1. Tüketici egzersizin kalp dokusuna etkileri

Tüketici egzersizin sağlığa zararları olabileceği bilinmektedir. Ultramaraton koşucularında böbrek yetmezliği, sıcak çarpması, ani kardiyak ölümler görülebilmektedir. Doksan km koşu sırasında iyi antrenmanlı atletlerde pulmoner ödem rapor edilmiştir [24].

Bilimsel veriler, uzun süreli veya tüketici egzersizin sol ventrikül sistolik performansı üzerine zararlı etkilerinin olabileceğini göstermektedir [24]. Uzun dayanıklılık egzersizini takiben kardiyak troponin artışının görüldüğü kardiyak hasarı açıklayan 2 hipotez önerilmektedir. Egzersiz ile oluşan miyokardiyal hasar geri dönüşümlü olup; tamirden sonra miyositlerde hipertrofi ortaya çıkmaktadır. Bu süreç, iskelet kaslarının antrenmana yanıtında görülen süperkompansasyon adı verilen süreç ile benzerdir. İkinci hipoteze göre ise miyokardiyal hasar sonrası skar oluşumu ile miyokardiyumun fibrotik değişimler ve aritmi potansiyelinde artışla karakterizedir. Bu hipotez, miyokardiyal hasarın miyokardiyal replasmanda patolojik bir sürece neden olduğunu ve bunun da kalbe zararlı etkilerinin olabileceğini önermektedir [25]. Kronik, aşırı dayanıklılık egzersizi kalp ve büyük arterlerde olumsuz yapısal yeniden modellenmeye neden olabilmektedir. Sayıları gittikçe artan veriler maraton, ultramaraton, uzun mesafe tiratlon gibi aşırı dayanıklılık yarışmalarında yer almanın, sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda geçici azalma ile birlikte atriyum ve sağ ventrikülde geçici akut hacim yüklemesine ve kardiyak belirteçlerde artışa neden olabileceğini ve tüm bunların 8-10 gün içinde genellikle geriye döndüğünü göstermektedir. Tecrübeli aşırı dayanıklılık atletlerinde, tekrarlanan bu miyokardiyal hasar ve tamir özellikle atriyumda, interventriküler septumda ve sağ ventrikülde düzensiz miyokardiyal fibrozis ile sonuçlanmakta, atriyal ve ventriküler aritmiler için potansiyel substratlar yaratmaktadır. Hatta bu tür sürekli ve yüksek şiddetli dayanıklılık egzersizi; diyastolik disfonksiyon, büyük arter duvarlarında sertleşme ve koroner arter kalsifikasyonuna yol açabilmektedir [2].

2.6. Egzersizde İnflamatuvar Yanıt

Zorlu fiziksel aktivite aşırı inflamatuvar reaksiyon ve immünosupresyon potansiyeli ile hafif, sub-klinik hasarlara neden olabilmektedir. Kas hasarı, kompleman sistem aktivasyonu ve/veya endotoksemi, inflamatuvar yanıtı tetikleyen etkenler olarak öne sürülmektedir. Zorlu bir egzersizde enfeksiyon hastalıklarında görüldüğü gibi; akut faz

yanıtı, lökosit mobilizasyonu ve aktivasyonu, inflamatuvar araçların (sitokinlerin) salınımı, doku hasarı ve hücrel infiltrasyon, serbest radikallerin üretimi, kompleman sistemin, pıhtılaşmanın ve fibrinolitik yolların aktivasyonunu kapsamaktadır. Bu gözlemler, şiddetli egzersizle ilişkili mikrotravmanın immün reaksiyonları indükleyebileceğini desteklemektedir [26].

Öte yandan fiziksel egzersizin kardiyovasküler hastalıklara karşı uzun dönem koruma sağladığı yıllardır bilinir. Koruyucu etki de egzersizin indüklediği inflamatuvar süreçlerin aktivasyonu ile ortaya çıkar. Akut egzersize yanıt olarak, lökositlerin, pro-inflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin dolaşımında artışı ile (pro-inflamatuvar yanıt) oluşan potansiyel zararlar, anti-inflamatuvar mekanizmaların eş zamanlı aktivasyonu ile sınırlandırılmaya çalışılır. Tekrarlı egzersiz antrenmanları ise sistemik inflamatuvar belirteçleri azaltmaktadır. Egzersizin sağlığa bütün etkileri, pro- ve anti-inflamatuvar etkilerin dengelenmesi sayesinde ortaya çıkar [27].

Akut faz yanıtı; enfeksiyon, doku hasarı, travma veya ameliyat, neoplastik büyüme veya immünolojik hastalıklar nedeniyle homeostaziste meydana gelen lokal veya sistemik bozukluklara organizmanın önemli sistemik reaksiyonudur. Bir doku hasarında, veya mikroorganizmanın invaze olduğu bölgede, pro-inflamatuvar sitokinler salınır ve dolaşımında inflamatuvar hücreler aktive olur. Bu yanıtlar daha fazla sitokin ve kanda dolaşan diğer inflamatuvar araçların üretimini tetikler. Sitokinler, farklı hedef hücrelerdeki reseptörleri aktive ederek hipotalamus-hipofiz-adrenal yolğun aktivasyonu, büyüme hormonunun sekresyonunda azalma, ateş, anoreksi, negatif azot dengesi ve kas hücrelerinin katabolizması ile karakterize birçok fiziksel sistemik reaksiyona neden olur. Bunlara ek olarak; plazma düşük ve yüksek yoğunluklu lipoprotein bağlı kolesterolde (LDL ve HDL), lökosit sayısında azalma; adrenokortikotropik hormon ve glikokortikoid düzeyinde artma, kompleman ve koagülasyon sisteminin aktivasyonu, serum kalsiyum, bakır, demir, vitamin A seviyelerinde azalma, hepatik metabolizmanın değişimine bağlı çok sayıda akut faz proteini konsantrasyonunda değişiklikler meydana gelmektedir [28].

Egzersizle ilişkili inflamasyonda da, doku demir deposunda artış; serum demirinde (serum ferritini), total demir bağlama kapasitesinde, transferin ve transferin saturasyonunda azalmayı içeren demir metabolizma değişiklikleri ortaya çıkar [29].

2.7. Egzersizde Salınımı Artan Akut Faz Proteinleri

Akut faz proteinleri, enfeksiyon veya inflamasyon sonrası homeostazisin düzenlenmesinde önemli görevler yapmakta; hemostatik, mikrobisidal ve fagositik fonksiyonları etkileyerek, antitrombik ve antiproteolitik rol oynamaktadır. Akut faz proteinleri tip I ve tip II olmak üzere 2 alt gruba ayrılmaktadır. Tip I proteinler; interlökin 1- α (IL-1 α), interlökin 1- β (IL-1 β), tümör nekroz faktör- α (TNF- α), tümör nekroz faktör- β (TNF- β) gibi IL-1 ve benzeri sitokinler tarafından uyarılan serum amiloid A (SAA), C-Reaktif protein (CRP), kompleman C3, haptoglobulin, α -1 asit glikoproteini içermektedir. Tip II proteinler; lösemi inhibitör faktör (LIF), interlökin-11 (IL-11), onkostatin M (OSM), silyer nörotrofik faktör (CNTF), kardiyotrofin-1 (CT-1) gibi interlökin-6 (IL-6) benzeri sitokinler tarafından uyarılmaktadır [30].

2.7.1. Hepsidin

İlk kez insan plazma ultrafiltratından elde edilen ve antimikrobiyal peptid (LEAP-1) olarak adlandırılan hepsidin karaciğer tarafından eksprese edilmektedir [31]. Hepsidin daha sonra insan idrarında da izole edilmiş ve hepatik orijini nedeniyle hepsidin olarak adlandırılmıştır [32]. İnsanlarda hepsidin 19. kromozomda bulunan HAMP geni tarafından kodlanmaktadır [32, 33]. İnsan hepsidin formları 2-3 kilodalton büyüklüğünde, birbirine 4 disülfid bağıyla bağlı sekizi sistein rezidüsü olmak üzere 20-25 aminoasit uzunluğunda olup [32], plazmada α -2 makroglobulin ile taşınmaktadır [34].

Pigeon ve diğerleri (2001), hepsidin ve demir arasındaki ilişkiyi ilk kez kurarak farelerde demir yüklemesi ve inflamasyon ile hepsidin mRNA düzeyinde artış olduğunu göstermişlerdir [33]. Daha sonra Nicolas ve diğerleri (2001, 2002), hepsidinin demir metabolizmasının düzenlenmesinde gerekli bir sinyal molekül olduğunu, hepsidin aşırı ekspresyonunun demir eksikliği anemisine ve hepsidin inhibisyonunun dokularda demir birikmesine neden olduğunu saptamışlardır [35, 36].

Hepsidin'in kaynağı

Sistemik dolaşımdaki hepsidin üretiminin büyük çoğunluğundan başlıca karaciğer sorumlu olmakla birlikte; kalp [31, 9, 33], beyin, prostat, tükürük bezi, trakea, akciğerler [31, 33],

böbrek [37], pankreas [38], mide, ince barsak, kolon, timus [33], adipöz doku, medulla spinalis, miyeloid hücreler, splenik ve alveolar makrofajlar ve monositleri [39] kapsayan diğer dokular da bu düzenleyici proteini sentezleyebilmektedir.

Demir metabolizması

Bir eser element olan demir; hemoglobin, miyoglobin, sitokromlar, NADH Dehidrogenaz, lipooksijenaz, süperoksit dismutaz, ribonükleotid redüktaz, fosfatazları kapsayan birçok protein ve enzimin bileşenidir [40]. Yetişkinlerde vücut demir içeriği 3-5 gramdır (45 mg/kg kadın, 55 mg/kg erkek). Vücut demirinin % 60-70'i hemoglobinde bulunur. Yaklaşık % 20-30 kadarı ise ferritin ve hemosiderin şeklinde hepatositlerde ve retikuloendotelial sistem makrofajlarında yedek demir olarak saklanır. Kalan demirin küçük bir kısmı ise miyoglobin şeklinde kaslarda veya enzimlerde bulunmaktadır. Transferine bağlanan demir miktarı yaklaşık 3 mg'dır ancak bu demir taşıyan kısım çok dinamiktir ve günde 10 kez değişmektedir [41].

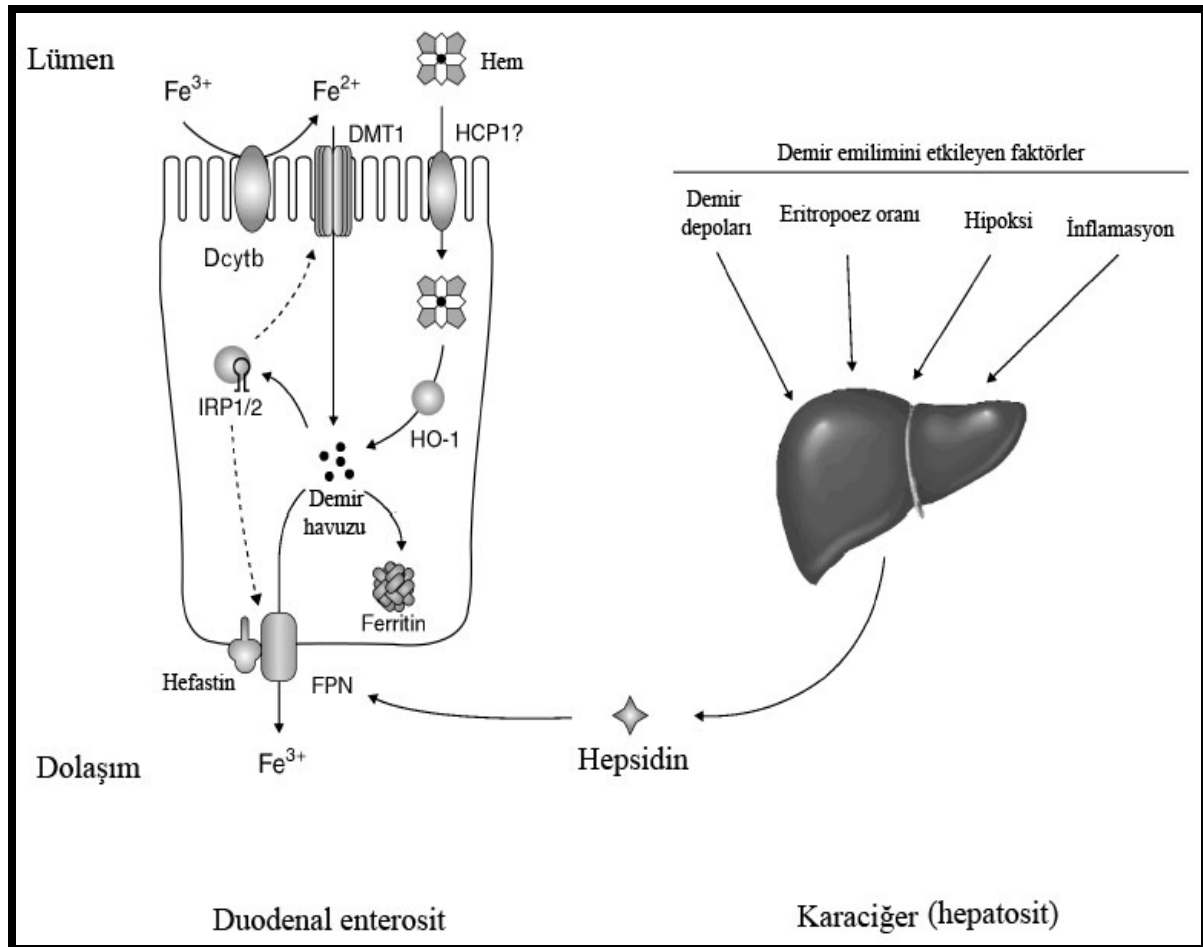
Yüksek konsantrasyonda demir, oksijen serbest radikallerini üretme yeteneği nedeniyle toksiktir [40]. Kalp hücrelerinde aşırı demir birikiminin Fenton reaksiyonu aracılığıyla hidrojen peroksit oluşumunu artırdığı, oksidatif stres ve DNA hasarına bağlı miyokardiyal hasara yol açtığı gösterilmiştir. Vücut, demiri besinlerden alır. Vücuttan aktif bir atılım yolunun olmamasından dolayı diyet demirinin duodondan emiliminin düzenlenmesi demir homeostazisinde önemli rol oynamaktadır [42]. Bu nedenle demir yüklemesini önlemek için, organizmanın ihtiyacına göre, demir alımını, kullanımını, salınımını ve depolanmasını düzenleyen çeşitli mekanizmalar gelişmiştir. Hücresel düzeyde bu düzenleme, IRE-IRP (demir yanıt elementleri – demir düzenleyici proteinler) aracılığıyla, sistemik düzeyde hepsidin hormonu ekspresyonunun değişimi yoluyla gerçekleşmektedir [43].

