

**ÖSTROJENİN EGZERSİZE BAĞLI KAS
HASARINA KARŞI KORUYUCU OLUP
OLMADIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Serpil CAN

Fizyoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Mustafa GÜL

Doktora Tezi - 2010

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

ÖSTROJENİN EGZERSİZE BAĞLI KAS HASARINA KARŞI KORUYUCU
OLUP OLMADIĞININ ARAŞTIRILMASI

Serpil Can

Tez Savunma Tarihi:

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa GÜL

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Cahit BAĞCI

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Elvan ÖZBEK

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Sedat AKAR

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Kenan GÜMÜŞTEKİN

Prof. Dr. İsmail Ceylan
Sağlık Bilimler Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR.....	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	V
TABLOLAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
ÖZGEÇMİŞ	IX
ÖZET	X
ABSTRACT	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kaslar	4
2.1.1. İskelet Kası.....	4
2.1.1.1. İskelet Kasında Kasılmanın Genel Mekanizması.....	7
2.1.1.2. İskelet Kas Lifi Çeşitleri	8
2.1.2. Kalp Kası.....	10
2.2 Egzersiz	12
2.2.1. Egzersizde Enerji Metabolizması.....	13
2.2.2. Egzersiz Çeşitleri	15
2.2.3. Egzersizde Kas Hasarı.....	18
2.2.4. Kas Hasarında Enzim Aktivitesi	20
2.2.5. Egzersizde Kalp Kası Hasarı.....	22
2.2.6. Eksantrik Egzersiz ve Zararları	23
2.2.7. Egzersizde Oluşan Hasarın Önlenmesi	27
2.3. İnflamasyon.....	28
2.3.2. Nötrofil (Lökosit) İnfiltrasyonunun Kas Hasarı İle İlişkisi.....	29
2.4. Serbest Radikaller	31
2.4.1. Serbest Radikallerin Oluşum Yolları	31
2.4.2. Serbest Radikallerin Kaynakları	31
2.4.3. Serbest Radikal Hasarı Riski Altındaki Hücresel Komponentler	33
2.4.4. Serbest Oksijen Radikalleri.....	36
2.4.5. Serbest Radikaller ve İnflamatuvar Cevap.....	38
2.5. Oksidatif Stres	39

2.6. Antioksidan Savunma Sistemler	40
2.7. Enzimatik Antioksidanlar ve Egzersiz	40
2.7.1. Akut Egzersizde Oksidatif Stres	44
2.7.2. Düzenli Egzersizde Antioksidan Savunma	45
2.8. Östrojen	47
2.8.1. Östrojenin Egzersizdeki Etkileri ve Faydaları	49
3. GEREÇ VE YÖNTEM	53
3.1. Deneklerin Gruplanması	53
3.2. Östrojen Hazırlanması ve Uygulanması	56
3.3. Eksantrik Egzersiz Uygulaması	57
3.4. Anestezi	58
3.5. Biyokimyasal İşlemler	59
3.5.1. Doku Homojenizasyon İşlemi	60
3.5.2. Serum Kreatin Kinaz Ölçümü	62
3.5.3. Malondialdehit (MDA) Ölçümü	62
3.5.4. Glutasyon S-Transferaz (GST) Ölçümü	64
3.5.5. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Ölçümü	66
3.5.6. Cu, Zn Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçümü	68
3.5.7. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Ölçümü	70
3.6. Histolojik İşlemler	72
3.6.1. Işık Mikroskopik Takip İşlemi	72
3.6.2. Hematoksilen-Eozin (H-E) Boyama İşlemleri	73
3.7. İstatistik	74
4. BULGULAR	75
4.1. Soleus Kası Histopatolojik Bulgular	75
4.1.1. Kontrol (K) Grubuna Ait Bulgular	75
4.1.2. Östrojen Verilen ve Egzersiz Yaptırılmayan Gruba Ait Bulgular	76
4.1.3. Östrojen Verilmeyen ve Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Gruba Ait Bulgular ..	77
4.1.4. Östrojen Verilen ve Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Gruba Ait Bulgular	78
4.1.5. Östrojen Verilmeyen ve Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Gruba Ait Bulgular ..	79
4.1.6. Östrojen Verilen ve Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Gruba Ait Bulgular	80
4.2. Soleus Kası Lökosit İnfiltrasyonu	81

4.3. Biyokimya Bulguları.....	82
4.3.1. Soleus Kas Dokusu Glutasyon S-Transferaz (GST) Ölçüm Sonucu.....	84
4.3.2. Soleus Kas Dokusu Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Ölçüm Sonucu.....	84
4.3.3. Soleus Kas Dokusu Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçüm Sonucu.....	86
4.3.4. Soleus Kas Dokusu Katalaz (CAT) Ölçüm Sonucu.....	87
4.3.5. Kalp Kas Dokusu Malondialdehit (MDA) Ölçüm Sonucu.....	89
4.3.6. Kalp Kas Dokusu Glutasyon S-Transferaz (GST) Ölçüm Sonucu.....	90
4.3.7. Kalp Kas Dokusu Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Ölçüm Sonucu.....	91
4.3.8. Kalp Kas Dokusu Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçüm Sonucu.....	92
4.3.9. Kalp Kas Dokusu Katalaz (CAT) Ölçüm Sonucu.....	93
4.3.10. Eritrositlerde Malondialdehit (MDA) Ölçüm Sonucu.....	95
4.3.11. Eritrositlerde Glutasyon S-Transferaz (GST) Ölçüm Sonucu.....	96
4.3.12. Eritrositlerde Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçüm Sonucu.....	97
4.3.13. Serum Kreatin Kinaz Ölçüm Sonucu.....	98
4.3.14. Hemoglobin Ölçüm Sonucu.....	99
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	100
5.1. Soleus Kası Histopatolojik Bulgularının Tartışılması.....	100
5.2. Soleus Kası Biyokimyasal Sonuçların Tartışılması	103
5.3. Kalp Kası MDA Düzeyi ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri Sonuçlarının Tartışılması	104
5.4. Serum Kreatin Kinaz Aktivitesi Değişiklikleri	106
5.5. Eritrosit MDA Düzeyi ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri Sonuçlarının Tartışılması ..	107
6. KAYNAKLAR	111

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince gerek ders ve gerekse tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesi aşamalarında beni teşvik eden, tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Mustafa GÜL'e, Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sedat AKAR'a, hocalarım Prof. Dr. Şenol DANE'ye ve Doç. Dr. Kenan GÜMÜŞTEKİN'e, Yüksek Lisans tez danışmanım olan ve beni her zaman teşvik eden hocam Prof. Dr. Cahit BAĞCI'ya teşekkür ederim.

Ayrıca, doktora çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Abdulkadir YILDIRIM ve Arş. Gör. Akar KARAKOÇ'a, Fizyoloji Anabilim Dalı Uzmanı Dr. Serap YILDIRIM'a, Yüksek Lisans Öğrencisi Gülsüm BACAK'a, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Bünyami ÜNAL'a ve Uzman Dr. Deniz ÜNAL'a, Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ali KARADENİZ'e ve Erzurum Sağlık Yüksek Okulu Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Fatma ÖZABACIĞİL GÜR'e teşekkürü bir borç bilirim. Doktoram süresince yardım ve desteklerini gördüğüm Fizyoloji Anabilim Dalı personeline de ayrıca teşekkür ederim.

Hayvan deneylerini gerçekleştirebilmem için her türlü imkânı sunan Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinin idareci ve personeline teşekkür ederim.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. İsmail CEYLAN ve Müdür Yardımcısı Doç. Dr. Yusuf Ziya BAYINDIR başta olmak üzere tüm enstitü personeline teşekkür ederim. Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine tez çalışmamıza (2005/192 ATA) desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tezimin tüm aşamalarında bana büyük yardımları olan eşim İsmail CAN'a, iyi ve kötü günümde yanımda bulunan, maddi ve manevi her türlü desteklerini her zaman yanımda hissettiğim annem Selma ve babam Bünyamin ERTAŞ'a teşekkürü bir borç bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma	Açılımı
ADP	adenozin difosfat
AMP	adenozin monofosfat
AST	aspartat aminotransferaz
ATP	adenozin trifosfat
A-V	atriyoventriküler düğüm
BSA	bovin serum albumin
CAT	Katalaz
CCl ₄	karbon tetraklorür
CDNB	klorodinitrobenzen
CK	kreatin kinaz
CuZnSOD	bakır ve çinko içeren süperoksit dismutaz
EKG	ekokardiografi
FeSOD	demir içeren süperoksit dismutaz
FT	tip II (hızlı glikolitik, fast-twitch) lifler
GR	glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GSH-Px	glutasyon peroksidaz
GSSG	glutasyon disülfid
GST	glutasyon-S-transferaz
LDH	laktat dehidrogenaz
MDA	malondialdehit
MnSOD	manganez içeren süperoksit dismutaz
MR	manyetik rezonans
NBT	nitroblue tetrazolium
NO	nitrik oksit
PNN	polimorf nüveli nötrofil
R	karbon merkezli radikaller
RO	alkoksil radikalleri
ROO	peroksil radikalleri
ROS	reaktif oksijen metabolitleri
ROT	reaktif oksijen türevleri
RS	tiyol radikalleri
S-A	sinoatriyal düğümünden
SOD	süperoksit dismutaz
SOR	serbest oksijen radikalleri
ST	tip I (yavaş oksidatif, slow-twitch) lifler
Tn-C	troponin-C
Tn-I	troponin I
Tn-T	troponin T

TABLOLAR DİZİNİ

Konum	Tablo No	Sayfa
Genel Bilgiler	Tablo 2.1 Kas lif çeşitleri ve özellikleri.	9
Gereç ve Yöntem	Tablo 3.1 Deneklerin Gruplandırma Şeması	56
Gereç ve Yöntem	Tablo 3.2 MDA ölçüm prosedürü 1	63
Gereç ve Yöntem	Tablo 3.3 MDA ölçüm prosedürü 2	64
Gereç ve Yöntem	Tablo 3.4 GST ölçüm prosedürü (platede)	66
Gereç ve Yöntem	Tablo 3.5 GSH-Px ölçüm prosedürü (platede)	67
Gereç ve Yöntem	Tablo 3.6 SOD ölçüm prosedürü	69
Bulgular	Tablo 4.1 Sıçanların soleus kasındaki lökosit infiltrasyonu (alandaki ortalama lökosit sayıları). Sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak verildi. Gruplar Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı, $p < 0.05$ ise anlamlılık düzeyi kabul edildi.	81
Bulgular	Tablo 4.2 Soleus kası glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) ile katalaz (CAT) aktiviteleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak verildi. Gruplar Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı, $p < 0.05$ ise anlamlılık düzeyi kabul edildi.	83
Bulgular	Tablo 4.3 Kalp kası malondialdehit (MDA) düzeyi ile glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak verildi. Gruplar Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı, $p < 0.05$ ise anlamlılık düzeyi kabul edildi.	88
Bulgular	Tablo 4.4 Eritrosit malondialdehit (MDA) düzeyi ve süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon S-transferaz (GST) aktiviteleri ile serum kreatin kinaz (CK) aktivitesi ve hemoglobin (Hb) düzeyleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak verildi. Gruplar Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı, $p < 0.05$ ise anlamlılık düzeyi kabul edildi.	94

ŞEKİLLER DİZİNİ

Konum	Şekil No	Sayfa
Genel Bilgiler	Şekil 2.1 Kas demeti genel yapısı şematik çizimi	5
Genel Bilgiler	Şekil 2.2 İzotonik kasılma şematik çizim	16
Genel Bilgiler	Şekil 2.3 İzometrik kasılma şematik çizim	17
Genel Bilgiler	Şekil 2.4 Eksantrik kasılma şematik çizim	18
Genel Bilgiler	Şekil 2.5 Organizmada multifaktöriyel oksidatif hücre harabiyeti ve sonuçları	35
Genel Bilgiler	Şekil 2.6 Biyolojik sistemlerde reaktif oksijen metabolitlerinin açığa çıkışı ve ilgili antioksidan mekanizmalar	38
Genel Bilgiler	Şekil 2.7 Egzersiz veya iskemi-reperfüzyon hasarından sonraki ilk 1-2 saatte iskelet kası nötrofil infiltrasyonunun östrojen tarafından yavaşlatılması ile ilgili önerilen mekanizma	52
Gereç ve Yöntem	Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan deneklerin etiketlenmesi ile ilgili şematik çizim	54
Gereç ve Yöntem	Şekil 3.2 Deneklere subkutan olarak enjeksiyon yapılırken	57
Gereç ve Yöntem	Şekil 3.3 Deneklere TREADMİLL’de eksantrik egzersiz yaptırılırken	58
Bulgular	Şekil 4.1 Kontrol (K) grubuna ait bir sıçanın soleus kas preparatları. a. Soleus kası genel görünümü (20X). b. ve c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve düzenli yerleşim gösteren miyosit çekirdekleri (40X). d. Kas lifleri arasında nadir görülen lökosit hücreler (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit, Aşağı beyaz ok: eritrosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E.	75
Bulgular	Şekil 4.2 Östrojen verilen ve egzersiz yaptırılmayan (Ö) gruba ait bir sıçanın soleus kas preparatları. a. Soleus kası genel görünümü (20X). b. ve c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve düzenli yerleşim gösteren miyosit çekirdekleri (40X). d. Kas lifleri arasında nadir görülen lökosit hücreleri (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit, Aşağı beyaz ok: eritrosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E.	76
Bulgular	Şekil 4.3 Östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen (E1) gruba ait bir sıçanın soleus kas preparatları. a. ve b. Soleus kası genel görünümü (20X). c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve miyosit çekirdekleri (40X). d. Soleus kası lifleri arasında nadir görülen lökosit hücreleri (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit, Aşağı beyaz ok: eritrosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E.	77

Bulgular	Şekil 4.4 Östrojen verilen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen (ÖE1) gruba ait bir sıçanın soleus kas preparatları. a. ve b. Soleus kası genel görünümü (20X). c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve miyosit çekirdekleri (40X). d. Soleus kası lifleri arasında nadir görülen lökosit hücreleri (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E.	78
Bulgular	Şekil 4.5 Östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen (E48) gruba ait bir sıçanın soleus kas preparatları. a. Soleus kası genel görünümü (10X). b. İnflamasyonun görünümü (20X). c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve miyosit çekirdekleri ile inflamasyonun görünümü (40X). d. Soleus kası lifleri arasında görülen lökosit hücreleri (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit, Aşağı beyaz ok: eritrosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E.	79
Bulgular	Şekil 4.6 Östrojen verilen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen (ÖE48) gruba ait bir sıçanın kas preparatları. a. Soleus kası genel görünümü (10X). b. İnflamasyonun görünümü (20X). c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve miyosit çekirdekleri ile inflamasyonun görünümü d. Soleus kası lifleri arasında görülen lökosit hücreleri (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit, Aşağı beyaz ok: eritrosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E	80
Bulgular	Şekil 4.7 Toplam alanda sayılan ortalama lökosit sayıları	82
Bulgular	Şekil 4.8 Soleus kası glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi	84
Bulgular	Şekil 4.9 Soleus kası glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi	85
Bulgular	Şekil 4.10 Soleus kası süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi	86
Bulgular	Şekil 4.11 Soleus kası katalaz (CAT) aktivitesi	87
Bulgular	Şekil 4.12 Kalp kası malondialdehit (MDA) düzeyi	89
Bulgular	Şekil 4.13 Kalp kası glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi	90
Bulgular	Şekil 4.14 Kalp kası glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi	91
Bulgular	Şekil 4.15 Kalp kası süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi	92
Bulgular	Şekil 4.16 Kalp kası katalaz (CAT) aktivitesi	93
Bulgular	Şekil 4.17 Kanda eritrosit malondialdehit (MDA) düzeyi	95
Bulgular	Şekil 4.18 Kanda eritrosit glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi	96
Bulgular	Şekil 4.19 Kanda eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi	97
Bulgular	Şekil 4.20 Serum kreatin kinaz (CK) aktivitesi	98
Bulgular	Şekil 4.21 Eritrosit hemoglobin (Hb) düzeyleri	99

ÖZGEÇMİŞ

05/07/1977 yılında Erzurum’da dünyaya geldim. İlk, orta, lise öğrenimimi Erzurum’da tamamladım. 1994 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazanarak 4 yıl sürecek olan lisans eğitimimi 1998 yılında tamamladım. Ardından 1999 yılında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım. 2002 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamladıktan sonra 2003 yılında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında doktora öğrenimime başladım.