Demirin barsaklardan emilimi

Diyet demiri, en çok ferrik (Fe^{+3}) veya 'hem' şeklinde duodonal enterositler tarafından geri emilime uğramaktadır. Enterositlerin apikal yüzeyindeki duodonal sitokrom-b (Dcytb) aracılığıyla indirgenmesinden sonra demir, hücreye divalen metal taşıyıcı-1 (DMT-1) ile giriş yapar. Hem molekülünün hem taşıyıcı protein-1 (HCP-1) reseptörü tarafından absorbe

edildiği ve hem oksijenaz-1 (HO-1) tarafından demirden ayrıldığı bildirilmiştir. Demir hücreye girdiğinde ferritin şeklinde depolanmakta ve ihtiyaç arttığında hücrel demir çıkış kanalı ferroportin (FPN) aracılığıyla plazmaya salınmaktadır. İntestinal hücrelerde ferooksidaz hefastin ile, non-intestinal hücrelerde seruloplazmin ile okside edildikten sonra demir, plazmada taşınmak üzere transferine bağlanır. Diyetle alınımının yanı sıra demir, makrofajlar tarafından yıkılan yaşlı eritrositlerden de geri kazanılmaktadır [44].

Demir emilimi, sistemik sinyaller ve lokal demir seviyeleri tarafından düzenlenmektedir. Lokal demir konsantrasyonları demir düzenleyici proteinin (IRP) RNA bağlanma aktivitesini değiştirmekte, bu da DMT1 ve FPN seviyelerini etkilemektedir. Vücut demir gereksinimini etkileyen sistemik faktörler ise karaciğerde sentezlenen ve ferroportine bağlanarak, onun internalizasyonu ve degradasyonunu indükleyen hepsidin ekspresyonunu etkileyerek demir emilimini azaltır (Resim 2.3.) [45].



Resim 2.3. Barsakta demir geri emiliminin sistemik düzenlenmesi

Hepsidin sentezinin düzenlenmesi

Hepsidin ekspresyonu, demir depolarının durumu, eritropoez hızı, inflamasyon ve hipoksi gibi sistemik uyaranlar tarafından etkilenmektedir. Bu uyaranlar, hepatositlerin hücre yüzeylerinde bulunan hemakromatoz proteini (HFE), transferrin reseptör 2 (TfR 2), hemojuvelin (HJV), Matriptaz 2 ve IL-6 reseptörü (IL-6r) gibi proteinler aracılığıyla hepsidin seviyesini kontrol etmektedir. Bu yüzey proteinleri BMP-SMAD, JAK-STAT ve HIF 1 gibi sinyal iletim yollarını aktive ederek, hepsidini kodlayan HAMP geninin transkripsiyonunu değiştirmektedir. Çeşitli uyaranlar, hepsidin ekspresyonunu düzenlemek için çoklu sinyal yollarını kullanabilmekte, net hepsidin seviyesini belirlemede pozitif ve negatif uyaranlar arasındaki etkileşim önemli olmaktadır [46].

Hemokromatoz proteini (HFE), transferrin reseptör 2 (TfR2) ve hemojuvelinin membran formu (mHJV) HAMP transkripsiyonunun pozitif düzenleyicileridir. Hipoksi, anemi, artmış eritropoez ve azalmış demir deposu hepsidin ekspresyonunu azaltır [47].

Fare ve insanda, bakteriyel liposakkarit (LPS) veya IL-6 gibi inflamatuvar medyatör uygulanmasının hepsidin üretimini artırdığı gösterilmiştir. Birçok çalışmada hepsidin ekspresyonunun baskın inflamatuvar medyatörünün IL-6 olduğu belirtilmiştir. LPS, IL-1 veya TNF- α gibi diğer inflamatuvar ajanlar tarafından hepsidin indüklenmesi, bunların sekonder olarak IL-6 ekspresyonunu destekleme yeteneğine bağlı gibi görünmektedir. Diğer sitokinlerde olduğu gibi, IL-6'nın reseptörüne bağlanması STAT aile üyelerinin aktivasyonuna neden olan sinyal yolunu indükler. Birçok çalışmada, IL-6 bağımlı STAT sinyal iletiminde STAT-3'ün hepsidin gen promotoruna bağlanarak hepsidin gen transkripsiyonunu aktive ettiğini bildirilmiştir. Bu gözlem, inflamasyon-hepsidin bağlantısını açıklarken; IL-6'ya hepsidin yanıtının BMP yolunun işbirliği ile gerçekleştiği kanıtlanmıştır [48].

Hepsidin ve egzersiz

Egzersizin inflamatuvar doğası sonucu fiziksel aktivite sonunda hepsidin aktivitesinin de arttığı gösterilmiştir [49]. Egzersizin yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak plazmada ve idrarda hepsidin düzeyleri değişmektedir [50-54]. Egzersize yanıt olarak hepsidin gen ekspresyonundaki artıştan IL-6'nın sorumlu olduğu öne sürülmektedir [55].

2.8. Egzersizde Salınımı Artan Sitokinler

Sitokinler, interlökinler (IL), tümör nekroz faktörler (TNF), interferonlar, büyüme faktörleri, koloni stimülatör faktörler (CSF), hücre adhezyon moleküllerini kapsayan çeşitli gruplara ayrılır. Çoğunlukla, her sitokin ailesi akut inflamasyonun belirli yönlerine katkıda bulunur. Sitokinler, baskın eylemlerine göre pro- veya anti-inflamatuvar olarak karakterize edilir. İnflamasyon başlangıcında, pro-inflamatuvar sitokinlerde (IL-1 β , TNF- α ve IL-6) up-regülasyon gerçekleşir. Hasar veya enfeksiyon alanındaki yerleşik makrofajlardan salınan IL-1 β ve TNF- α , inflamatuvar yanıtı başlatmakta ve tipik olarak lokal endotelden IL-6 sentezini indüklemektedir. Pro-inflamatuvar sitokinler lokal ve sistemik olarak görev yapar. Akut inflamasyonda pro-inflamatuvar sitokin artışı yanında, IL-1 reseptör antagonisti (IL-1ra) ve IL-10 gibi birçok anti-inflamatuvar sitokin de ekspres edilir [56].

İnflamatuvar sitokinler, tamiri başlatmak üzere nötrofillerin ve daha sonra monositlerin hasarlı kas hücrelerinin olduğu bölgeye ve metabolik olarak aktif diğer dokulara hızla göçünü sağlar [57].

İnsan çalışmaları, akut inflamatuvar yanıtta olduğu gibi egzersiz sırasında da TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 gibi sitokinlerin ve IL-1ra, TNF reseptörleri gibi sitokin inhibitörlerinin arttığını göstermektedir. Dayanıklılık egzersizi sırasında ise pro-inflamatuvar sitokin üretimi down-regüle olmakta, IL-1ra ve IL-10 up-regüle olmakta ve (anti-inflamatuvar) IL-6'da artış görülmektedir. Akut, şiddetli ve uzun bir egzersiz ise dolaşımda TNF- α , IL-1 β ve (pro-inflamatuvar) IL-6 seviyelerinde artışı indüklemektedir. Bu durum sitokin inhibitörleri (IL-1ra, sTNF-r1 ve sTNF-r2) ve anti-inflamatuvar sitokin IL-10 tarafından dengelenmeye çalışılır. Lokal inflamatuvar reaksiyonlar aktive olan makrofajlar veya inflamatuvar sitokinler ile kas hücrelerinin apoptozu veya nekrozu ile indüklenmektedir [58].

Zorlu ve/veya uzun süreli fiziksel aktivite, yukarıda sayılan mekanizmalar ile kas ve diğer dokularda hasara neden olmakta ve böylece proinflamatuvar sitokinler, kemokinler ve diğer inflamasyon araçlarının salınımı ile karakterize inflamatuvar yanıt ortaya çıkmaktadır [59]. Bir diğer yandan da, fiziksel aktivite, kortizol [60] ve anti-inflamatuvar sitokinler gibi immünoşüpresan araçların salınımı yoluyla inflamasyonun karşı düzenlenmesini de indüklemektedir [59].

2.8.1. İnterlökin-6 ve kaynakları

İnterlökin-6, 22-28 kD ağırlığında pleitropik bir sitokindir. 28 aminoasit sinyali dizisi ve 184 aminoasit olgun kısmı olmak üzere 212 aminoasitli öncül protein olarak sentezlenmektedir [61].

IL-6 birçok farklı hücre tarafından üretilmekte olup in vivo kaynaklarının monositler, makrofajlar, fibroblastlar, vasküler endotel hücreler olduğu gösterilmiştir. Çeşitli uyaranlara karşı IL-6 ekspresyonu ettiği bilinen diğer hücreler keratinositler, osteoblastlar, T hücreler, B hücreler, nötrofiller, eozinofiller, mast hücreleri, düz kas hücreleri, iskelet kası hücreleri [61], dendritik hücreler, sinoviyal hücreler, stromal hücreler, mezenşyal hücreler, glial hücreler, nöronlar, kondrositlerdir [62].

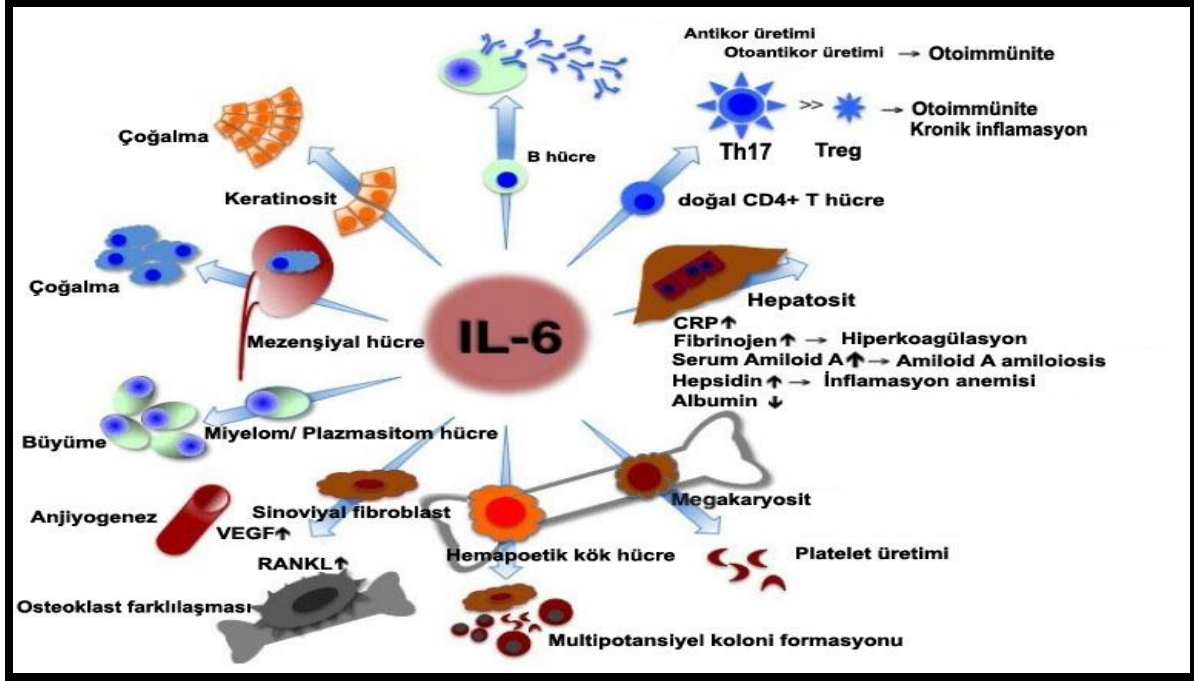
IL-6'nın dolaşımdan elimine edilmesinde hepatosplanik visseranın görevli olduğu gösterilmiştir ve bu sayede IL-6 birikiminin negatif kronik metabolik etkileri sınırlandırılabilir [63].

İnterlökin-6 ve inflamasyon

Lokal ve sistemik akut inflamatuvar yanıt sürecinde IL-6, akut faz reaksiyonlarını indüklemekte ve pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun azaltılması ve IL-1 reseptör antagonist protein (IRAP), TNF soluble reseptör (TNFsR) ve ekstrahepatik proteaz inhibitörlerini kapsayan anti-inflamatuvar molekülleri up regüle ederek; akut inflamatuvar yanıt seviyesini kontrol etmektedir. Özellikle intraselüler viral veya bakteriyel enfeksiyonlar gibi kronik hastalıklar sırasında ise IL-6, sadece akut faz reaksiyonların meydana getirilmesinde değil, aynı zamanda B hücre farklılaşması, immünglobulin sekresyonu ve T hücre aktivasyonunu kapsayan spesifik hücresel ve humoral immün yanıtların gelişiminde de rol oynamaktadır. IL-6 tarafından gerçekleştirilen bütün bu aktiviteler, homeostazisi sağlamak yönündedir [64].

Enfeksiyöz inflamasyonun erken fazında IL-6 monositler ve makrofajlar tarafından sentezlenir. Yanık veya travmatik hasar gibi non-enfeksiyöz inflamasyonlarda, hasarlanan veya ölen hücrelerden kaynaklanan hasar ilişkili moleküler sinyaller IL-6 sentezlemektedir. Hepatositler üzerine etki ettiğinde IL-6; CRP, serum amiloid A, fibrinojen, hepsidin,

haptoglobin ve antikomtripsin gibi akut faz proteinlerini kuvvetle indüklerken; albümin, sitokrom P450, fibronektin ve transferini azaltmaktadır (Resim 2.4.) [62].



Resim 2.4. IL-6'nın kaynakları ve etkileri

İnterlökin-6 ve egzersiz

Son yıllarda IL-6 seviyesinin egzersize yanıt olarak dramatik biçimde arttığı gösterilmiştir [61]. Egzersizle dolaşımda artan IL-6'nın kasılan iskelet kasları tarafından sentezlendiği birçok çalışmada gösterilmiştir [65-67]. Egzersize yanıt olarak IL-6 sentezinin tip I kas liflerinde baskın olduğunun ileri sürülmesine karşın [68], bazı araştırmacılar tip II kas liflerinde mRNA ve protein sentezinin daha yüksek olduğunu savunmaktadır [69].

IL-6 sentezi için tipik uyarılar TNF- α ve IL-1'dir [61]. Ancak, uzun dayanıklılık egzersizi sonrası TNF- α az bir miktarda artmasına karşın, egzersizin indüklediği IL-6 yanıtı TNF- α tarafından başlatılmamaktadır [26]. İskelet kasları tarafından IL-6 sentezindeki artış; kas kasılması, sitozolik kalsiyum konsantrasyonu ve kalsinörin ile ilişkilendirilmektedir [70, 71]. Egzersiz sırasındaki oksidatif strese artış, düşük glikoz ulaşılabilirliği, düşük glikojen içeriği, katekolaminler, hipertermi ve iskemi-reperfüzyon gibi metabolik ve hormonal değişiklikler kastaki IL-6 mRNA ve protein içeriğini artırmaktadır [72]. Egzersizde yoğunluk ve sürenin plazma IL-6 seviyesini belirlediği

gösterilmiştir [73]. Maraton ve yarı-maraton koşusunun benzer şiddette yapılmasına bağlı olarak; gözlenen farklı serum IL-6 artışının egzersizin süresi ile ilişkili olduğu düşünülmüştür [74].

Karaciğer, adipoz doku, hipotalamik-hipofiz-adrenal yolağı ve lökositler üzerine olan etkileri aracılığıyla IL-6, egzersize karşı metabolik ve immünolojik yanıtları düzenlemektedir [72]. IL-6'nın kas glikoz alımını, glikojen sentezini, laktat üretimini ve lipit oksidasyonunu artırdığı gösterilmiştir [75].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi

Bu BAP projemiz (01/2013-09), daha önceki 01/2007-76 no'lu BAP projemizin devamı niteliğinde olup, tüketici egzersizden sonra çıkarılan ve uygun koşullarda saklanan kalp dokularının çalışılması ile gerçekleştirilmiştir. On iki hafta süre ile antrenman yaptırıldıktan sonra tüketici egzersiz uygulanmış sıçanlarla (n=12), antrenman yapmadan tüketici egzersize zorlanmış sıçanların (n=12) kalp dokuları kullanılmış; ölçülen IL-6 ve hepsidin ekspresyonları, akut ve kronik gruplar ve herhangi bir fiziksel aktiviteye zorlanmamış kontrol grubu (n=6) değerleri ile karşılaştırılmıştır.

Bu araştırmada kalp örnekleri kullanılan 30 adet, 3 aylık, Wistar Albino türü yetişkin erkek sıçanlar kullanılmıştır. Denekler Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden (GÜDAM) temin edilmiştir. Sıçanlar GÜDAM deney hayvanı yetiştirme laboratuvarlarında, 22-25 °C normal sıcaklık, % 40 ± 5 nem, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü, standart yem ve su sağlanan ortamda, her kafeste 4 sıçan olacak şekilde standart kafeslerde barındırılmışlardır.

3.1.1. Gruplar

Deney hayvanları her grupta 6 hayvan olacak şekilde rastgele 5 gruba ayrılmıştır.

Kontrol grubu (sedanterler) (K; n=6)

Kontrol grubu egzersiz protokolüne tabi tutulmayan 6 adet sedanter sıçandan oluşturulmuştur.

Akut hemen grubu (n=6)

Antrenman yaptırılmayan bu gruba akut olarak tüketici egzersiz uygulanmış, denekler tüketici egzersizden hemen sonra feda edilmiştir.

Akut 1 grubu (n=6)

Antrenman yaptırılmayan bu gruba akut olarak tüketici egzersiz uygulanmış, denekler tüketici egzersizden 1 gün sonra feda edilmiştir.

Uzun süreli (kronik) egzersiz hemen grubu (n=6)

On iki hafta boyunca, hafta 5 gün/30 dk antrenman yaptırılan kronik egzersiz grubuna, son egzersizden 1 gün sonra tüketici egzersiz uygulanmış, denekler tüketici egzersizden hemen sonra feda edilmiştir.

Uzun süreli (kronik) egzersiz 1 grubu (n=6)

On iki hafta boyunca, hafta 5 gün/30 dk antrenman yaptırılan kronik egzersiz grubuna, son egzersizden 1 gün sonra tüketici egzersiz uygulanmış, denekler tüketici egzersizden 1 gün sonra feda edilmiştir.

3.2. Egzersiz Protokolü

3.2.1. Koşu bandına (treadmill) uyum uygulaması

Tüketici egzersiz uygulanacak gruplar, koşu bandına adapte olmaları amacıyla 5 gün boyunca, 10 dakika süreyle, 7 m/dk hızda ve 0° eğimde koşturulmuştur [71].

3.2.2. Antrenman (kronik egzersiz) uygulaması

Kronik egzersiz grubuna, 12 hafta boyunca ve haftada 5 gün, günde 30 dakika olacak şekilde, 2 adet sıçan koşu bandının 8 kanalında her gün aynı saatte koşu yaptırılmıştır. Koşu programının ilk 5 dakikası ısınma amaçlı olup denekler 7 m/dk hızda ve 0° eğimde koşturulmuş, sonraki 20 dakika submaksimal egzersiz niteliğinde olup 15 m/dk ve 15° eğimde koşturulan denekler, son 5 dakika başlangıç egzersizi ile soğutulmuşlardır [76].

3.2.3. Tüketici egzersiz uygulaması

Denekler, 5 dakikalık ısınma egzersizinden sonra, maksimal egzersiz düzeyi olarak kabul edilen 20 m/dk hız ve 5° eğimde tükenene kadar koşturulmuştur. Sıçanların treadmill üzerindeki 0,35 mA'den 1,5 mA'e kadar elektrik şoku verilebilen ızgara üzerinden kaçamayıp, birkaç dakika sırt üstü hareketsiz olarak yatmaları tükenme kriteri olarak kabul edilmiştir [77].

3.3. Cerrahi Uygulama

Deneyle GÜDAM'ın cerrahi laboratuvarlarında, steril cerrahi şartlarında gerçekleştirilmiştir.

İntraperitoneal 45 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar 50 mg/ml, Eczacıbaşı İlaç Pazarlama A.Ş. Lüleburgaz, İstanbul, Türkiye) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun Abdi İbrahim İlaç Pazarlama A.Ş., İstanbul, Türkiye) verilerek anestezi sağlanan tüm denekler intrakardiyal kan alımı yöntemiyle feda edilerek; çeşitli doku örnekleri alınmış, bu örnekler paketlenip saklanmak üzere sıvı azot tankına konulmuş ve kalp doku örnekleri çalışana kadar – 80 °C'de saklanmıştır.

3.4. Analiz Yöntemleri

IL-6 ve hepsidin transkripsiyonunun ölçülmesinde, Gazi Üniversitesi (01/2013-09 no'lu) Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) destekleme programı uyarınca temin edilen ticari kitler kullanılmış; ancak dokular sıvı azot içinde Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına taşınarak, ölçümler gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. Dokuların homojenizasyonu ve total ribonükleik asit (RNA) izolasyonu

Moleküler çalışmaların yapılabilmesi amacıyla Total RNA İzolasyon kiti (Qiagen Fibrous Tissue Mini Kit K74704) kullanılarak kalp dokusu örneklerinden öncelikle homojenizat eldesi ve homojenizattan total RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu kitin içeriği aşağıda belirtilmiştir:

1. RLT tamponu (Guanidiyum Tiyosiyanat içerir, 45 ml)
2. RPE tamponu (Konsantre, 11 ml)
3. RW1 tamponu (Etanol içerir, 45 ml)
4. Ribonükleazdan arındırılmış deoksiribonükleaz (DNase) seti (DNA'ları denatüre eder) içeriği:
 - a. RDD tamponu (2 ml)
 - b. RNase Free DNase I (1 tüp, 1500 ünite)
 - c. Ribonükleazdan arındırılmış su (1,9 ml)
5. Proteinaz K (Proteinleri denatüre eder, 2 ml)
6. Ribonükleazdan arındırılmış su (4×10 ml)
7. RNeasy mini spin kolon (50 adet)
8. 1,5 ml ependorf tüp (50 adet)
9. 2 ml toplama tüpü (50 adet)

Ön hazırlık aşaması olarak RLT tamponuna % 1 oranında β -merkaptoetanol eklenmiştir. Konsantre RPE tamponu hacminin 4 katı etil alkol ilavesi ile dilüe edilmiştir. Toz halindeki DNAase I üzerine 550 μ l ribonükleazdan arındırılmış su eklenerek DNase I stok solüsyonu hazırlanmıştır.

Hassas terazide tartılarak 60-100 mg olacak şekilde alınan dokular sıvı azot varlığında ezilmiştir. Ezilen dokular homojenizasyon tüpüne aktarılıp üzerine 300 μ l RLT + β ME karışımı ilave edilmiştir. Buzlu ortamda 2 dakika süre ile 30 dönüş/dakika (rpm) hızda homojenizasyon işlemi tamamlanmıştır (Glas-Col, 099C-K5424).

Homojenizata 590 μ l ribonükleazdan arındırılmış su ve 10 μ l proteinaz K eklenmiş, vorteks ile karıştırılmıştır. Homojenizatlar ependorfa aktarılıp su banyosunda +55 °C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra tüpler 10 000 g'de 3 dakika +22 °C'de santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar (yaklaşık 900 μ l) yeni ependorf tüpüne pipetlenmiş ve süpernatant hacminin yaklaşık yarısı kadar (450 μ l) etil alkol ilave edilerek pipetajla karıştırılmıştır. Süpernatant ve etil alkol karışımından yaklaşık 700 μ l toplama tüpü içine yerleştirilmiş olan mini spin kolon membranına pipetlenerek +22 °C'de 8000 g'de 15 saniye santrifüj edilmiştir. Toplama tüpünde biriken sıvı atıldıktan sonra kalan süpernatant-etil alkol karışımı toplama tüpü içine yerleştirilmiş olan mini spin kolon membranına pipetlenerek +22 °C'de 8000 g'de 15 saniye santrifüj edilmiştir. 350 μ l RW1 tamponundan mini spin kolon membranına pipetlenmiş ve +22 °C'de 8000 g'de 15 saniye santrifüj edilmiştir. Toplama tüpünde biriken sıvı atılmıştır. 10 μ l DNase I stok solüsyonu 70 μ l RDD tamponuna ilave edilip karıştırıldıktan sonra 80 μ l DNase I-RDD tampon karışımı mini spin kolon membranına pipetlenerek oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda RW1 tamponundan 350 µl mini spin kolon membranına pipetlenerek +22 °C'de 8000 g'de 15 saniye santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü atılıp, mini spin kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Takiben RPE tamponundan 500 µl mini spin kolon membranına pipetlenerek +22 °C'de 8000 g'de 15 saniye santrifüj edilmiş, toplama tüpünde biriken sıvı atılmıştır. Etil alkol ile dilüe edilmiş olan RPE tamponundan 500 µl, mini spin kolon membranına pipetlenerek +22 °C'de 8000 g'de 2 dakika santrifüj edilmiş, mini spin kolon ependorf tüpüne yerleştirilmiştir. 45 µl ribonükleazdan arındırılmış su, mini spin kolon membranına pipetlenerek +22 °C'de 8000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası ependorf tüpte elde edilen total RNA -20 °C'de saklanmıştır.

3.4.2. Total RNA konsantrasyonu ölçümü ve kalitesinin kontrolü

Elde edilen total RNA örneklerinden 2 µl alınarak 230, 260 ve 280 nanometre (nm) dalga boyundaki absorbans ölçümleri (A230, A260, A280) spektrofotometrede (NanoDrop, ND-1000) yapılmıştır. Nükleik asitler 260 nm, proteinler ve özellikle aromatik aminoasitler 280 nm, fenolat iyonu, tiyosiyanat ve başta polisakkaritler olmak üzere organik diğer bileşikler 230 nm dalga boyunda güçlü absorbans vermektedirler. RNA'nın 260 nm'de ölçülen 1 optik dansitesi 40 µg/ml'ye eşittir. Buna göre, örneklerin total RNA konsantrasyonları $40 \times A_{260} = \text{RNA konsantrasyonu } (\mu\text{g/ml})$ formülüne göre hesaplanmıştır. Konsantrasyonu 200 ng/ml ve üzeri olan örnekler ileri basamaklarda kullanılmıştır. Protein kontaminasyonunun değerlendirilmesi amacıyla A260/A280 oranına bakılmış, 1,8 ve üzeri orana sahip örnekler saf kabul edilirken, karbonhidrat ve diğer organik bileşikler kontaminasyonun değerlendirilmesi amacıyla A260/A230 oranına bakılmış, 1,5 ve üzeri orana sahip örnekler saf kabul edilip ileri basamaklarda kullanılmıştır. Konsantrasyonu, A260/A280 ve A260/A230 değerleri kriterlere uyan örneklerde total RNA'ların intakt kaldığını göstermek amacıyla her örnekten 1000 ng alınarak % 1'lik agaroz jelde 1 saat boyunca 100 voltta yürütülmüştür ve ultraviyole kamerada görüntülenmiştir. 28S ve 18S RNA bantlarının görülmesiyle total RNA'da hasarlanma olmadığı kabul edilerek sonraki aşamalar için kullanılmıştır.

3.4.3. Komplementer deoksiribonükleik asit (cDNA) sentezi ve RT-PCR reaksiyonu

Bu çalışmada total RNA'dan mRNA ekspresyon düzeylerini kantitatif olarak ölçmek için ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) kullanılmış ve total RNA'dan komplementer deoksiribonükleik asit (cDNA) sentezlenerek istenilen DNA dizisi PCR ile çoğaltılmıştır. PCR sonrası elde edilen ürünler jel elektroforez yöntemi ile görüntülenmiştir [78].

Total RNA'dan mRNA sentezlemek için cDNA sentez kiti (RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit, K1622, Fermentas) kullanılmıştır. Üreticiden temin edildikten sonra derin dondurucuda (-20 °C) muhafaza edilen kitin içeriği aşağıda belirtilmiştir:

1. Nükleazdan arındırılmış su (1,25 ml)
2. Reaksiyon Tamponu (5X Reaction Buffer, 500 µl)
3. 10 mM dNTP Karışımı (dGTP, dATP, dTTP, dCTP, 250 µl)
4. Başlatıcı Primer (Random Hexamer Primer, 0,2 µg/µl, 120 µl)
5. Ribonükleaz İnhibitör (RiboLock RNAase İnhibitor, 20 u/µl, 120 µl)
6. Ters Transkriptaz (RevertAid Reverse Transcriptase, 200 u/µl, 120 µl)

Enzimlerin sıcaklıktan etkilenmelerini önlemek amacıyla çalışmalar buz üzerinde yapılmıştır.

Total RNA örneğinden 2000 ng (Örn: Konsantrasyonu 500ng olan örnekten $2000/500=4$ µl) 200 µl hacimli steril ve nükleazdan arındırılmış PCR tüpüne konulmuştur. Üzerine 1 µl random hexamer primer eklenmiş, karışım toplamı 12 µl olacak şekilde nükleazdan arındırılmış su eklenmiş ve pipetajla karıştırılmıştır. 3-5 saniye santrifüj ile oluşan köpükler giderilerek sıvının tüpün dibinde toplanması sağlanmıştır. Karışım PCR cihazında (Thermocycler, PCR cihazı, Techne TC 412) +70 °C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. PCR tüpü buz üzerindeki bloklara konularak, karışıma sırasıyla 4 µl 5X reaksiyon tamponu, 1 µl Ribonükleaz inhibitörü, 2 µl 10 mM'lik dNTP karışımı eklenmiştir. 3-5 saniye santrifüj ile oluşan köpükler giderilerek sıvının tüpün dibinde toplanması sağlanmıştır. Karışım PCR cihazında +25 °C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. Tüpler PCR cihazı içindeyken karışıma 1 µl revers transkriptaz eklenerek karışım hacmi 20 µl'ye tamamlanmış ve 10 dakika +25 °C'de, takiben 60 dakika +42 °C'de, 10 dakika +72 °C'de tutularak reaksiyon sonlandırılmıştır. PCR'da +4 °C'ye kadar soğutulduktan sonra elde edilen cDNA örnekleri sonraki aşamalarda kullanılmak üzere derin dondurucuda (-20 °C) saklanmıştır.