Ayrıca, 1999’dan beri Milli Eğitim Bakanlığı personeli olarak Gaziantep ve Erzurum illerinde öğretmen olarak görev yapmaktayım.

Evli ve bir erkek, bir kız olmak üzere iki tane çocuğum var.

SERPİL CAN

ÖZET**ÖSTROJENİN EGZERSİZE BAĞLI KAS HASARINA KARŞI KORUYUCU
OLUP OLMADIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Bu çalışmamızın amacı, östrojenin iskelet kası ve kalpte eksantrik egzersize bağlı oluşan kas hasarını önleyip önleyemediğini araştırmaktır. Bu amaçla, eksantrik egzersizin serum kreatin kinaz ve eritrosit lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri de araştırıldı.

Çalışmamızda 36 adet erkek sıçan, östrojen verilenler (n=18) ve verilmeyenler (n=18) olmak üzere eşit şekilde ikiye ayrıldı, daha sonra bu gruplar da istirahat (n=6) ve eksantrik egzersiz yaptırılan gruplar (n=12) olmak üzere tekrar ikiye ayrıldı. Eksantrik egzersiz yaptırılan gruplarda kendi içinde egzersizden 1 saat sonra öldürülenler (n=6) ve 48 saat sonra öldürülenler (n=6) olmak üzere tekrar ikiye ayrıldı. Östrojen (17- β Estradiol, 10 μ g/kg.gün) 30 gün boyunca subkutan olarak verildi. Eksantrik egzersiz için sıçanlara koşu bandında -15°'lik (aşağı doğru) bir eğimle, 20 m/dk hızla 5 dk koşu ve 2 dk dinlenme periyotlarından oluşan toplam 18 defa (5x18=90 dk) koşu yaptırıldı. Soleus kası lökosit infiltrasyonu histolojik olarak incelendi. Soleus kası ve kalp kası lipid peroksidasyonu (MDA) ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri ölçüldü. Ayrıca, serum kreatin kinaz ve eritrosit MDA düzeyi ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri de spektrofotometrik yöntemlerle ölçüldü.

Bulgularımıza bakarak eksantrik egzersizin iskelet kası nötrofil infiltrasyonunu arttırdığını, yani kas hasarı yaptığını, lökosit infiltrasyonunun 48 saat sonunda 1. saate göre iki misline çıkan anlamlı artış gösterdiğini, östrojen suplementasyonunun bu artışı engelleyemediğini söyleyebiliriz.

Soleusta sadece östrojen verilmesi kontrol grubuna göre GSH-Px aktivitesini düşürmekte, eksantrik egzersizle birlikte olursa, östrojen GSH-Px aktivitesini anlamlı olarak yükseltmektedir. Bu durum, östrojenin GSH-Px enzim aktivitesi üzerine olumsuz etkisinin eksantrik egzersiz sırasında kaybolduğunu, hatta yükseltici etkiye dönüştüğünü gösterdi. Egzersiz sırasında oksijen tüketimindeki artış ve buna bağlı olarak artan reaktif oksijen radikallerini uzaklaştırmak amacıyla GSH-Px aktivitesinde oluşan artış östrojen tarafından potansiyalize edilmiş olabilir.

Kalp MDA düzeylerine bakıldığında kontrol grubu MDA düzeyinin östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen grup ve östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış olan gruptan daha yüksek olduğu görüldü. Östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış olan grubun MDA düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olması östrojenin antioksidan bir etki yaparak lipid peroksidasyonunu azalttığını gösterebilir. Bu gruplarda kalp dokusunda ölçülmüş olan antioksidan enzim düzeyleri arasında bir anlamlı bir fark bulunamadı. Östrojenin bu antioksidan etkisi onun membran stabilize edici etkisine bağlı olabilir.

Kas membran hasarının en yaygın ölçülen göstergesi kreatin kinazın dolaşıma geçmesidir. Serum CK aktivitesinin eksantrik egzersize bağlı kas hasarı sonucunda artmasını beklerdik, ancak egzersize bağlı bir artış gözlemlenemedi. Bu bize olası kas hasarının kana çok yansımadığını ya da beklenildiği kadar kas hasarı oluşmamış olabileceğini düşündürdü.

Östrojen verilip, eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen sıçanların eritrosit MDA değerleri, östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen sıçanların eritrosit MDA değerlerinden daha yüksekti. Östrojen verilmesi, yukarıda bahsedilen eksantrik egzersizden sonra geçen süre arttıkça eritrosit MDA

düzeyinde oluşan azalmaya ters bir şekilde eritrosit MDA düzeyinde artışa yol açtı. Bu durum östrojenin kanda antioksidan değil, tam tersine pro-oksidan olarak çalışmış olduğunun bir göstergesi olabilir.

Anahtar Kelimeler: eksantrik egzersiz, östrojen, kas hasarı, nötrofil, MDA, antioksidan enzimler, sıçan, kalp, soleus kası, eritrosit, kreatin kinaz.

ABSTRACT**INVESTIGATION OF WHETHER ESTROGEN CAN PREVENT
EXERCISE INDUCED MUSCLE DAMAGE**

The aim of this study was to investigate whether estrogen can prevent eccentric exercise induced muscle damage in skeletal and heart muscles. In addition, the effects of eccentric exercise on serum creatine kinase, and lipid peroxidation and some antioxidant enzyme activities of erythrocytes were also assessed.

36 male rats were divided equally as estrogen supplemented (n=18) and non supplemented groups (n=18), then these groups were further divided as rest (n=6) and groups exposed to eccentric exercise (n=12). Eccentric exercise groups were further divided as rats killed after 1 h (n=6) and 48 h (n=6) of eccentric exercise. Estrogen (17- β Estradiol, 10 μ g/kg perday) was administered subcutaneously for 30 days. Eccentric exercise was applied as treadmill run (15° downhill, 20 m/min) consisting of periods of 5 min run and 2 min rest repeated 18 times. Leukocyte infiltration in soleus muscle was examined histologically. Creatine kinase activity in serum, and lipid peroxidation (assessed as MDA) and some antioxidant enzyme activities were measured spectrophotometrically in soleus and cardiac muscles and erythrocytes.

Eccentric exercise increased neutrophil infiltration in skeletal muscle suggesting the presence of the muscle damage. Leukocyte infiltration in skeletal muscle has significantly increased two fold after 48 h compared with the numbers after 1 h, and estrogen supplementation was not able to prevent this infiltration. Estrogen alone decreased the glutatyon peroxidase activity in soleus muscle compared with the control group. However, when estrogen effect is combined with eccentric exercise, glutatyon peroxidase activity was increased. This suggests that the negative effect of estrogen on

soleus glutathione peroxidase activity can be removed by eccentric exercise. The increase in oxygen consumption during exercise and consequently increased formation of reactive oxygen species could have caused a compensatory increase in glutathione peroxidase activity, which might have been improved by estrogen.

MDA level in heart tissue of the control group was higher than the groups, the group which had eccentric exercise and killed after 1 h, and the group which had estrogen supplemented and rested. Estrogen supplemented rest group had lower MDA level compared with control group. This suggests that estrogen had decreased lipid peroxidation by acting as antioxidant. Since there were no differences in the antioxidant enzyme activities between these groups, this antioxidant effect of estrogen can be attributed to its membrane stabilizing effect.

The most commonly measured marker of the damage of muscle membrane is the leaking of the creatine kinase to the circulation. We expected that the serum creatine kinase activity would be increased due to the muscle damage induced by eccentric exercise; however, we were not able to observe this effect. This suggested that the muscle damage might not have reflected to the blood or there may not be sufficient damage in the muscle. Erythrocyte MDA level in the group, which had estrogen and killed after 48 h of eccentric exercise, were higher than the levels of the group which had no estrogen supplementation and killed after 48 h of eccentric exercise. Estrogen supplementation led to increase in the erythrocyte MDA level by time after eccentric exercise. This suggested that estrogen might have acted as pro-oxidant instead of antioxidant in blood. Estrogens can also produce reactive oxygen species by increasing mitochondrial activity and redox cycling of estrogen metabolites.

Key Words: eccentric exercise, estrogen, muscle damage, neutrophil, MDA, antioxidant enzymes, rat, heart, soleus muscle, erythrocyte, creatine kinase.

1. GİRİŞ

1.1. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Egzersizın yararı günlük yaşantı kondisyonunu arttırmasıdır. Yaşam kalitesi ve verimlilik yönünden egzersizin süresi ve şiddetinin kondisyonu etkilediğı bilinmektedir. Kondisyonun artması sonuçta, insan vücudunun daha az yorularak iş yapmasını sağlar. Günlük zorlanmaları kısaca örneklersek, merdiven çıkma-inme, otobüse koşma, hızlı yürüme ve bir yük aldırma veya taşıma gibi. Sonuç olarak kişinin günlük işlerini kolayca yapmasını ve yorulmadan tamamlaması sağlanmış olur.¹ Egzersiz fiziksel sakatlık ve hastalıkların oluşumunu önlemek, geciktirmek ve tedavisinde kullanılmaktadır. Bu hastalıklardan en önemlisi temel oluşum nedeni hareket azlığına dayanan koroner kalp hastalıkları, periferik damar rahatsızlıkları ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıklar grubudur. Bir diğer önemli grup ise iskelet bozuklukları, yanlış duruş ve eylem anormallikleridir.^{1,2}

Çağımızın en önemli problemlerinden olan ve vücut anormalliğı olarak da kabul edilen bir durum şişmanlıktır.³ Egzersiz de en çok bu anormalliğın tedavisinde kullanılır. Menopoz dönemi başlayan kadınlarda kilo artışını hepimiz fark etmekteyiz.⁴ Vücutta östrojen miktarının azalması menopoza giren bayanların kilo almasına neden olduğunu düşünülmektedir. Egzersiz ile bu kilolarından kurtulmak isteyen bayanlar bilinçsiz, ağır ve hasar bırakan egzersizler ile farkına varmadan vücutlarında hasar oluşturabilir. Egzersizin sağlık ve uzun yaşama üzerine olumlu etkilerinin olduğu aşikârdır. Ancak hiçbir olumsuz etkisi olmadığını da söyleyemeyiz.⁵ Egzersiz esnasında, çalışan kasların dinlenme sırasında olduğundan yaklaşık 100 kat daha fazla oksijene ve dolayısıyla kana ihtiyacı! vardır.⁶ Bu durumda kaslara giden kan miktarında da artış olmalıdır. Dokulara giden bu O₂ vücuda alınan besin maddelerini adenozin tri fosfat

(ATP) üretimi için kullanıldığından, belirli bir zaman birimi içerisinde ne kadar çok O₂ kullanılırsa, o kadar çok ATP üretilir. Bu nedenle oluşacak serbest radikal miktarı artacaktır.⁷ Oluşan serbest radikaller oksidatif strese sebep olduğundan bu stresi ortadan kaldırmak için antioksidanlara görev düşecektir.

Egzersiz sonrası kas harabiyeti sonucu kas içi lökosit infiltrasyonu ve bunun sonucunda serbest radikal oluşumunda artış olabilir. Eksantrik kas kasılması kas hasarına yol açar. İskelet kası alışık olunmayan egzersiz veya bir başka travma ile hasara uğradığında, inflamatuvar cevaplar, ödem gelişimi ve sonunda uydu hücre aktivasyonu ve çoğalmasını kapsayan karakteristik reaksiyonlar başlar. Bu karmaşık olaylar dizisi, kası rahatsız eden durum tarafından başlatılan kasın membranları, ince yapısı ve metabolizmasındaki bozulmaya lokal ve sistemik olarak reaksiyon veren çok sayıda faktör tarafından adım adım düzenlenir. Bunlar lökosit mobilizasyonu, adezyonu ve sonunda hasarlı kas tarafından tutulmasının düzenlenmesi, sitokinler ve diğer inflamatuvar mediyatörler tarafından lokal ve sistemik inflamatuvar düzenlenmesi ve aynı zamanda kas uydu hücre aktivasyonu ve çoğalmasını etkileyen faktörleri içerir.⁸

Kas membran stabilitesinde östrojenin ve cinsiyetin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Eksantrik veya alışılmamış egzersiz, travma veya iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası kas membranında ve yapısında bozulma olduğu ortaya konulmuştur. Kas membranı bozulmasının ortak özellikleri arasında kasa özgü proteinlerin ve polipeptidlerin kas hücre membranından içeri veya dışarı doğru seçici göçü bulunur. Kas membran hasarının en yaygın ölçülen göstergesi kreatin kinazın dolaşıma geçmesidir.⁹

Son yıllarda, östrojenin çeşitli dokularda hasar sonrası inflamatuvar yanıt üzerine potansiyel etkisi konusunda bir ilgi artışı vardır. Özellikle östrojenin beyin, sinir

dokuları ve kalp kası üzerine olan bu etkileri yoğun bir şekilde karakterize edilmiştir.¹⁰ Hayvan modelleri kullanılan son çalışmalar da östrojenin egzersiz veya iskemi reperfüzyon hasarı sonrası iskelet kası hasarı belirteçlerini¹¹ ve lökosit infiltrasyonunu etkileyebileceğini göstermektedir.^{12,13} İnsan çalışmaları ise fazla istikrarlı sonuçlara sahip olmayıp östrojen düzeyleri manipüle edilmeksizin sadece cinsiyet farklılıklarına odaklanmıştır. Bazı çalışmalar eksantrik egzersiz sonrası kadınların daha düşük kas lökosit infiltrasyonuna sahip olduklarını bildirirken,¹⁴ diğerleri böyle bir farklılık bildirmemişlerdir.¹⁵ Bu uyumsuzlukların bazıları egzersiz protokolleri ve/veya kas lökosit içeriğini saptamadaki farklılıklar tarafından açıklanabilir. İnsanlarda belki de egzersiz sonrası kas lökosit infiltrasyonunda östrojene bağımlı farklılıklar östrojen yerine koyma tedavisi yapılan ve yapılmayan menopoz sonrası kadınlar gibi topluluklarda daha istikrarlı bir şekilde gözlenebilir.⁸

Görüldüğü gibi, östrojenin egzersiz sonrası kas hasarı ve inflamatuvar yanıtı etkilediğine dair kanıtlar olmasına rağmen, çelişkili sonuçlar da mevcuttur.¹⁶ Östrojenin antioksidan ya da tam tersi serbest radikal oluşumuna sebep olduğunu söyleyen çalışmalar mevcuttur.^{17,18}

Bu çalışmamızın amacı östrojenin iskelet kası ve kalp kasında eksantrik egzersize bağlı oluşabileceğini düşündüğümüz kas hasarını önleyip önleyemediğini araştırmaktı. Kas hasarı kas membran bütünlüğünün bozulması, lipid peroksidasyonu düzeyi ve iskelet kası nötrofil infiltrasyonuna bakılarak değerlendirildi. Erkek sıçanlarda iskelet ve kalp kası hasarının oluşumunu tespiti amacıyla kas hasarının periferik kandaki yansıması olarak serum kreatin kinaza da bakıldı. Çalışmamızda ayrıca, kan lipid peroksidasyon düzeyleri, bazı eritrosit antioksidan enzim aktivite değişiklikleri de araştırıldı.