3.4.4. GAPDH, IL-6, hepsidin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

İn vitro koşullarda, polimeraz zincir reaksiyonu ile nükleotid dizinleri bilinen DNA moleküllerinin tamamı veya molekülün belirli kısımları büyük miktarlarda oluşturulabilmektedir. cDNA'daki özgün bir bölgenin çoğaltılabilmesi için bu bölgedeki nükleotid dizinlerinin bilinmesi ve o bölgeye özgün kopyalama işlemini başlatabilecek primerler gerekmektedir. Araştırılacak DNA'da eşleniği olan DNA oligonükleotid dizileri olan primerler, 15-20 bazdan oluşmakta ve tamamlayıcı DNA ipliklerinden karşıt yönlerde DNA sentezi başlatabilmek için forward ve reverse olmak üzere (GAPDH, IL-6, Hepsidin) iki adet kullanılmaktadır. Kalıp DNA'nın iki ipliğini ayırabilmek için yüksek sıcaklığa çıkarılarak reaksiyon başlatılıp, primerlerin kalıp DNA zinciri üzerinde kendilerine karşılık gelen diziler ile eşleşmeleri için sıcaklık düşürülmektedir. Ortama eklenen yüksek sıcaklığa dayanıklı polimeraz enzimi (Taq DNA polimeraz) primerleri kullanarak her iki iplikteki kalıba tamamlayıcı yeni bir iplik sentezini başlatmaktadır. Çoklu ısıtma soğutma döngüleri ile $2^{\text{siklus sayısı}} - 2 \times \text{siklus sayısı}$ kadar kopya elde edilmektedir.

PCR'de kullanılan primerlerin dizinleri ile çoğaltılan hedef DNA dizinlerinin nükleotid sayıları Çizelge 3.1.'de yer almaktadır.

Çizelge 3.1. GAPDH, IL-6, hepsidin için primer dizinler, hedef DNA dizini nükleotid sayısı

Hedef DNA	Primer Dizinleri	Hedef DNA Dizini Nükleotit Sayısı
GAPDH	forward 5'-TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA-3'	452
	revers 5'-ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC-3'	
IL-6	forward 5'-GTC AAC TCC ATC TGC CCT TCA G -3'	437
	revers 5'-GGC AGT GGC TGT CAA CAA CAT -3'	
Hepsidin	forward 5'-GAA GGC AAG ATG GCA CTA AGC A-3'	337
	revers 5'-TCT CGT CTG TTG CCG GAG ATA G-3'	

Üreticiden temin edildikten sonra PCR aşamasına kadar derin dondurucuda (-20 °C) muhafaza edilen Taq DNA Polimeraz (Taq DNA Polymerase, 5 u/µl, 500 u, EP0402, Fermentas) kitinin içeriği aşağıda belirtilmiştir:

1. 25 mM MgCl₂
2. 10X Taq tamponu (1,25 ml)
3. Taq DNA polimeraz (5 u/μl, 500 u)

Ön hazırlık aşaması olarak 100 mM dNTP setten (100 mM dGTP, dATP, dTTP, dCTP, Fermentas) 10 mM dNTP karışımı hazırlanmış ve liyofilize primerler son konsantrasyon GAPDH için 25 pmol/μl, Hepsidin için 100 pmol/μl, IL-6 için 50 pmol/ μl olacak şekilde steril, ribonükleazdan arındırılmış (RNAase free) su ile çözülmüştür.

Enzimlerin sıcaklıktan etkilenmelerini önlemek amacıyla çalışmalar buz üzerinde yapılmıştır.

GAPDH protokolü [78]

Sırasıyla 34 μl steril, ribonükleazdan arındırılmış su, 4 μl 25 mM'lik MgCl₂, 3 μl 10X Taq tamponu, 2 μl 10 mM'lik dNTP karışımı, 2+2 μl (Forward + Reverse) primerler (25 pmol), 3 μl RT-PCR ürünü (cDNA), 0,4 μl Taq DNA polimeraz 200 μl hacimli steril ve nükleazdan arındırılmış PCR tüpüne konulmuş ve pipetajla karıştırılmıştır.

Karışım PCR cihazında (Thermocycler, PCR cihazı, Techne TC 412) +94 °C'de 3 dakika inkübe edildikten sonra 30 siklus boyunca; +94 °C'de 30 saniye, +60 °C'de 30 saniye, +72 °C'de 1 dakika inkübe edilmiş ve 5 dakika +72 °C'de tutularak reaksiyon sonlandırılmıştır. PCR'da +4 °C'ye kadar soğutulduktan sonra elde edilen DNA örnekleri yatay jel elektroforezi yapıncaya kadar derin dondurucuda (-20 °C) saklanmıştır.

IL-6 protokolü [79]

Sırasıyla 29 μl steril, ribonükleazdan arındırılmış su, 4 μl 25 mM'lik MgCl₂, 5 μl 10X Taq tamponu, 2 μl 10 mM'lik dNTP karışımı, 2+2 μl (Forward + Reverse) primerler (25 pmol), 4 μl RT-PCR ürünü (cDNA), 2 μl Taq DNA polimeraz 200 μl hacimli steril ve nükleazdan arındırılmış PCR tüpüne konulmuş ve pipetajla karıştırılmıştır.

Karışım PCR cihazında (Thermocycler, PCR cihazı, Techne TC 412) +94 °C'de 4 dakika inkübe edildikten sonra 35 siklus boyunca; +94 °C'de 30 saniye, +60 °C'de 40 saniye, +72 °C'de 1 dakika inkübe edilmiş ve 7 dakika +72 °C'de tutularak reaksiyon sonlandırılmıştır.

PCR'da +4 °C'ye kadar soğutulduktan sonra elde edilen DNA örnekleri yatay jel elektroforezi yapılıncaya kadar derin dondurucuda (-20 °C) saklanmıştır.

Hepsidin protokolü [79]

Sırasıyla 29 µl steril, ribonükleazdan arındırılmış su, 4 µl 25 mM'lik MgCl₂, 5 µl 10X Taq tamponu, 2 µl 10 mM'lik dNTP karışımı, 2+2 µl (Forward + Reverse) primerler (25 pmol), 4 µl RT-PCR ürünü (cDNA), 2 µl Taq DNA polimeraz 200 µl hacimli steril ve nükleazdan arındırılmış PCR tüpüne konulmuş ve pipetajla karıştırılmıştır.

Karışım PCR cihazında (Thermocycler, PCR cihazı, Techne TC 412) +94 °C'de 4 dakika inkübe edildikten sonra 32 siklus boyunca; +94 °C'de 30 saniye, +60 °C'de 40 saniye, +72 °C'de 1 dakika inkübe edilmiş ve 7 dakika +72 °C'de tutularak reaksiyon sonlandırılmıştır. PCR'da +4 °C'ye kadar soğutulduktan sonra elde edilen DNA örnekleri yatay jel elektroforezi yapılıncaya kadar derin dondurucuda (-20 °C) saklanmıştır.

3.4.5. GAPDH, IL-6, hepsidin jel elektroforezi ve görüntülenmesi

Moleküllerin elektrik akımı altında göç etme hızlarına göre ayrılmalarını temel alan jel elektroforezi tekniği ile PCR ürünleri görüntülenerek ölçülmüştür.

Jel elektroforezi sırasında yatay elektroforez jel sistemi (Minicell Primo Model, EC320, Thermo), güç kaynağı (EC250-90, Mid-Range Power Supply, Thermo) ve ısıtıcılı magnetik karıştırıcı (Isotex, SH-4) cihazları kullanılmıştır. Kofaktör olarak Mg kullanan enzimler aracılığıyla DNA'nın enzimatik degradasyonunu engellemek üzere Mg için şelatör görevi yapan disodium EDTA (2 mM), DNA'nın deprotonize edilmesi ve suda çözülmüş halde kalmasını sağlayan Triborikasit (89 mM) içeren 1X TBE çözeltisi tampon çözelti olarak kullanılmıştır. Yüklemenin yapılacağı jel için agar (Prona Agarose), 6X yükleme boya solüsyonu (Fermentas, R0611), agaroz jel içindeki DNA'nın görünür hale getirilmesi için floresan özellikteki % 5'lik etidyum bromür çözeltisi kullanılmıştır.

Jel elektroforezinin yapılacağı tanka 1X TBE çözeltisi konulup 10 µl etidyum bromür çözeltisi eklenmiştir.

% 2'lik agaroz jel hazırlamak için:

50 ml'lik beher içine 600 mg agar, 1X TBE ile 30 ml'ye tamamlanarak 50 ml'lik beher içine konulmuştur. İçine manyetik balık konulup ağzı parafilm ile kapatıldıktan sonra, beherin boyunun yarısına denk gelecek kadar sıcak su içeren 500 ml'lik beher içine yerleştirilmiş, 250 rpm ve 300 °C'ye ayarlanan ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerinde agarın erimesi sağlanmıştır. Agar kaynamaya başladığı anda agar içeren beher çıkarılarak 1,5 µl % 5'lik etidyum bromür eklenmiştir. Kuyuların oluşumu için sekizli tarağın kullanıldığı jel tabakasının içine etidyum bromürlü agar jeli dökülmüş ve jelin donması beklenmiştir. Jel donduktan sonra tarak çıkarılarak jel tablası tank içine yerleştirilmiştir. IL-6 ve hepsidin ürünlerinden 20 µl ve 6X yükleme boyasından 4 µl, GAPDH ürünlerinden 10 µl ve 6X yükleme boyasından 2 µl pipetajla karıştırılıp jeldeki kuyulara yüklenmiştir. Bir jelde örnek dokuların PCR ürünleri ve bunların kontrolü olan GAPDH PCR ürünü yüklenmiştir. 60 dakika 100 voltluk akımda yürütülen ürünler, yürütülme sonrası 15 dakika içinde görüntülenmişlerdir.

Elektroforez sonrası agaroz jel görüntülenmesi UV kamera (Cleaver Scientific, DI-HD) kullanılarak elde edilmiştir.

3.4.6. İstatistiksel analiz

'National Institutes of Health' sitesinden serbest olarak indirilip kullanılabilen Image J analiz programı ile agaroz jel görüntülerindeki bant yoğunlukları hesaplanmıştır. Her deneğin kalp dokusu IL-6 ve hepsidin bant yoğunluğu, aynı dokunun GAPDH bant yoğunluğu ile oranlanmıştır (IL-6/GAPDH ve Hepsidin/GAPDH).

İstatistiksel değerlendirme $p < 0,05$ değerleri anlamlı kabul edilerek SPSS 20.0 programı ile yapılmıştır. Gruplar arası karşılaştırma One-Way ANOVA analiz testi ve posthoc Tukey HSD testi ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Tükenme Süreleri

Tüketici egzersiz yaptırılan akut ve kronik grupların ortalama tükenme süreleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Akut ve kronik grupların tükenme süreleri ($p<0,0001$)

Akut Gruplar (n=12)	Kronik Gruplar (n=12)
84 ± 26 dk	149 ± 35 dk

4.2. mRNA Ekspresyon Oranları

Tüm deneklerin mRNA ekspresyon seviyeleri ortalama ± standart sapma şeklinde Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Deneklerin IL-6 ve hepsidin mRNA ekspresyon seviyeleri

	Kontrol	Akut Hemen	Akut 1	Kronik Hemen	Kronik 1
IL-6	0,001 ± 0,000	1,263 ± 0,306*	0,116 ± 0,111	0,462 ± 0,349*	0,626 ± 0,266*
Hepsidin	0,099 ± 0,144	0,443 ± 0,151	0,434 ± 0,304	0,352 ± 0,253	1,307 ± 0,464*

4.2.1. İnterlökin-6 mRNA ekspresyonu değişiklikleri

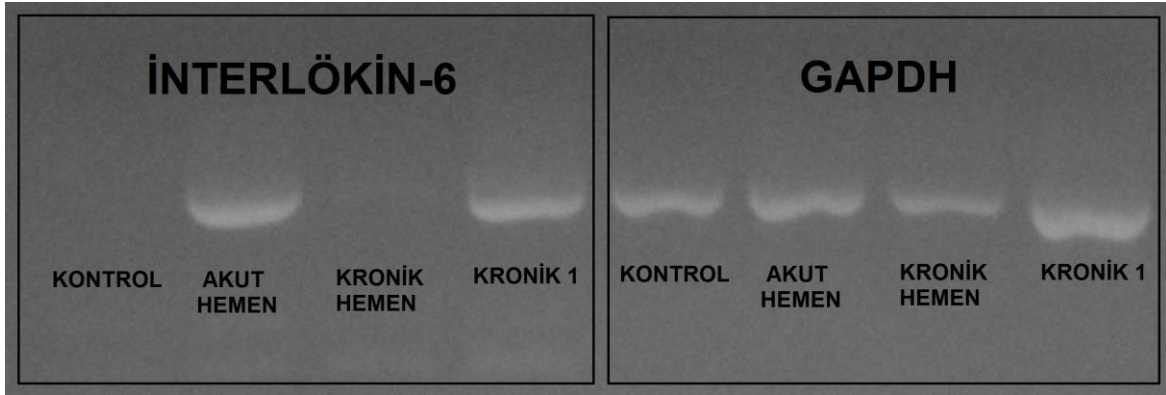
IL-6 mRNA ekspresyon seviyesi kontrol grubuna göre, akut hemen ($p=0,000$), kronik hemen ($p=0,024$) ve kronik 1 ($p=0,001$) grubunda anlamlı artış göstermiş, akut 1 ($p=0,923$) grubunda anlamlı farklılık göstermemiştir.

Akut hemen grubunda diğer tüm gruplara nazaran daha yüksek IL-6 ekspresyonu bulunmuştur (akut hemen vs. kontrol $p=0,000$, akut 1 $p=0,000$, kronik hemen $p=0,000$ ve kronik 1 $p=0,001$).