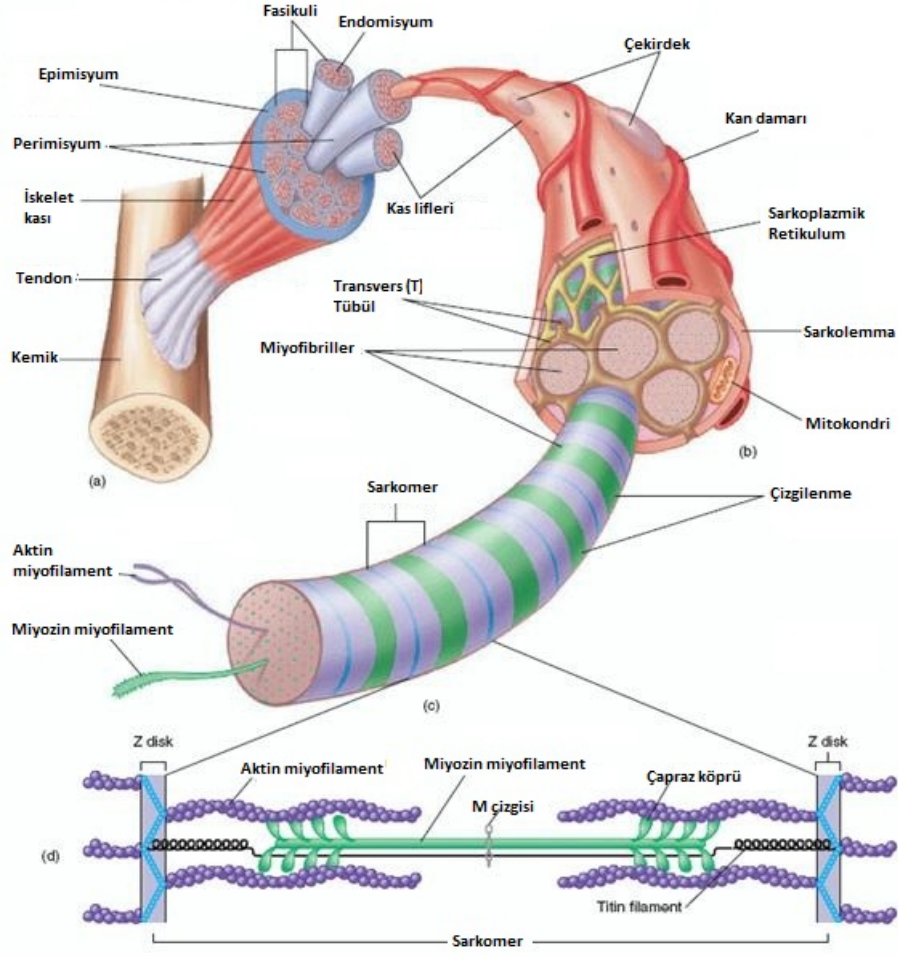
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kaslar

Kas doku, organizmayı oluşturan dört temel dokudan birisidir. Üç tip kas çeşidi vardır. Bunlar; iskelet kası, kalp kası ve düz kaslardır. Vücudumuzun yaklaşık % 40'ını iskelet kası, yaklaşık % 10'unu ise kalp kası ve düz kaslar oluşturur. Bütün bu kaslarda kasılma ilkeleri aşağı yukarı aynıdır.⁶ Bu üç tipin hepsi kasılma için özelleşmiş miyofibril ya da kas lifleri denilen uzun hücrelerden oluşurlar. Bu üç kas tipinin hepsinde adenozin tri fosfatın hidrolize olmasıyla açığa çıkan enerji mekanik enerjiye çevrilir.¹⁹

2.1.1. İskelet Kası

Kol ve bacak kaslarında olduğu gibi, istediğimizde hareket ettirebildiğimiz kaslara *iskelet kası* veya *çizgili (motor) kas* adı verilir. İsteğe bağlı çalışabilen bu kaslar, diğer kas çeşitlerine göre en hızlı çalışabilen kas çeşididir. Çok sayıda ve uzun mekik biçiminde hücrelerden oluşur.^{19,20} İskelet kası, demetler halinde ve bir kılıfla sarılmış olarak bulunur. Bu kılıflar, bulundukları yerlere göre adlandırılırlar. Tüm kası saran sıkı bağ doku tabakasına *epimisyum* denir. *Perimisyum* epimisyumdan köken alır ve kas hücre demetlerini çevreler. *Endomisyum* her bir kas hücrelerini saran ince retiküler lif ve ekstrasellüler matriks tabakasıdır.¹⁹



Şekil 2.1 Kas demeti genel yapısı şematik çizimi

İskelet kası birbirinden bağımsız kas liflerinden oluşmaktadır (Şekil 2.1).^{21,22} Bir iskelet kası hücresi kas lifi olarak bilinir. Bu hücrelere *miyosit* adı verilmektedir. Her bir kas lifi uzun, silindirik, birden çok çekirdek içeren tek bir kas hücresinden oluşur.^{19,20} Her iskelet kası hücresinde birden fazla çekirdek hücrenin kenarlarına itilmiş olarak bulunur. Kas lifinin çekirdeklerinin pek çoğu, hücrenin periferinde sarkolemanın hemen altında yerleşmektedir.^{19,23} Kas hücresinin plazma membranı (sarkolemma da denir) bir bazal lamina ve satellit hücrelerle çevrilmektedir.^{6,19,22} İskelet kas lifleri doğumdan sonra yaralanmaya bağlı tahrip olursa, diğer kas liflerinin bölünmesiyle yerine konamaz. Yeni lifler, kas liflerine yakın ekstrasellüler kompartmanda bulunan *satellit*

hücreler olarak bilinen farklılaşmamış hücrelerden yapılabilir. Doğumdan sonra yeni iskelet kası liflerinin oluşturulabilmesi önemlidir. Fakat ciddi olarak hasar görmüş kas tam olarak yeniden kurulamaz. Satellit hücreler kasların bakım, onarım ve erişkinlerde rejenerasyonunda oldukça fazla öneme sahiptirler.²⁰ Satellit hücreler erişkinlerde mitotik açıdan sakın olmalarına rağmen stres ya da travmaya cevaben mitozu yeniden başlatabilirler.¹⁹ Satellit hücreler egzersizle oluşabilen, kas gerim artışına katılamaz.²⁰

Kasılma olayında ATP çok önemli olduğundan çok miktarda mitokondri de bulunur.⁶ Kas lifleri 10-100 μm arasında bir çapa sahiptir ve uzunluğu 20 cm'yi bulur.^{19,20} Kas hücreleri, içlerinde kontraktıl (kasılabilen) yapılar olan birçok miyofibril bulundurur.²³ Her bir kas hücresinin içinde, birbirlerine paralel *miyofibril* denilen ince ve kalın iplik görünümünde yapılar bulunur. Farklı kalınlıklarda olan bu ipliksi yapılar, demetler oluşturur ve demetlerin birbirleri üzerine bindikleri yerler daha koyu görünürler. Bu çeşit kas hücrelerindeki kesişen miyofibrillere ait bölgelerin enine çizgi gibi görünmesi nedeniyle, *çizgili kas* adını alır.⁶

Işık mikroskopunda, kas lifinin uzun eksenine dik açı yapan bir seri koyu ve açık bandlar görülür. Hem iskelet, hem de kalp kası liflerinde bu karakteristik bandlaşma vardır. Düz kas hücreleri çizgilenme göstermez. Bu çizgili görünüm lif sitoplâzmasında miyofibril denen silindirik elemanların (1-2 μm çapında) bulunmasına bağlıdır.²⁰

Her biri kas lifi çok sayıda miyofibrilden oluşur. Bu filamentler büyük polimerize protein molekülleridir ve kas kasılmasından sorumludur. Kalın filamentlere *miyozin*, ince filamentlere *aktin* denilmektedir. Miyozin filamentinin orta kısmında çapraz köprücükler yoktur. Baş kısmı yana doğru uzanır. Buna çapraz köprücük denir. Burada sadece miyozin moleküllerinin kuyrukları bulunur. Miyozin başının ATP az

aktivitesi vardır. Bundan dolayı kas kontraksiyonu esnasında ATP parçalanır ve ortaya salınan enerji ile kasılma meydana gelir.