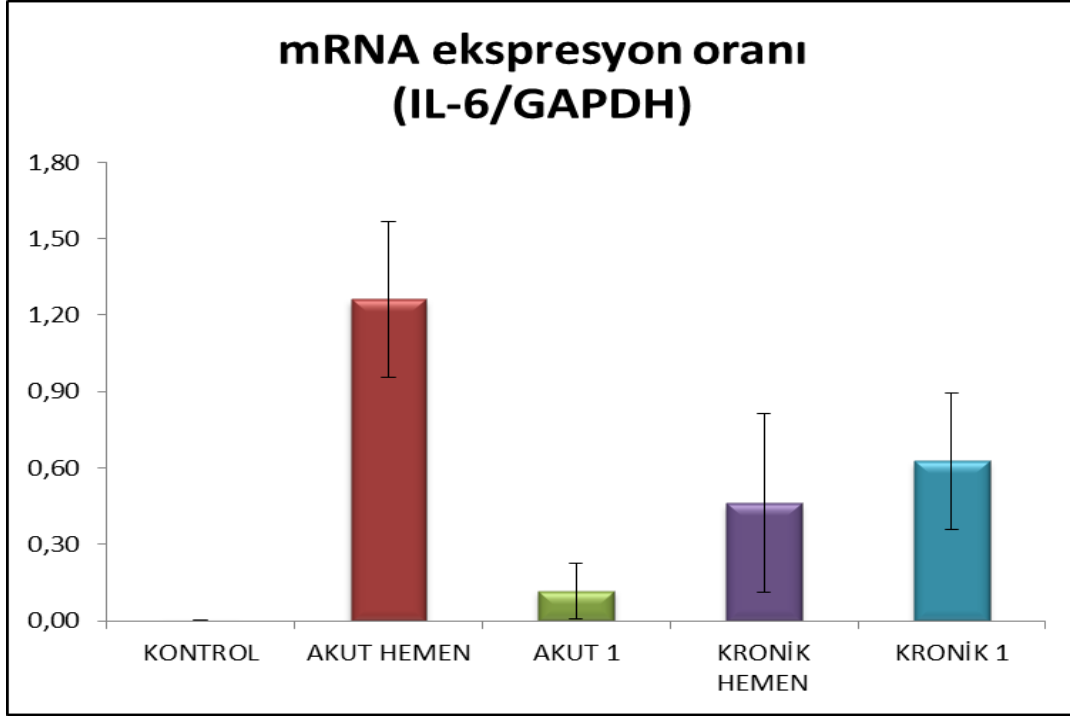
Akut 1 grubu, akut hemen ($p=0,000$) ve kronik 1 ($p=0,011$) grupları ile anlamlı farklılık göstermiş, kontrol ($p=0,923$) ve kronik hemen ($p=0,136$) grupları ile anlamlı farklılık göstermemiştir.

Kronik hemen grubu, kontrol ($p=0,024$) ve akut hemen ($p=0,000$) grupları ile anlamlı farklılık göstermiş, akut 1 ($p=0,136$) ve kronik 1 ($p=0,771$) grupları ile anlamlı farklılık göstermemiştir.

Kronik 1 grubu, kontrol ($p=0,001$), akut hemen ($p=0,001$) ve akut 1 ($p=0,011$) grupları ile anlamlı farklılık göstermiş, kronik hemen ($p=0,771$) grubu ile anlamlı farklılık göstermemiştir.



Resim 4.1. IL-6 mRNA ekspresyon bant görüntüleri



Şekil 4.1. Gruplara göre kalp dokusu IL-6 mRNA ekspresyon seviyeleri

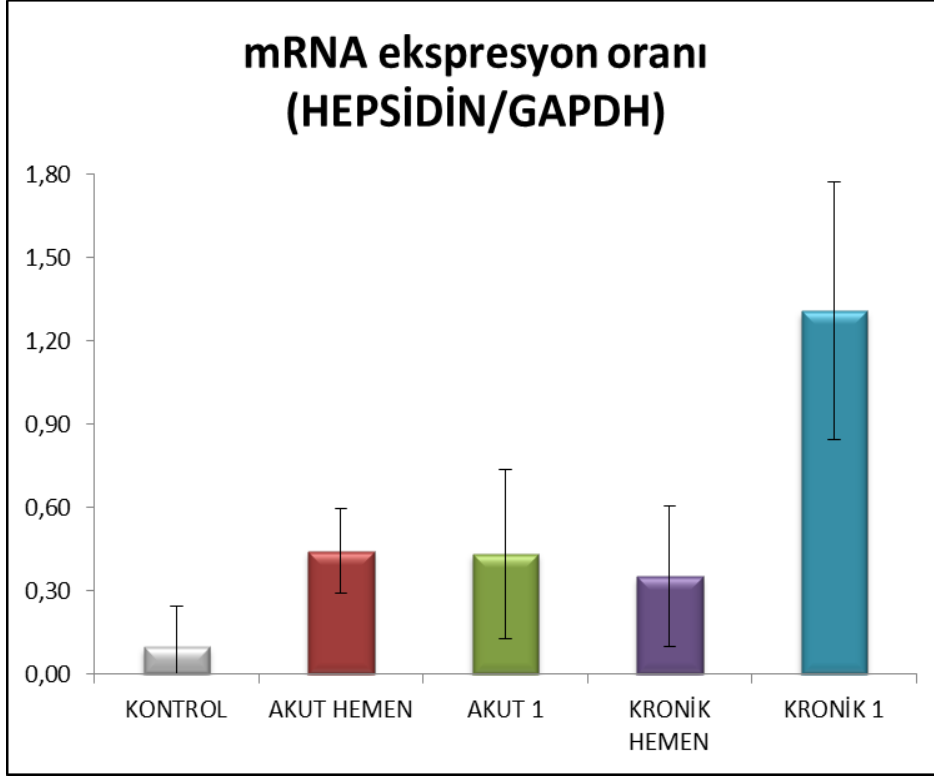
4.2.2. Hepsidin mRNA ekspresyonu değişiklikleri

Hepsidin mRNA ekspresyon seviyesi, kronik 1 grubunda diğer tüm gruplara göre anlamlı artış göstermiştir (kronik 1 vs kontrol $p=0,000$, akut hemen $p=0,000$, akut 1 $p=0,000$, kronik hemen $p=0,000$).

Diğer gruplar birbirleriyle anlamlı farklılık göstermemiştir.



Resim 4.2. Hepsidin mRNA ekspresyonu bant görüntüleri



Şekil 4.2. Gruplara göre kalp dokusu hepsidin mRNA ekspresyon seviyeleri

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, akut olarak tüketici egzersize zorlanan sıçanlar ile uzun süreli antrenmandan sonra tüketici egzersize zorlanan sıçanların kalp dokusunda IL-6 ve hepsidin mRNA ekspresyon düzeylerinin değişimi incelenmiş, uzun süreli (kronik) antrenmanın bir fark yaratıp yaratmadığı sorgulanmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular şu şekilde özetlenebilir;

1. Kontrol grubuna göre, akut egzersizden 1 gün sonra tüketilen sıçanlar dışında, diğer tüm gruplarda IL-6 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel anlamlı artış olduğu ve akut egzersizden hemen sonra tüketilen sıçan kalp dokularında görülen artışın diğer tüm gruplardan daha yüksek olduğu saptanmıştır.
2. Kontrol grubuna göre, antrenman yapmış sıçanların kalp dokularında egzersizden 1 gün sonra hepsidin mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak önemli artış saptanmış, akut olarak tüketici egzersiz yaptırılan sıçanlarda egzersizden 1 gün sonra buna benzer anlamlı bir artış saptanamamıştır.

Bu bulgular ışığında, antrenmanın tüketici egzersizin kalp dokusunda meydana getirdiği inflamasyon etkisini azalttığı ve antrenman ile kalp dokusunda hepsidin seviyesinin artışı sağlanarak tüketici egzersizin olumsuz etkilerinin azaltılabileceği gösterilmiştir.

Tüketici egzersiz yaptırılan sıçanların kalp dokularında IL-6 ve hepsidin mRNA ekspresyon seviyesinde anlamlı artış bulunmuştur. Şiddetli egzersiz sırasında artış gösteren IL-6 seviyesinin kardiyak hasarla ilişkili olabileceği [80] ve kalpte hepsidin değişikliklerine neden olabileceği bilinmektedir [4].

Uzun ve şiddetli egzersiz sonrası atletlerde, egzersiz ilişkili kardiyak hasar ve/veya disfonksiyon belirtileri olarak kardiyak troponinler (cTnT ve cTnI), iskemi modifiye albümin (IMA) ve beyin kaynaklı natriüretik peptit (BNP) gibi kardiyak belirteçlerin sistemik dolaşımında arttığı rapor edilmiştir [81]. Yüksek şiddetli egzersizden sonra artış gösteren kardiyak belirteçleri açıklamak için çeşitli hipotezler öne sürülmüştür. Birincisi, şiddetli egzersizin indüklediği oksidatif stres ve sistemik inflamasyonun kardiyak hasara

neden olabileceğidir [82]. Şiddetli egzersizin indüklediği IL-6 ve TNF gibi inflamatuvar sitokinlerdeki artış, kardiyomiyosit disfonksiyonuna neden olabilmektedir [83]. İkincisi, etkili egzersiz sırasında kardiyak debinin artışı ve kardiyomiyosit integrinleri aracılığıyla gerim ilişkili mekanizmaların cTn salınımına neden olabileceğidir [84]. Üçüncüsü, kardiyak hasarlı yaşlı maraton koşucularında görüldüğü gibi, iskeminin, egzersizin indüklediği kardiyak enzimlerde artışa neden olabileceğidir [85]. Dördüncüsü, azalmış renal eliminasyon nedeniyle bozulmuş renal ekskresyonun cTnT seviyelerinde artışa neden olabileceğidir [86]. Ancak, birçok durumda şiddetli egzersizden birkaç gün sonra kardiyak belirteçler bazal seviyelerine dönebilmektedir [87]. Muhtemelen, kardiyak troponin salınımı, miyokardiyal işteki artışla (dolayısıyla miyokardiyal oksijen alınımı ile) ilişkilidir, bu da egzersiz ilişkili kalp hızında ve oksidatif streste artış tarafından etkilenmektedir [88].

McKay ve diğerleri (2009) şiddetli egzersizin oksidatif etkilerini, çoğunlukla akut egzersiz yaptırılan hayvanlarda göstermiştir. Buna karşılık uzun süreli fiziksel aktivitenin anti-oksidan enzimlerin up-regülasyonu yoluyla anti-oksidan savunma mekanizmalarını arttırdığına dair kanıtlar bulunmaktadır [89].

Bu çalışmada, maksimum IL-6 ekspresyonu akut hemen grubunda bulunmuştur. Edwards, Burns, Ring ve Carroll (2006), bazale göre IL-6 artışının maksimal şiddetteki egzersizden hemen sonra olduğunu fakat submaksimal şiddetteki egzersizden hemen sonra böyle bir artışın görülmediğini saptamışlardır [90]. Bizim bulgularımızla uyumlu olarak egzersizden hemen sonra plazma IL-6 seviyesinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Bir çalışmada erkek atletlerde ortalama plazma IL-6 konsantrasyonunun 2,5 saatlik treadmill koşusu bitiminde koşu öncesi değere göre 25 kat artarak pik yaptığı rapor edilmiştir [91]. Margeli ve diğerleri (2005), 246 kilometrelik (32 saatlik) Spartatlon yarışı bitiminde plazma IL-6 seviyesinin 8000 kat arttığını, 2 gün sonra normal seviyeye döndüğünü bildirmişlerdir [59]. Gusba, Wilson, Robinson ve Graham (2008), tükenene kadar (~ 2 saat) bisiklete binme egzersizi yaptırılan erkek sporcularda, sistemik IL-6 seviyesinin egzersiz sonrasında 10-15 kat arttığını, tükenme anında pik yaptığını, egzersiz bitiminde azalmaya başladığını saptamışlardır. İskelet kasında ise IL-6 ekspresyonu egzersiz sonunda 14,5 kat artmış, dinlenimin ilk yarım saati yüksek kalmış ve 60 dakika sonra bazal seviyeye dönmüştür [92].

Diğer bir yandan, kontrole kıyasla kronik hemen grubunda da anlamlı IL-6 ekspresyon artışı olmasına rağmen, bu artış akut hemen grubuna göre düşük kalmıştır ($p < 0.05$). Tüketici egzersizden sonra görülen, akut ve kronik gruplardaki IL-6 ekspresyon seviyeleri arasındaki farklılık, IL-6'nın gruplar üzerine olan etkisinin farklı olduğuna işaret etmektedir. Son çalışmalar, IL-6'nın inflamasyon üzerine etkisinin bazı patolojilerde makrofajlarda (ekspresyon, NF κ B sinyal yolağının aktivasyonuna bağımlıdır) veya şiddetli egzersizden sonra kaslarda (ekspresyon, Ca²⁺ /NFAT ve glikojen/p38 MAPK yolağını içeren sinyal kaskadı ile düzenlenir) eksprese edilmesine bağlı olarak farklı olabileceğini öne sürmektedir. Bu nedenle, IL-6 sinyali, monositlerde veya doku makrofajlarında hasara bağlı olarak pro-inflamatuvar yanıt oluştururken; artmış metabolik aktivite ve oksidatif stres dolayısıyla kaslarda anti-inflamatuvar yanıt oluşturabilmektedir [93].

Biz de akut grupta, tüketici egzersizin kalpte daha ciddi hasara neden olduğunu, IL-6'nın pro-inflamatuvar bir ajan olarak üretildiğini; kronik hemen grubunda ise kalp dokusunda çok ciddi bir inflamasyon gerçekleşmemiş olabileceğini düşünmekteyiz. Sıçanlarda kalp dokusunda inflamasyon olup olmadığı ve tüketici egzersize bağlı olarak kalpte IL-6 ekspresyonunun hangi yolağı kullandığı bu çalışmada ölçülmemiştir. Ancak, tüketici egzersiz ile sitokinler arasındaki ilişki hakkındaki literatür bilgileri [94, 95] göz önüne alındığında, kronik hemen grubuna göre özellikle akut hemen grubunda görülen IL-6 ekspresyon seviyesindeki anlamlı artış, patolojik sebep her ne olursa olsun (iskemi, anoksi, oksidatif strese artış) tüketici egzersizin neden olduğu inflamasyonun akut olarak koşturulan sıçanların kalplerinde daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Bazı çalışmalar, egzersiz programı içeren uzun süreli davranışsal değişikliklerin inflamasyon belirteçlerini azalttığını; özellikle IL-6'nın pro-inflamatuvar belirteç olarak yanlış değerlendirildiğini, o tip koşullarda anti-inflamatuvar ajan olarak görev yaptığını göstermektedir. Örneğin, IL-6'nın uyarılmasıyla ortaya çıkan anti-inflamatuvar etki dolayısı ile diğer klasik anti-inflamatuvar sitokinler; IL-1ra ve IL-10'un üretildiği gösterilmiştir [93]. Kronik grupta orta dereceli artış gösteren IL-6 ekspresyon seviyesinin, anti-inflamatuvar ajan olarak görev yaptığını ve kardiyomiyosit hasarı belirteci olmayabileceğini düşünmekteyiz. Bu önerimiz, uzun süreli ve tekrarlı iskemik alıştırmaya uygulanan deneklerde, miyokardiyal hasar kanıtı, belirgin aritmi veya sol ventriküler disfonksiyon olmadığını öne süren bir çalışma ile paralellik göstermektedir [96].

Kronik gruplarda görüldüğü üzere, kalp dokusu IL-6 eksprese etmesine rağmen, ekspresyon seviyesi akut gruplarda olduğu kadar yüksek değildir. Kronik gruplardaki düşük IL-6 seviyesi, uzun süreli antrenmanın inflamasyona karşı kalpte önemli derecede önleyici (koruyucu) olduğu anlamına gelmektedir. Düzenli egzersizin endotel fonksiyonunu geliştirerek inflamasyon seviyesini azalttığı bilinmektedir. Akut ve şiddetli egzersiz oksidatif metabolizmayı ve stresi artırmakta, uzun süreli fiziksel aktivite ise antioksidan enzimler ve nitrik oksit up-regülasyonu aracılığıyla oksidatif stresten korumayı sağlamaktadır [97]. Pek çok araştırmacı uzun süreli fiziksel aktivitenin inflamasyonu düşük seviyelerde tuttuğunu savunmaktadır [98]. Yine bazı çalışmalarda düzenli fiziksel aktivite ile bazal plazma IL-6 seviyesi arasında negatif bir ilişki olduğu (fiziksel aktivite arttıkça, bazal IL-6 seviyesinin azaldığını) ileri sürülmektedir [72]. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Kasapis ve Thomson (2005), inflamatuvar belirteç seviyelerinin koşucularda ve aerobik dansçılarda, nadiren egzersiz yapan genç ve sağlıklı insanlara göre daha düşük olduğunu bulmuşlardır [99]. Gokhale, Chandrashekara ve Vasanthakumar (2007), şiddetli egzersiz sonucu atletler ve atlet olmayan bireylerde IL-6 seviyesinin arttığını fakat atletlerde bu artışın daha az gerçekleştiğini saptamış, düzenli fiziksel egzersizin, egzersize karşı immün yanıtı hafiflettiğini öne sürmüştür [100]. Yfanti ve diğerleri (2012), sağlıklı genç erkeklerde, akut egzersize yanıt olarak hem plazmada hem de iskelet kasında IL-6 mRNA ekspresyonunun arttığını saptamışlardır. On iki haftalık antrenmandan sonra uygulanan egzersize yanıt olarak ise plazma IL-6 seviyesinde ve iskelet kası IL-6 mRNA ekspresyonundaki artışın çok daha düşük düzeylerde kaldığını gözlemlemişlerdir [101].

Tüketici egzersizin sistemik veya doku inflamasyonu yaratan bir faktör olmasına karşın, antrenmanlı sıçanların pro-inflamatuvar aktiviteye karşı direnç göstermesi ve bu sıçanların akut koşturulan sıçanlara göre tükenme seviyesine gelmeden daha uzun süre koşabilmeleri bu çalışmanın bulgularından biridir (Bkz Çizelge 4.1.). Akut ve kronik gruplarda kalp dokusunda IL-6 ekspresyon pik seviyeleri arasındaki farklılıklar hakkındaki bulgularımız, kalp dokusundaki inflamasyon seviyesinin farklı patofizyolojik mekanizmalar nedeniyle her iki grupta farklı olduğuna işaret etmektedir.

Kronik grupta, tüketici egzersiz sırasında aşırı IL-6 ekspresyonu artışından kalbi koruyan faktörlerden biri, egzersiz sırasında IL-6'nın anti-inflamatuvar etkisine paralel olarak sentezlenen hepsidin olabilir. Peeling ve diğerleri (2009a), 1 saatlik koşu sonrası, antrene

erkek atletlerde yüksek şiddetli egzersizin, serum demiri ve IL-6 seviyesindeki artışa bağlı olarak artan hepsidin seviyesinden sorumlu olduğunu öne sürmüşlerdir [102]. Bir diğer çalışmada 120 dakikalık treadmill koşusu yapan antrene genç erkeklerde egzersiz sonrası artan IL-6 ve hepsidin arasında pozitif korelasyon bulunduğu gösterilmiştir [51]. Liu, Chang, Zhao, Wang ve Duan (2011) da 5 haftalık treadmill koşusu yaptırılan sıçanlarda şiddetli egzersizin indüklediği inflamasyonun hepatik hepsidin gen ekspresyonunda artışa neden olduğunu bildirmişlerdir [103]. Bu çalışmalara karşılık Ausperger ve diğerleri (2012), 8 haftalık aralıklı veya sürekli koşu antrenmanı sonrasında, 10-21 km'lik maraton yarışı yapan bayan atletlerde, serum hepsidinin ve soluble transferrin reseptörünün etkilendiğini saptamışlar; ancak bu artışların inflamasyonla (CRP) pozitif ilişkisinin olmadığını rapor etmişlerdir [104]. Antrene judo atletleri ve antrene olmayan kontrol bireylerde yapılan bir çalışmada, egzersiz sonrası serum IL-6, demir ve ferritin seviyeleri ile hepsidin konsantrasyonundaki değişikliklerin korele olmadığı görülmüş, yüksek şiddetli ve aralıklı egzersizi takiben artan hepsidinin, IL-6 ve demirden bağımsız olduğu iddia edilmiştir [105]. Peeling ve diğerleri (2014), atletlerin demir depolarının bazal hepsidin seviyesini ve egzersiz sonrası hepsidin yanıtının büyüklüğünü belirlediğini; düşük demir depolarının, inflamatuvar odaklı artışları geçersiz kılarak egzersiz sonrası hepsidin seviyesini baskıladığını öne sürmüşlerdir [106].

Isoda ve diğerleri (2010), kalpte artan inflamatuvar sitokinlerin kardiyomyosit ve karaciğerde hepsidin gen ekspresyonunu indükleyebildiğini belirtmektedir [107]. Hepsidin ekspresyonu IL-6 tarafından artırılmakta fakat IL-1 α veya TNF- α gibi diğer inflamatuvar sitokinler tarafından artırılmamaktadır [108, 109]. Miyogloblini içeren kardiyomyositler büyük miktarda demirin primer hücresel kaynağıdır. Bu nedenle, kardiyak doku yıkımının ekstraselüler alana büyük miktarda demir salınımına neden olacağı düşünülmektedir [110]. Geçici koroner okluzyonuna maruz bırakılmış deney hayvanında, artmış doku demirinin büyük infarktlar ve daha fazla apoptozis ortaya çıkardığı gösterilmiştir [111]. İskemi kendiliğinden miyokardiyumda demir birikimine neden olmakta ve artmış miyokardiyal demir içeriği iskemi-reperfüzyon hasarına yol açmaktadır [112]. Hepsidin, kalpte yüksek ferroportin ekspresyonu yapan makrofajlardan veya non-kardiyomyotik non-inflamatuvar hücrelerden demir salınımını inhibe edebilmektedir [107]. Akut tüketici egzersizin antrenmansız sıçanlarda koroner yetersizliğe neden olabileceği düşünüldüğünde, bu hayvanların iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak demir metabolizması değişikliklerine karşı duyarlı olduğu öne sürülebilmektedir [113]. Çünkü intraselüler demir

ayrılmış, depolanmış ve bütün hücrelerde yüksek derecede eksprese edilen ferritin şeklinde detoksifiye edilmiştir. Hepsidin ekstraselüler serbest radikal oluşumuna karşı ekstraselüler demir artışını inhibe ederek, önemli sitoprotektif rol oynayabilmektedir [114].

Çalışmamızda, sedanter kontrollerde kalp dokusunda IL-6 ekspresyonu olmamasına rağmen, minimum miktarda hepsidin (belki fizyolojik miktar) ekspresyonu varlığı saptanmıştır. Antrenmanlı grupta hepsidin maksimum seviyeye, tükenmeden hemen sonra değil, tükenmeden bir gün sonra ulaşmıştır. Egzersizin sıçan kalp dokusunda hepsidin gen ekspresyonuna olan etkileri ile ilgili literatür bilgisine ulaşılammıştır. Yapılan çalışmalar çoğunlukla insan deneylerini kapsadığı için, hepsidin aktivitesi genellikle idrar ve plazma örneklerinde bakılmıştır. Troadec ve diğerleri (2009), normal gönüllülerde submaksimal bisiklete binme egzersizinin serum ve idrar hepsidin konsantrasyonuna etkisinin olmadığını bildirmişlerdir [54]. Peeling ve diğerleri (2009a) ise 1 saatlik koşu sonrası antrene erkek atletlerde üriner hepsidin seviyesinin koşudan sonra 3, 6 ve 24. saatlerde (1.7-3.1 kat) artış gösterdiğini; pik seviyeye 6. saatte ulaştığını bulmuşlardır [102]. Aynı araştırmacılar (2009b), üriner hepsidin seviyesinin atletlerde 10 km sürekli koşu ve 10x1 km aralıklı koşudan 3 saat sonra yüksek olduğunu tespit etmişlerdir [115]. Serum hepsidin konsantrasyonu bir kadın sporcu grubunda 60 ve 120 dakikalık treadmill egzersizinden 3 saat sonra belirgin artış göstermiş; 6 ve 9 saat sonra düşmeye başlamış ancak 24 saat sonra, hala, bazal seviyeden yüksek ölçülmüştür [116]. Sim ve diğerleri (2012) de, erkek dayanıklılık sporu yapan erkek atletlerde bir hafta arayla 90 dakikalık koşu sonrası serum hepsidin konsantrasyonunun egzersizden 3 saat sonra belirgin olarak yükseldiğini ancak 24 saat sonrasında normale döndüğünü saptamışlardır [53]. Bizim bulgularımızı destekler nitelikte bir çalışmada ise bayan atletlerde, maraton yarışından 1 gün sonra üriner hepsidin pik seviyeye ulaştığı saptanmıştır [52]. Yine, iskemik bir süreç bağlı infarkt başladıktan ilk 24 saat sonra kalbin iskemik alanında hepsidin mRNA ekspresyonunun geçici olarak up-regüle olduğu gösterilmiştir [113]. Simonis ve diğerleri (2010) bu sürecin hemojuvelin ve demir düzenleyici gen 1 (IREG-1) tarafından düzenlenen hepsidine mi yoksa diğer demir düzenleyici proteinlere mi özel olduğunu test etmişler ve demir düzenleyici proteinlerin de paralel şekilde olduğunu bulmuşlardır [113].

Bizim çalışmamızda akut hemen grupta görülen aşırı IL-6 ekspresyon artışı, hepsidin ekspresyonunda maksimum artışa neden olmamıştır. Bu sonuç şaşırtıcı olmuştur, çünkü hepsidin artışının IL-6 artışı ile paralellik göstermesini ve akut grupta maksimum

seviyesine ulaşmasını beklemekteydik. Ancak, hepsidin artışı IL-6 ile paralellik göstermemiş, aksine en yüksek seviyeye kronik 1 grubunda ulaşmıştır. Bazı son çalışmalar bizim bulgularımızı desteklemektedir. Newlin ve diğerleri (2012), uzun egzersiz süresinin daha fazla hepsidin artışı ile sonuçlandığını savunmaktadır [116]. Düşük IL-6 konsantrasyon önkoşullaması, hücreleri oksidatif hasardan korumak için hücresel savunma mekanizmalarını aktive ederek hücre canlılığını kurtarabilmektedir [117]. Bu öneriye benzer şekilde biz de akut olarak koşturulan sıçanlarda artmış IL-6 ekspresyonunun patolojik bir sürece işaret edebileceğini; antrenmanlı sıçanlarda IL-6 ekspresyonu artışının nispeten daha düşük düzeyde kalmasının ise IL-6'nın bu grupta bir anti-oksidan ajan olarak görev yapmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Robson-Ansley ve diğerleri (2011), IL-6 ile hepsidin arasında doz-yanıt ilişkisinin yetersiz olduğunu ve miktarından bağımsız olarak IL-6'a daha uzun süre maruziyetin hepsidin aktivite artışından sorumlu olabileceğini önermektedir [51]. Bu çalışmada bizim tereddütümüz IL-6 ve hepsidin mRNA ekspresyonunun farklı evrelerde pik yapmış olmasıdır. Yukarıda değindiğimiz bazı literatür bilgilerine dayanarak, antrenmanlı sıçanların daha uzun sürede koştuğunu (Bkz Çizelge 4.1.) çünkü antrenmana bağlı önkoşullama ile kalbi hasardan korumak için daha fazla hepsidin üretildiğini düşünmekteyiz. Son yıllarda bu konularda yapılan çalışmalar, şiddetli ve/veya uzun süreli egzersize yanıtta IL-6'nın yanında, diğer biyolojik sinyallerin de transkripsiyonel düzeyde hepsidini aktive edebileceğini önermektedir [55]. Bu bilgi; hepsidin ekspresyonunun IL-6 dışında diğer bazı faktörler tarafından tetiklenebileceğini akla getirmektedir. Egzersize bağlı IL-6 artışının hepsidin ve devamında demir yanıtını değiştirmedeğini gösteren ve hepsidin yanıtında patolojik olarak indüklenen IL-6 değil; egzersiz tarafından indüklenen anti-inflamatuvar IL-6'nın ekspresyonunun etkin olduğuna dair çalışmalar vardır [51]. Biz de hepsidin artışının işaret ettiği doku korunmasının daha ziyade antrenmanlı sıçanlarda ortaya çıktığını düşünmekteyiz. Bu araştırmanın sonuçlarına göre de, pek çok araştırmacının önerdiği gibi [70], demir ve hepsidin metabolizmasını etkileyen farklı sinyal yollarının araştırılması gerekmektedir.

Akut egzersize yanıt olarak, lökositlerin, proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin dolaşımında artışı ile (pro-inflamatuvar cevaplar) oluşan potansiyel zararlar, anti-inflamatuvar mekanizmaların eşzamanlı aktivasyonu ile sınırlandırılmaya çalışılır. Tekrarlı egzersiz antrenmanları ise bizim çalışmamızda da vurgulandığı gibi inflamasyona işaret eden IL-6 ekspresyonunun daha düşük düzeyde kalmasını sağlamış, ancak bu grupta hepsidin ekspresyonu, IL-6'dan bağımsız olarak yüksek çıkmış veya bu sentezde IL-6'nın

pro-inflamatuvar değil, anti-inflamatuvar nitelikli sinyalleri hepsidin sentezini tetiklemiştir. Rosa ve diğerleri, (2011), egzersizin sağlıkla ilgili bütün ilişkisinin, pro- ve anti-inflamatuvar etkilerin dengelenmesi sayesinde ortaya çıktığını vurgulamaktadır [27].

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, akut olarak koşturulan sıçanlarla, egzersiz eğitimine tabi tutulmuş sıçanlarda, tüketici egzersizin, farklı inflamatuvar ve/veya koruyucu yanıtlar ortaya çıkardığı gösterilmiştir. Akut tüketici egzersizin kalpte oluşturduğu yüksek düzeyde IL-6 ekspresyonu, aynı düzeyde hepsidin ekspresyonuna yol açmamış ve olasılıkla pro-inflamatuvar etki göstermiştir. Antrenmanlı sıçanların kalbinde ise IL-6 ekspresyon düzeyleri daha düşük kalmakla birlikte; kalbi demir birikimine bağlı oksidatif stresten koruduğu bildirilen hepsidin ekspresyonu, özellikle tükenmeden 1 gün sonra, en yüksek düzeylere ulaşmıştır.

Bu çalışmada, IL-6 ve hepsidin düzeylerinin birbirine paralel olarak artmadığının gösterilmesi, Brandt ve Pedersen (2010)'nin de savunduğu gibi hepsidin sentezini tetiklediği savunulan IL-6' nın akut koşturulan grupta pro-inflamatuvar; kronik egzersizden sonra koşturulan grupta anti-inflamatuvar sinyal yollarını kullandığını düşündürmektedir.