Aktin: Aktin filamenti 3 ayrı molekülden ibarettir: 1-Aktin, 2-Troponin, 3-Tropomiyozin. Troponin 3 globüler protein molekülünden ibaret bir komplekstir. Bu globüler proteinler troponin I, aktine, troponin C, kalsiyuma, troponin T, tropomiyozine bağlanır. Bu şekilde aktin ile tropomiyozin tutunmuş olurlar.⁶

Aktin filamentleri Z disklerine bağlıdırlar ve Z disklerinin her iki tarafında uzanarak miyozin filamentlerinin aralarına girerler. Aktin ve miyozin filamentlerinden farklı birçok filamentten oluşan Z diskleri miyofibrilleri birbirine bağlar.⁶ Sarkomer iskelet kasının kasılma birimidir.¹⁹

2.1.1.1. İskelet Kasında Kasılmanın Genel Mekanizması

İskelet kas kontraksiyonu aksiyon potansiyeli sonucu gelişir. Aksiyon potansiyeli kas lifinin iki tarafına doğru yayılır. T tübüleri hücre membranından kaynaklandığı için, ekstrasellüler sıvı lifin içine tübüller vasıtası ile girebilir. Bu nedenle aksiyon potansiyeli lifin sadece yüzeyine yayılmaz. Lifin en derinindeki fibrilleri de uyarabilir. Aksiyon potansiyeli kalsiyum iyonlarının sarkoplazmik retikulumdan ve ekstrasellüler sıvıdan sarkoplazmaya serbestleşmesine sebep olur. Kalsiyum iyonları ise kontraksiyon olayındaki kimyasal olayları başlatır. Serbestlenen kalsiyum iyonları, miyofibrilleri oluşturan aktin ve miyozinlerin arasına difüzyona uğrayarak aktin filamentlerindeki troponin C'lere bağlanırlar. Ca iyonlarını bağlayan troponin molekülünde konformasyon değişikliği meydana gelir. Bu olay sonucu tropomiyozin molekülü kayarak aktin molekülleri arasına gömülerek aktin üzerindeki aktif bölgeleri serbest bırakır. Serbest kalan aktin bölgeleri miyozin ile birleşerek kontraksiyonu başlatır. Aktin üzerindeki aktif bölge ile miyozin köprücük başında bu ilk birleşme sonucu miyozin başı kuyruğa

doğru eğilir. Bu eğilme ile aktin çekilmiş olur. Bu olay defalarca tekrarlayarak aktinlerin miyozinler üzerinde kayarak iyice birbirlerine yaklaşmalarını, dolayısıyla Z disklerinin birbirlerine yaklaşmalarını sağlar. Sonuç olarak sarkomer boyları kısalmır. Bu da kas lifi boyunun kısılmasına, yani kasılmaya neden olur.⁶

2.1.1.2. İskelet Kas Lifi Çeşitleri

İskelet kaslarını oluşturan liflerin histolojik ve morfolojik yönden iki çeşidi vardır. Bu iki tip lif arasında histokimyasal farklılıklar bulunmaktadır. Bunlar; tip I (*yavaş oksidatif, slow-twitch=ST*) ve tip II (*hızlı glikolitik, fast-twitch=FT*) liflerdir. Bir kasta tip I ve tip II lifler karışık olarak bulunur. Sporcuların performansının değerlendirilmesinde, kas lifi tipleri önemli bir performans kriteridir. Antrenmanlar ile kaslarda bulunan liflerinin sayısal oranlarının artması sağlanmaz. Sadece var olan lif çeşidinin kapasitelerinin artışı sağlanır.^{1,2}

Tip I Lifleri; yavaş kasılan, oksidatif lifler olup kapiller damar yönünden zengin olduğu için, kırmızı lif adını alır. Anaerobik kapasiteleri düşük, oksidatif kapasiteleri yüksektir. Bu lifler daha çok (yorulmaya karşı) dayanıklılık faktörü ile ilgilidir. Yavaş kasılan (Tip I - ST lifleri) liflere sahip olan sporcular, genellikle dayanıklılık sporları (*uzun mesafe koşuları, bisiklet, uzun mesafe yüzme vb.*) aerobik sporlarda başarılı olurlar.^{1,24}

Tip II lifleri ise hızlı kasılan glikolitik liflerdir. Beyaz lif adı da verilir. Bu liflerin en önemli özelliği, hızlı kasılmaları, kasılma sürelerinin kısa, kasılma gücünün ise yüksek olmasıdır. Yüksek şiddette ve daha kısa süreli aktiviteye iyi uyum sağlar. Anaerobik kapasiteleri yüksek, oksidatif kapasiteleri düşüktür. Bu nedenle çabuk yorulurlar. Çabuk kasılan (Tip II - FT lifleri) liflere sahip olan sporcular ise daha çok kısa süreli ve yüksek şiddette yapılan kuvvet ve güç gerektiren, sürat ve kuvvete

dayanan (*yüksek atlama, atmalar, sprint, 100–400 m gibi*) anaerobik spor dallarında başarılıdır^{1,24}.

Kasların kontraksiyon süreleri fonksiyonları için uyumludur. Kasların bir kısmı hızlı bir kısmı yavaş kasılırlar. Örneğin, gastroknemius kasında hızlı liflerin oranı baskındır ve bu ona sıçramada hızlı ve güçlü kasılma yeteneği kazandırır. Öte yandan, soleus kasında yavaş kasılan liflerin oranı daha baskın olduğu için bacak kaslarının uzun süren aktivitelerinde bu kas daha büyük ölçüde kullanılır.

Örneğin göz hareketlerini sağlayan kaslar çok hızlı olmalıdırlar ve kasılma süreleri 1/100 saniyedir. Soleus kasında ise kontraksiyon süresi fonksiyonu gereği 1/10 saniyedir. Kas lifleri hızlı ve yavaş kas lifleri olarak ikiye ayrılırlar. (**Tablo 2.1**) Hızlı kaslar daha çok hızlı lifleri, yavaş kaslar ise daha çok yavaş lifleri içerirler.

Tablo 2.1 Kas lif çeşitleri ve özellikleri.

<i>Hızlı Lifler</i>	<i>Yavaş Lifler</i>
Kalın liflerdir.	Küçük liflerdir.
Çok hızlı, güçlü kontraksiyonlar için gereklidir. (sıçrama ya da kısa mesafeli koşu)	Sürekli ve uzun süren kontraksiyonlar için gereklidirler. (uzun mesafeli koşular)
Büyük miktarda glikolitik enzimler içerirler.	Dayanıklılık ve özellikle aerobik enerji üretimine uygun bir organizasyona sahiptir.
Enerjinin fosfojen ve glikojen-laktik asit enerji sistemlerinden hızla serbestlemesini sağlayan enzimler daha çoktur.	Yavaş kasılan lifler birçok dakikadan saatlere kadar uzun süre kontraksiyon gücü sağlayarak dayanıklılığın temelini oluşturur.
Yavaş kasılan liflere göre iki-üç kat daha aktiftir.	Çok sayıda mitokondri içerirler.
Hızlı liflerle sağlanan maksimal güç, yavaş liflerin iki katı kadar büyük olabilir.	Miyoglobinden zengindirler.
Hızlı kasılan lifler dakikanın birkaç saniyesinde çok miktarda yüksek bir güç sağlar.	Daha ince sinir lifleri ile innervasyona sahiptirler
Zengin sarkoplazmik retikuluma sahiptirler.	Yoğun kan damarı içerirler.
Daha az mitokondri içerirler.	Kapiller sayısı liflerin kitlesine oranla yavaş liflere yakın bölgelerde, hızlı liflere komşu olan bölgelere göre daha fazladır.
Daha az kan akımına sahiptirler.	Kırmızımsı görünüme sahiptirler.
Beyazımsı görünüme sahiptirler.	