Bu sonuçlara ve savımızı destekleyen bazı literatür bilgilerine dayanarak; hepsidinin oksidatif stres ve inflamasyona karşı koruyucu etkisinin, uzun süreli antrenman yapmış sıçanlarda daha güçlü olduğunu düşünmekteyiz.

Araştırmayı Sınırlayan Faktörler:

Bu araştırma, daha önceki bir projenin devamı olup, kalp dokusunun incelenmesi için yeniden deney hayvanı feda edilmesinin israf olacağı düşünülerek, sadece kısıtlı parametrelerin tayini ile gerçekleştirilen bir ön çalışmadır. Araştırmanın, doku hasarı belirteçleri, immunohistokimya, kan ve idrarda IL-6 ve hepsidin analizleri gibi daha geniş parametrelerle çalışılması, sonuçların yorumu açısından daha uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Caspersen, C.J., Powell, K.E., and Christenson, G.M. (1985). Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Reports*, 100 (2), 126–131.
2. O’Keefe, J.H., Patil, H.R., Lavie, C.J., Magalski, A., Vogel, R.A., and McCullough, P. A. (2012). Potential adverse cardiovascular effects from excessive endurance exercise. *Mayo Clinic Proceedings*, 87 (6), 587-595.
3. Pedersen, B.K. (2000). Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: exercise and cytokines. *Immunology and Cell Biology*, 78 (5), 532–535.
4. Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., and Trinder, D. (2008). Athletic induced iron deficiency: new insights into the role of inflammation, cytokines and hormones. *European Journal of Applied Physiology*, 103 (4), 381–391.
5. Sheikh, N., Dudas, J., and Ramadori, G. (2007). Changes of gene expression of iron regulatory proteins during turpentine oil-induced acute-phase response in the rat. *Laboratory Investigation*, 87 (7), 713–725.
6. Huey, K.A., Fiscus, G., Richwine, A.F., Johnson, R.W., and Meador, B.M. (2008). In vivo vitamin E administration attenuates interleukin-6 and interleukin-1 β responses to an acute inflammatory insult in mouse skeletal and cardiac muscle. *Experimental Physiology*, 93 (12), 1263-1272.
7. Bürger, A., Benicke, M., Deten, A., and Zimmer, H.G. (2001). Catecholamines stimulate interleukin-6 synthesis in rat cardiac fibroblasts. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 281 (1), H14-H21.
8. Jankowska, E.A., Rozentryt, P., Witkowska, A., Nowak, J., Hartmann, O., Ponikowska, B., Borodulin-Nadziejka, L., von Haehling, S., Doehner, W., Banasiak, W., Polonski, L., Filippatos, G., Anker, S.D., and Ponikowski, P. (2011). Iron deficiency predicts impaired exercise capacity in patients with systolic chronic heart failure. *Journal of Cardiac Failure*, 17 (11), 899-906.
9. Merle, U., Fein, E., Gehrke, S.G., Stremmel, W., and Kulaksız H. (2007). The iron regulatory peptide hepcidin is expressed in the heart and regulated by hypoxia and inflammation. *Endocrinology*, 148 (6), 2663–2668.
10. Gualano, B., Pinto, A.L., Perondi, M.B., Roschel, H., Sallum, A.M., Hayashi, A.P., Solis, M.Y., and Silva, C.A. (2011). Therapeutic effects of exercise training in patients with pediatric rheumatic diseases. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 51 (5), 484-496.
11. Kruk, J. (2009). Physical activity and health. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 10 (5), 721-728.

12. Perez, A.B. (2008). Exercise as the cornerstone of cardiovascular prevention. *Revista Española de Cardiología*, 61 (5), 514-528.
13. Williams, M.A., Haskell, W.L., Ades, P.A., Amsterdam, E.A., Bittner, V., Franklin, B.A., Gulanick, M., Laing, S.T., and Stewart, K.J. (2007). Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: 2007 update: A scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*, 116 (5), 572-584.
14. Warburton, D.E., Nicol, C.W., and Bredin, S.S. (2006). Health benefits of physical activity: the evidence. *Canadian Medical Association Journal*, 174 (6), 801-809.
15. Wise, F.M. (2010). Coronary heart disease—the benefits of exercise. *Australian Family Physician*, 39 (3), 129-133.
16. Perrino, C., Gargiulo, G., Pironti, G., Franzone, A., Scudiero, L., De Laurentis, M., Magliulo, F., Ilardi, F., Carotenuto, G., Schiattarella, G.G., and Esposito, G. (2011). Cardiovascular effects of treadmill exercise in physiological and pathological preclinical settings. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 300 (6), H1983-H1989.
17. Weiner, R.B., and Baggish, A.L. (2012). Exercise-induced cardiac remodeling. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 54 (5), 380–386.
18. Braith, R.W., and Beck, D.T. (2008). Resistance exercise: training adaptations and developing a safe exercise prescription. *Heart Failure Reviews*, 13 (1), 69-79.
19. George, K., Whyte, G.P., Green, D.J., Oxborough, D., Shave, R.E., Gaze, D., and Somauroo, J. (2012). The endurance athletes heart: acute stress and chronic adaptation. *British Journal of Sports Medicine*, 46 (Suppl 1), i29–i36.
20. Green, D.J., Naylor, L.H., and George, K. (2006). Cardiac and vascular adaptations to exercise. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 9 (6), 677–684.
21. Bucioli, S.A., de Abreu, L.C., Valenti, V.E., Leone, C., and Vannucchi, H. (2011). Effects of vitamin E supplementation on renal non-enzymatic antioxidants in young rats submitted to exhaustive exercise stress. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11:133.
22. Huang, S.C., Lee, F.T., Kuo, T.Y., Yang, J.H., and Chien, C.T. (2009). Attenuation of long-term *Rhodiola rosea* supplementation on exhaustive swimming evoked oxidative stress in the rat. *Chinese Journal of Physiology*, 52 (5), 316-324.
23. Lin, W.T., Yang, S.C., Tsai, S.C., Huang, C.C., and Lee, N.Y. (2006). L-Arginine attenuates xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in hearts of rats during exhaustive exercise. *British Journal of Nutrition*, 95 (1), 67-75.
24. Aslani, A., Babae Bigi, M.A., Moaref, A.R., and Aslani, A. (2009). Effect of extreme exercise on myocardial function as assessed by tissue doppler imaging. *Echocardiography*, 26 (9), 1036-1040.

25. Whyte, G. (2008). Clinical significance of cardiac damage and changes in function after exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 40 (8), 1416-1423.
26. Brenner, I.K., Natale, V.M., Vasiliou, P., Moldoveanu, A.I., Shek, P.N., and Shephard, R.J. (1999). Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 80 (5), 452-460.
27. Rosa, J.S., Heydari, S., Oliver, S.R., Flores, R.L., Pontello, A.M., Ibardolaza, M., and Galassetti, P.R. (2011). Inflammatory cytokine profiles during exercise in obese, diabetic, and healthy children. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, 3 (3), 115-121.
28. Gruys, E., Toussaint, M.J., Niewold, T.A., and Koopmans, S.J. (2005). Acute phase reaction and acute phase proteins. *Journal of Zhejiang University Science*, 6 (11), 1045-1056.
29. Fallon, K.E. (2001). The acute phase response and exercise: The ultramarathon as prototype exercise. *Clinical Journal of Sport Medicine*, 11 (1), 38-43.
30. Moshage, H. (1997). Cytokines and the hepatic acute phase response. *The Journal of Pathology*, 181 (3), 257-266.
31. Krause, A., Neitz, S., Mägert, H.J., Schulz, A., Forssmann, W.G., Schulz-Knappe, P., and Adermann, K. (2000). LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *Federation of European Biochemical Societies*, 480 (2-3), 147-50.
32. Park, C.H., Valore, E.V., Waring, A.J., and Ganz, T. (2001). Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *The Journal of Biological Chemistry*, 276 (11), 7806-7810.
33. Pigeon, C., Ilyin, G., Courselaud, B., Leroyer, P., Turlin, B., Brissot, P., and Loréal, O. (2001). A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *The Journal of Biological Chemistry*, 276 (11), 7811-7819.
34. Peslova, G., Petrak, J., Kuzelova, K., Hrdy, I., Halada, P., Kuchel, P.W., Soe-Lin, S., Ponka, P., Sutak, R., Becker, E., Huang, M.L., Suryo Rahmanto, Y., Richardson, D.R., and Vyoral, D. (2009). Hepcidin, the hormone of iron metabolism, is bound specifically to alpha-2-macroglobulin in blood. *Blood*, 113 (24), 6225-6236.
35. Nicolas, G., Bennoun, M., Porteu, A., Mativet, S., Beaumont, C., Grandchamp, B., Siritto, M., Sawadogo, M., Kahn, A., and Vaulont, S. (2002). Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99 (7), 4596-4601.
36. Nicolas, G., Bennoun, M., Devaux, I., Beaumont, C., Grandchamp, B., Kahn, A., and Vaulont, S. (2001). Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98 (15), 8780-8785.

37. Kulaksiz, H., Theilig, F., Bachmann, S., Gehrke, S.G., Rost, D., Janetzko, A., Cetin, Y., and Stremmel, W. (2005). The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. *The Journal of Endocrinology*, 184 (2), 361-370.
38. Kulaksiz, H., Fein, E., Redecker, P., Stremmel, W., Adler, G., and Cetin, Y. (2008). Pancreatic b-cells express hepcidin, an iron-uptake regulatory peptide. *The Journal of Endocrinology*, 197 (2), 241-249.
39. Collins, J.F., Wessling-Resnick, M., and Knutson, M.D. (2008). Hepcidin regulation of iron transport. *The Journal of Nutrition*, 138 (11), 2284-2288.
40. Atanasiu, V., Manolescu, B., and Stoian, I. (2007). Hepcidin – central regulator of iron metabolism. *European Journal of Haematology*, 78 (1), 1-10.
41. Tandara, L., and Salamunic, I. (2012). Iron metabolism: current facts and future directions. *Biochemia Medica*, 22 (3), 311-328.
42. Muñoz, M., García-Erce, J.A., and Remacha, A.F. (2011). Disorders of iron metabolism. Part 1: molecular basis of iron homeostasis. *Journal of Clinical Pathology*, 64 (4), 281-286.
43. Camaschella, C., and Silvestri, L. (2011). Molecular mechanisms regulating hepcidin revealed by hepcidin disorders. *The Scientific World Journal*, 7 (11), 1357-1366.
44. Olsson, K.S., and Norrby, A. (2008). Hepcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica*, 93 (1), 90-97.
45. Anderson, G.J., Frazer, D.M., and McLaren, G.D. (2009). Iron absorption and metabolism. *Current Opinion in Gastroenterology*, 25 (2), 129-135.
46. Darshan, D., and Anderson, G.J. (2009). Interacting signals in the control of hepcidin expression. *Biomaterials: An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry and Medicine*, 22 (1), 77-87.
47. Piperno, A., Mariani, R., Trombini, P., and Girelli, D. (2009). Hepcidin modulation in human diseases: From research to clinic. *World Journal of Gastroenterology*, 15 (5), 538-551.
48. Fleming, M.D. (2008). The regulation of hepcidin and its effects on systemic and cellular iron metabolism. *American Society of Hematology*, 2008 (1), 151-158.
49. Peeling, P. (2010). Exercise as a mediator of hepcidin activity in athletes. *European Journal of Applied Physiology*, 110 (5), 877-883.
50. Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E.T., Swinkels, D.W., and Trinder, D. (2009). Cumulative effects of consecutive running sessions on hemolysis, inflammation and hepcidin activity. *European Journal of Applied Physiology*, 106 (1), 51-59.

51. Robson-Ansley, P., Walshe, I., and Ward, D. (2011). The effect of carbohydrate ingestion on plasma interleukin-6, hepcidin and iron concentrations following prolonged exercise. *Cytokine*, 53 (2), 196-200.
52. Roecker, L., Meier-Buttermilch, R., Brechtel, L., Nemeth, E., and Ganz, T. (2005). Iron-regulatory protein hepcidin is increased in female athletes after a marathon. *European Journal of Applied Physiology*, 95 (5-6), 569-571.
53. Sim, M., Dawson, B., Landers, G., Wiegerinck, E.T., Swinkels, D.W., Townsend, M.A., Trinder, D., and Peeling, P. (2012). The effects of carbohydrate ingestion during endurance running on post-exercise inflammation and hepcidin levels. *European Journal of Applied Physiology*, 112 (5), 1889-1898.
54. Troadec, M.B., Lainé, F., Daniel, V., Rochcongar, P., Ropert, M., Cabillic, F., Perrin, M., Morcet, J., Loréal, O., Olbina, G., Westerman, M., Nemeth, E., Ganz, T., and Brissot, P. (2009). Daily regulation of serum and urinary hepcidin is not influenced by submaximal cycling exercise in humans with normal iron metabolism. *European Journal of Applied Physiology*, 106 (3), 435-443.
55. Banzet, S., Sanchez, H., Chapot, R., Bigard, X., Vaulont, S., and Koulmann, N. (2012). Interleukin-6 contributes to hepcidin mRNA increase in response to exercise. *Cytokine*, 58 (2), 158-161.
56. Smith, L.L., Anwar, A., Fragen, M., Rananto, C., Johnson, R., and Holbert, D. (2000). Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 82 (1-2), 61-67.
57. Nieman, D.C., Henson, D.A., Smith, L.L., Utter, A.C., Vinci, D.M., Davis, J.M., Kaminsky, D.E., and Shute, M. (2001). Cytokine changes after a marathon race. *Journal of Applied Physiology*, 91 (1), 109-114.
58. Steinacker, J.M., Lormes, W., Reissnecker, S., and Liu, Y. (2004). New aspects of the hormone and cytokine response to training. *European Journal of Applied Physiology*, 91 (4), 382-391.
59. Margeli, A., Skenderi, K., Tsironi, M., Hantzi, E., Matalas, A.L., Vrettou, C., Kanavakis, E., Chrousos, G., and Papassotiriou, I. (2005). Dramatic elevations of interleukin-6 and acute-phase reactants in athletes participating in the ultradistance foot race spartathlon: severe systemic inflammation and lipid and lipoprotein changes in protracted exercise. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90 (7), 3914-3918.
60. Deveden, E.T., Pınar, L., Göktaş, E. Aral, A.L., Özer, Ç., and Erdoğan, D. (2013). After an exhaustive exercise the most prominent muscle damage occurs a day later. *Turkish Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 59, 229-235.
61. Pedersen, B.K., Steensberg, A., Keller, P., Keller, C., Fischer, C., Hiscock, N., van Hall, G., Plomgaard, P., and Febbraio, M.A. (2003). Muscle-derived interleukin-6: lipolytic, anti-inflammatory and immune regulatory effects. *European Journal of Applied Physiology*, 446 (1), 9-16.

62. Tanaka, T., and Kishimoto, T. (2012). Targeting interleukin-6: all the way to treat autoimmune and inflammatory diseases. *International Journal of Biological Sciences*, 8 (9), 1227-1236.
63. Febbraio, M.A., Ott, P., Nielsen, H.B., Steensberg, A., Keller, C., Krstrup, P., Secher, N.H., and Pedersen, B.K. (2003). Hepatosplanchnic clearance of interleukin-6 in humans during exercise. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 285 (2), E397-E402.
64. Xing, Z., Gauldie, J., Cox, G., Baumann, H., Jordana, M., Lei, X.F., and Achong, M.K. (1998). IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *The Journal of Clinical Investigation*, 101 (2), 311-320.
65. Jonsdottir, I.H., Schjerling, P., Ostrowski, K., Asp, S., Richter, E.A., and Pedersen, B.K. (2000). Muscle contractions induce interleukin 6 mRNA production in rat skeletal muscles. *The Journal of Physiology*, 528 (1), 157-163.
66. Ostrowski, K., Schjerling, P., and Pedersen, B.K. (2000). Physical activity and plasma interleukin-6 in humans-effect of intensity of exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 83 (6), 512-515.
67. Steensberg, A., Febbraio, M.A., Osada, T., Schjerling, P., van Hall, G., Saltin, B., and Pedersen, B.K. (2001). Interleukin-6 production in contracting human skeletal muscle is influenced by pre-exercise muscle glycogen content. *The Journal of Physiology*, 537 (2), 633-639.
68. Banzet, S., Koulmann, N., Simler, N., Birot, O., Sanchez, H., Chapot, R., Peinnequin, A., and Bigard, X. (2005). Fibre-type specificity of interleukin-6 gene transcription during muscle contraction in rat: association with calcineurin activity. *The Journal of Physiology*, 566 (3), 839-847.
69. Hiscock, N., Chan, M.H., Bisucci, T., Darby, I.A., and Febbraio, M.A. (2004). Skeletal myocytes are a source of interleukin-6 mRNA expression and protein release during contraction: evidence of fiber type specificity. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 18 (9), 992-994.
70. Febbraio, M.A., and Pedersen, B.K. (2002). Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 16 (11), 1335-1347.
71. Banzet, S., Koulmann, N., Sanchez, H., Serrurier, B., Peinnequin, A., Alonso, A., and Bigard, X. (2007). Contraction-induced interleukin-6 transcription in rat slow-type muscle is partly dependent on calcineurin activation. *Journal of Cellular Physiology*, 210 (3), 596-601.
72. Fischer, C.P. (2006). Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exercise Immunology Review*, 2006-12, 6-33.
73. Wallberg, L., Mikael Mattsson, C., Enqvist, J.K., and Ekblom, B. (2011). Plasma IL-6 concentration during ultra-endurance exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 111 (6), 1081-1088.

74. Reihmane, D., Jurka, A., Tretjakovs, P., and Dela, F. (2013). Increase in IL-6, TNF- α , and MMP-9, but not sICAM-1, concentrations depends on exercise duration. *European Journal of Applied Physiology*, 113 (4), 851-858.
75. Rosa Neto, J.C., Lira, F.S., Oyama, L.M., Zanchi, N.E., Yamashita, A.S., Batista, M.L. Jr, Oller do Nascimento, C.M., 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), 697-704.
76. Spier, S.A., Delp, M.D., Meininger, C.J., Donato, A.J., Ramsey, M.W., Muller-Delp, J.M. (2004). Effects of aging and exercise training on endothelium-dependent vasodilatation and structure of rat skeletal muscle arterioles. *The Journal of Physiology*, 556 (Pt 3), 947-958.
77. Şentürk, Ü.K., Gündüz, F., Kuru, O., Aktekin, M.R., Kipmen, D., Yalçın, Ö. Bor-Küçükataş, M., Yeşilkaya, A. and Başkurt, O.K. (2001). Exercise-induced oxidative stress affects erythrocytes in sedentary rats but not exercise-trained rats. *Journal of Applied Physiology*, 91 (5), 1999-2004.
78. Dursun, A.D., Fişicilar, H., Baştuğ, M. and Tekin, D. (2013). Effect of short term training on caveolin and VEGF expressions in skeletal muscle. *Hacettepe Journal of Sport Sciences*, 24 (1), 11-24.
79. Ding, H., Yan, C.Z., Shi, H., Zhao, Y.S., Chang, S.Y., Yu, P., Wu, W.S., Zhao, C.Y., Chang, Y.Z., and Duan, X.L. (2011). Hepcidin is involved in iron regulation in the ischemic brain. *Plos one Open Access Journal*, 6 (9), e25324.
80. Scherr, J., Braun, S., Schuster, T., Hartmann, C., Moehlenkamp, S., Wolfarth, B., Pressler, A. And Halle, M. (2011). 72-h kinetics of high sensitive troponin T and inflammatory markers after marathon. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 43 (10), 1819-1827.
81. Scharhag, J., George, K., Shave, R., Urhausen, A. and Kindermann, W. (2008). Exercise-associated increases in cardiac biomarkers. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 40 (8), 1408–1415.
82. Chen, Y., Serfass, R.C., Mackey-Bojack, S.M., Kelly, K.L., Titus, J.L. and Apple, F.S. (2000). Cardiac troponin T alterations in myocardium and serum of rats after stressful, prolonged intense exercise. *Journal of Applied Physiology*, 88 (5), 1749–1755.
83. Kumar, A., Thota, V., Dee, L., Olson, J., Uretz, E. and Parrillo, J.E. (1996). Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta are responsible for in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum. *The Journal of Experimental Medicine*, 183 (3), 949-958.
84. Hessel, M.H., Atsma, D.E., van der Valk, E.J., Bax, W.H., Schalij, M.J., and van der Laarse, A. (2008). Release of cardiac troponin I from viable cardiomyocytes is mediated by integrin stimulation. *European Journal of Physiology*, 455 (6), 979-986.

85. Breuckmann, F., Möhlenkamp, S., Nassenstein, K., Lehmann, N., Ladd, S., Schmermund, A., Sievers, B., Schlosser, T., Jöckel, K.H., Heusch, G., Erbel, R., and Barkhausen, J. (2009). Myocardial late gadolinium enhancement: prevalence, pattern, and prognostic relevance in marathon runners. *Radiology*, 251 (1), 50-57.
86. Collinson, P.O., Hadcocks, L., Foo, Y., Rosalki, S.B., Stubbs, P.J., Morgan, S.H., and O'Donnell, J. (1998). Cardiac troponins in patients with renal dysfunction. *Annals of Clinical Biochemistry*, 35 (Pt3), 380-386.
87. Nie, J., Close, G., George, K.P., Tong, T.K., and Shi, Q. (2010). Temporal association of elevations in serum cardiac troponin T and myocardial oxidative stress after prolonged exercise in rats. *European Journal of Applied Physiology*, 110 (6), 1299-1303.
88. Eijssvogels, T., George, K., Shave, R., Gaze, D., Levine, B.D., Hopman, M.T., and Thijssen, D.H. (2010). Effect of prolonged walking on cardiac troponin levels. *The American Journal of Cardiology*, 105 (2), 267-272.
89. McKay, B.R., De Lisio, M., Johnston, A.P., O'Reilly, C.E., Phillips, S.M., Tarnopolsky, M.A. and Parise, G. (2009). Association of interleukin-6 signalling with the muscle stem cell response following muscle-lengthening contractions in humans. *Plos one Open Access Journal*, 4(6).
90. Edwards, K.M., Burns, V.E., Ring, C., and Carroll, D. (2006). Individual differences in the interleukin-6 response to maximal and submaximal exercise tasks. *Journal of Sports Sciences*, 24 (8), 855-862.
91. Ostrowski, K., Hermann, C., Bangash, A., Schjerling, P., Nielsen, J.N., and Pedersen, B.K. (1998). A trauma-like elevation of plasma cytokines in humans in response to treadmill running. *The Journal of Physiology*, 513 (3), 889-894.
92. Gusba, J.E., Wilson, R.J., Robinson, D.L., and Graham, T.E. (2008). Interleukin-6 and its mRNA responses in exercise and recovery: relationship to muscle glycogen. *Scandinavian Journal of Medicine Science in Sports*, 18 (1), 77-85.
93. Brandt, C., and Pedersen, B.K. (2010) The role of exercise-induced myokines in muscle homeostasis and the defense against chronic diseases. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 520528.
94. Nieman, D.C., Davis, J.M., Henson, D.A., Walberg-Rankin, J., Shute, M., Dumke, C.L., Utter, A.C., Vinci, D.M., Carson, J.A., Brown, A., Lee, W.J., McAnulty, S.R., and McAnulty, L.S. (2003). Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokine levels after a 3-h run. *Journal of Applied Physiology*, 94 (5), 1917-1925.
95. Suzuki, K., Nakaji, S., Yamada, M., Liu, Q., Kurakake, S., Okamura, N., Kumae, T., Umeda, T., and Sugawara, K. (2003). Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35 (2), 348-355.

96. Noe'l, M., Jobin, J., Marcoux, A., Poirier, P., Dagenais, G.R. and Bogaty, P. (2007). Can prolonged exercise-induced myocardial ischaemia be innocuous? *European Heart Journal*, 28 (13), 1559–1565.
97. Futterman, L.G., and Lemberg, L. (2006). Regular physical exercise reduces cardiovascular risks. *American Journal of Critical Care*, 15 (1), 99-102.
98. Karl, J.P., Lieberman, H.R., Cable, S.J., Williams, K.W., Young, A.J. and McClung, J. P. (2010). Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of an iron-fortified food product in female soldiers during military training: relations between iron status, serum hepcidin, and inflammation. *American Journal of Clinical Nutrition*, 92 (1), 93-100.
99. Kasapis, C., and Thomson, P.D. The effects of physical activity on serum C reactive protein and inflammatory markers. (2005). *Journal of the American College of Cardiology*, 45 (10), 1563-1569.
100. Gokhale, R., Chandrashekara, S., and Vasanthakumar, K.C. (2007). Cytokine response to strenuous exercise in athletes and non-athletes an adaptive response. *Cytokine*, 40 (2), 123-127.
101. Yfanti, C., Fischer, C.P., Nielsen, S., Akerström, T., Nielsen, A.R., Veskoukis, A.S., Kouretas, D., Lykkesfeldt, J., Pilegaard, H., and Pedersen, B.K. (2012). Role of vitamin C and E supplementation on IL-6 in response to training. *Journal of Applied Physiology*, 112 (6), 990-1000.
102. Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E.T., Swinkels, D.W., and Trinder, D. (2009). Effects of exercise on hepcidin response and iron metabolism during recovery. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 19 (6), 583-597.
103. Liu, Y.Q., Chang, Y.Z., Zhao, B., Wang, H.T., and Duan, X.L. (2011). Does hepatic hepcidin play an important role in exercise-associated anemia in rats? *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 21 (1),19-26.
104. Auersperger, I., Knap, B., Jerin, A., Blagus, R., Lainscak, M., Skitek, M., and Skof, B. (2012). The effects of 8 weeks of endurance running on hepcidin concentrations, inflammatory parameters, and iron status in female runners. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 22 (1), 55-63.
105. Antosiewicz, J., Kaczor, J.J., Kasprowicz, K., Laskowski, R., Kujach, S., Luszczuk, M., Radziminski, L., and Ziemann, E. (2013). Repeated “all out” interval exercise causes an increase in serum hepcidin concentration in both trained and untrained men. *Cellular Immunology*, 283 (1-2), 12-17.
106. Peeling, P., Sim, M., Badenhorst, C.E., Dawson, B., Govus, A.D., Abbiss, C.R., Swinkels, D.W., and Trinder, D. (2014). Iron status and the acute post-exercise hepcidin response in athletes. *Plos one Open Access Journal*, 9 (3), e93002.

107. Isoda, M., Hanawa, H., Watanabe, R., Yoshida, T., Toba, K., Yoshida, K., Kojima, M., Otaki, K., Hao, K., Ding, L., Tanaka, K., Takayama, T., Kato, K., Okura, Y., Kodama, M., Ota, Y., Hayashi, J., and Aizawa, Y. (2010). Expression of the peptide hormone hepcidin increases in cardiomyocytes under myocarditis and myocardial infarction. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 21 (8), 749-756.
108. Nemeth, E., Valore, E.V., Territo, M., Schiller, G., Lichtenstein, A. and Ganz, T. (2003). Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, 101 (7), 2461–2463.
109. Nemeth, E., Rivera, S., Gabayan, V., Keller, C., Taudorf, S., Pedersen, B.K. and Ganz, T. (2004). IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *Journal of Clinical Investigation*, 113 (9), 1271–1276.
110. Baron, C.P. and Andersen, H.J. (2002). Myoglobin-induced lipid oxidation. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (14), 3887–3897.
111. Turoczi, T., Jun, L., Cordis, G., Morris, J.E., Maulik, N., Stevens, R.G. and Das, D.K. (2003). HFE mutation and dietary iron content interact to increase ischemia/reperfusion injury of the heart in mice. *Circulation Research*, 92 (11), 1240–1246.
112. Loncar, R., Flesche, C.W. and Deussen, A. (2004). Myocardial ferritin content is closely regulated to the degree of ischemia. *Acta Physiologica Scandinavica*, 180 (1), 21–28.
113. Simonis, G., Mueller, K., Schwarz, P., Wiedemann, S., Adler, G., Strasser, R.H., and Kulaksiz, H. (2010). The iron-regulatory peptide hepcidin is upregulated in the ischemic and in the remote myocardium after myocardial infarction. *Peptides*, 31 (9), 1786-1790.
114. Silverberg, D.S., Wexler, D., Blum, M., Keren, G., Sheps, D., Leibovitch, E., Brosh, D., Laniado, S., Schwartz, D., Yachnin, T., Shapira, I., Gavish, D., Baruch, R., Koifman, B., Kaplan, C., Steinbruch, S. And Iaina, A. (2000). The use of subcutaneous erythropoietin and intravenous iron for the treatment of the anemia of severe, resistant congestive heart failure improves cardiac and renal function and functional cardiac class, and markedly reduces hospitalizations. *Journal of the American College of Cardiology*, 35 (7), 1737–1744.
115. Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E.T., Swinkels, D.W., and Trinder, D. (2009). Training surface and intensity: inflammation, hemolysis, and hepcidin expression. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 41 (5), 1138-1145.
116. Newlin, M.K., Williams, S., McNamara, T., Tjalsma, H., Swinkels, D.W., and Haymes, E.M. (2012). The effects of acute exercise bouts on hepcidin in women. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 22 (2), 79-88.

117. Jia, Y., Zhou, F., Deng, P., Fan, Q., Li C., Liu, Y., Fu, X., Zhou, Y., Xu, X. and Sun, X. (2012) Interleukin 6 protects H₂O₂-induced cardiomyocytes injury through upregulation of prohibitin via STAT3 phosphorylation. *Cell Biochemistry and Function*, 30 (5), 426–431.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : SARIKAYA, Badegül
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 10.05.1987, Şarkışla
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (506) 470 95 17
 e-mail : gulbade.akpinar@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Fizyoloji A.D.	Devam Ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2009
Lise	Cumhuriyet Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2009-2010	Milenyum Grup LTD. ŞTİ	Satış Personeli
2010-Halen	Kırıkkale Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayımlar

-

Hobiler

Kitap okuma, tiyatroya gitme



GAZİ GELECEKTİR..