Bu liflerin vücuttaki oranları genetik olarak belirlenir. Antrenmanla birbirlerine dönüşmezler. Bazı insanlar doğuştan maraton, bazıları ise hız koşuları ve atlamalara yatkın doğarlar.^{6,20,22}

İskelet kası liflerinin ikinci bir sınıflaması, ATP sentezindeki enzimatik işlemlerin tipine göre yapılır.

Bu özelliklere göre, üç çeşit iskelet kas lifi tanımlanabilir,⁶

1. Yavaş oksidatif lifler, yüksek oksidatif kapasite ile düşük miyozin-ATPaz aktivitesini birleştirir.

2. Hızlı oksidatif lifler, yüksek oksidatif kapasite ile yüksek miyozin-ATPaz aktiviteyi birleştirir.

3. Hızlı glikolitik lifler, yüksek glikolitik kapasite ile yüksek miyozin-ATPaz aktiviteyi birleştirir.²⁰

2.1.2. Kalp Kası

Kalp kası üç tip kas lifinden oluşur. Atrium lifleri, ventrikül lifleri, özel uyarı ve ileti sistemi lifleri. Kalp kası lifleri aynı iskelet kasındaki gibi kasılırlar. Ancak kasılma süreleri uzundur. Özel uyarı ve ileti sistemi lifleri ritmik uyarı oluşturup, bu uyarıyı iletirler. Ancak çok zayıf kasılabilirler. Kalp kası lifleri ayrılıp tekrar birleşen bir dizilim gösterirler. Çizgilidirler. Aktin ve miyozin filamentleri içerirler. Hücreler birbirlerine intercalated diskleri ile bağlanırlar. İntercalated diskler de gap junction denilen iyonların geçmesine izin veren delikler mevcuttur. İyon geçişi elektriksel uyarıların da geçmesini sağlar. Bu nedenle bir hücre uyarıldığında komşu tüm hücreler uyarılır. Böylece kalp kası lifleri bir sinsityum oluşturur.⁶

Kalpte iki sinsityum vardır;

1- Atrial sinsityum,

2- Ventriküler sinsityum.

Her bir siklus sinoatriyal (SA) düğümünden doğan bir impuls ile başlatılır. İmpuls önce atriumlara yayılır. Atrial sinsityumdan ventriküler sinsityuma impuls iletimi

atriyoventriküler (A-V) düğüm vasıtasıyla olur. Önce atrial sinsityum kasılır, sonra ventriküler sinsityum kasılır. Bu ise efektif pompalama için şarttır. Plato nedeniyle aksiyon potansiyelinin süresi uzundur. Dolayısıyla kasılma süresi de iskelet kasına göre 3-15 kat daha uzundur.⁶

Kalp kasında depolarizasyon ile iki tür voltaj kapılı kanal açılır;

Hızlı Na kanalları (İskelet kasıyla aynı)

Yavaş Ca kanalları

Yavaş Ca girişi depolarizasyonun devam etmesine (plato'ya) neden olur. Ayrıca içeri giren Ca iyonları troponin C ile birleşerek kasılma işlemini de başlatırlar.

Yavaş Ca girişi K çıkışını engeller. Platonun sonunda Ca girişi durduğu zaman K hızla dışarı çıkarak repolarizasyon oluşturur.

Refrakter Periyot: Kalp kası da diğer uyarılabilen dokularda olduğu gibi aksiyon potansiyeli esnasında uyarılara cevap vermez. Bu devreye refrakter periyot denir.⁶

Kasılma ilkeleri iskelet kasıyla aynı olmakla birlikte, Ca iyonları sarkoplazmik retikulum sisternalarından sarkoplazmaya geçerken (iskelet kasındaki gibi) aynı zamanda T tübüllerinden de sarkoplazmaya geçerler. Kalp kasında sarkoplazmik retikulum iyi gelişmemiştir. T tübülleri iskelet kasına göre hacimce 25 kat, çapça 5 kat daha geniştir.⁶

Kasılma Süresi

Kasılma, aksiyon potansiyelinin başlangıcından hemen sonra başlar ve bitiminden hemen sonra sona erer. Yaklaşık atrium kasında 0,2 sn ventrikül kasında 0,3 sn sürer. İki kasılma arası 0,1 sn geciktirilir. Bunun amacı atriumlar ile ventriküllerin aynı anda kasılmasını önlemektir Kalp hızı arttığında hem kasılma hem de gevşeme periyotları kısalmır.⁶

Kalbin Oksijen Kullanımı

Kalp kası enerjisini en çok yağ asitleri, daha az olarak laktat ve glikozdan sağlar. Kalbin oksijen tüketimi kasılma esnasında kalp kasında oluşan tension (gerim) ve kasılma süresinin çarpımı (tension-time index) ile orantılıdır.⁶

2.2 Egzersiz

Egzersiz her türlü kas hareketlerini tanımlamak için kullanılan bir terimdir.²⁵

Düzenli egzersizin fiziksel uygunluk düzeyini arttırdığı, hastalıklardan korunmada ve bazı hastalıkların tedavisinde önemli rol oynadığı ve genel sağlık durumunu olumlu yönde etkilediği uzun zamandan beri bilinmektedir. Hem performans sporlarında hem de sağlık için spor yapanlarda kuvvet çalışmaları önemli ölçüde yer tutmaktadır.²⁶ Egzersiz; morfolojik değişikliklere yol açmayan ve performans artışı hedefine yönelik hareket süreçlerinin sistematik olarak tekrarlanması, olarak tanımlanır.²⁷ Egzersiz kuvvet ve dayanıklılığı artırmak, varsa bozuklukları düzeltmek veya fonksiyonları iyileştirmek için yapılan vücut hareketleri olarak kabul edildiği gibi, hareketsizliğe bağlı olarak ortaya çıkan rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmasından dolayı, spor ve egzersiz kişinin sağlık durumunu iyileştiren ve iyi durumun devamına yardım eden hareketlerin tamamı olarak da tanımlanmaktadır.²⁴

Fiziksel egzersiz terimi genel olarak, aşağıdaki amaçlara ulaşmak üzere özel olarak planlanmış hareket formlarını belirtmek amacıyla kullanılmaktadır.²⁸ Bu amaçlar;

- 1.Fiziksel fonksiyonu belirli (amaçlanan) düzeyde devam ettirmek
- 2.Fiziksel (kassal) fonksiyon kapasitelerini (kassal performansı) arttırmak
- 3.Bu kapasitelerdeki bazı kayıpları restore etmek (yeniden kazanmak)

4.Önceki bazı kayıpları kompanse etmek üzere yeni fonksiyonel kapasiteler geliştirmek

Kısaca, fiziksel egzersiz sağlıklı yaşam, sportif faaliyetler ve kassal performansı geliştirmek amacıyla yapılan hareketlerin tümünü ifade eder.²⁸

Egzersizin ilk etaptaki yararı günlük yaşantı kondisyonunu arttırmasıdır. Egzersizin ikinci yararı; fiziksel sakatlık ve hastalıkların oluşumunu önlemek, geciktirmek ve tedavisinde kullanılmaktadır. Fakat bunların yanı sıra vücudun karşılaştığı normal streslerden hiçbiri ağır egzersiz stresi kadar veya ona yakın olamaz. Ağır egzersiz uzun süreli devam ederse öldürücü bile olabilir.⁶

2.2.1. Egzersizde Enerji Metabolizması

Kas kontraksiyonları kimyasal enerjinin mekanik enerjiye dönüştürülmesi ile gerçekleştiğinden kas aktivitesindeki artış, enerji tüketimini ve enerji üretimini dolayısı ile çalışan kasa kan akımı ve oksijen kullanımını önemli derecede arttırır.^{6,29}

Bu tüketim kasın veya kasların aktivite derecesi ile orantılı olarak artar. Maksimal bir kassal aktivite sırasında enerji üretmek amacıyla kullanılan oksijen miktarı da maksimal düzeye çıkar. Ancak oksijen kullanımı her zaman egzersiz şiddeti ile paralel olarak artmış düzeyde sürdürülemez. Egzersiz vücut sistemlerinin bazal seviyedeki aktivite düzeylerinden daha fazla fonksiyon yapmak zorunda oldukları bir çalışmadır. Egzersizde en önemli faktör aktivitenin devamı için gerekli olan enerjinin elde edilmesidir. Egzersizin şiddetine göre enerji temini için kullanılan yöntemler değişmektedir.^{1,30}

Kaslarda hazır bulunan ATP den başka 3 enerji kaynağı vardır.

1-Fosfokreatin-kreatin sistemi,

2-Glikojen-laktik asit sistemi,

3-Aerobik sistem.

Hazır bulunan ATP antrenmanlı bir kişide maksimal kas kuvvetini ancak 3 sn devam ettirebilir. Yani 50 m koşunun yarısını.

Fosfokretain-kreatin sistemi: Fosfokretain enerji depolayan bir moleküldür. Parçalandığında oluşan fosfat adenozin monofosfat (AMP) veya adenozin difosfat (ADP) ile birleşerek ATP üretilir. Bu mekanizma ile ATP üretim hızı çok yüksektir. Aerobik sistemin 4 katıdır (4 mol/dak).

Glikojen oksijensiz olarak önce pirüvik aside daha sonra laktik aside çevrilir. Glikoza göre daha fazla ATP üretilir. Glikojenden oksijensiz olarak 1 glikoza karşılık 3 ATP üretilirken glikozdan sadece 2 ATP üretilir.

Kısa süreli egzersizler; 100, 200, 400 ve 800 metre koşucularının yaptığı egzersiz tipi ile sadece 2-3 dakika devam ettirilebilen diğer kassal aktiviteleri kapsar. Bu tip aktivitede enerji üretiminde anaerobik sistemlerin kullanım oranları yüksektir. Dokuda hızlı laktik asit birikimi olur ve hızlı yorgunluk oluşur.^{6,30}

Aerobik sistem, bu sistemde besin maddelerinden (glikoz, yağ asitleri ve amino asitler) oksijenle elde edilen ATP üretilir. ATP elde etme hızı yavaştır (1 mol/dak) ancak sınırsız süreli olarak enerji elde edilebilir.

Özetle fosfojen sistemin ATP elde etme hızı 4 mol ATP/dak, glikojen-laktik asit sisteminin 2.5 mol ATP/dak, aerobik sistemin ise 1 mol ATP/dak dır. Dayanıklılıkları ise sırayla 8-10 sn, 1.3-1.6 dak ve sınırsız süre olarak söylenebilir.^{6,20}

İskelet Kas Tonusu: İstirahat esnasında bile kaslarda belirli bir gerim vardır. İskelet kaslarındaki bu devamlı belirli derecelerdeki kasılmaya *gerim* denir. Kasda yorgunluk, kastaki glikojen miktarının azalması sonucu oluşur.

Kas Hipertrofisi: Kuvvetli kas aktivitesi kasların hacmini artırır. Buna *hipertrofi* denilir. Hipertrofide lif sayısı değişmez lifler kalınlaşır. Lifteki, miyofibril sayısı artar, mitokondri sayısı ve enzimleri artar, fosfojen sistemin komponentleri % 120 den fazla artar, glikojen deposu % 50 artar, trigliserid deposu % 75-100 oranında artar.

Kasda Hiperplazi: Sayıda olan artışa *hiperplazi* denir. Kas lifinin boyutunun artması, sarkoplazmadaki besin maddeleri, glikojen, ATP, fosfokreatin, lipit ve mitokondri artışına bağlıdır.

Kas Atrofisi: Kasların kullanılmaması sonucu gelişir. Hipertrofinin tersine boyutta azalma söz konusudur.⁶

2.2.2. Egzersiz Çeşitleri

Egzersizin tipi ve şiddetine göre, kasa ulaşabilen kan akımı ve oksijen donanımına bağlı olarak değişir. Buna göre de egzersiz sırasında enerji üretimini sağlayan aerobik ve anaerobik sistemlerin etkinlik oranları değişir.³⁰ Kasların kasılma tipleri açısından izometrik, konsantrik (izotonik), eksantrik, izokinetik egzersiz terimleri kullanılmaktadır.^{1,2,24,31,32} Dört farklı tipte kas kasılma vardır:

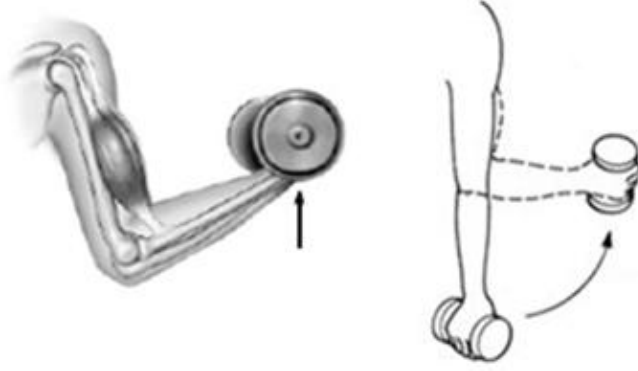
- İzotonik
- İzometrik
- Eksantrik
- İzokinetik

İzotonik (Konsantrik) Kasılma

İzotonik kasılma, sabit bir dirençte kasın boyu kısalırken, aynı miktarda kas gerilimi üreten bir kasılma şeklidir. Bu kasılmada kas kuvvet üretirken eklem açısı küçülür, kasın boyu kısalır. Konsantrik kasılmada pozitif mekanik bir iş yapılır. Bütün kaldırma kasılmalar izotonik kasılma örnek olabilir. Bu olduğunda kas boyu kısalır. İzotonik egzersizler genellikle dayanıklılık egzersizleridir. Yürüme bandı, bisiklet ve kol

ergometresi gibi ekipmanlar bu amaçla kullanılır ve bunlar hem tüm vücudun hem de lokal kasların aerobik kapasitesini artırır.³³ Örneğin; ağırlığın yerden yukarı kaldırılması, koşma veya merdiven çıkma sırasında aktif kaslar başlıca konsantrik olarak kasılır.³²⁻³⁶

Genellikle insanın kas aktiviteleri izometrik ve izotonik kasılmaların birbiri peşi sıra yapılmasından veya her ikisinin beraberce kombine uygulanmasından oluşur.^{1,6} Pek çok egzersiz izotonik kasılma tipini içerir.



Şekil 2.2 İzotonik kasılma şematik çizim

İzometrik Kasılma

Kas uzunluğunun sabit kaldığı, geriliminin arttığı statik bir kasılmadır. İzometrik çalışmada fizik kanunlarına göre mekanik bir iş yapılmış olmaz.¹ İzometrik kontraksiyon kas gerginliği artış olurken ancak uzunluğu hiçbir değişiklik oluşmaz. Eklem açısında bir değişiklik oluşmaz yani bilinen anlamda hareket söz konusu değildir. Kas boyunda bir değişiklik oluşmadığından dolayı ekstremitelerde hareket ortaya çıkmaz. Örneğin, çiğneme faaliyetleri ve ayakta dik durmamız izometrik kasılmalar ile gerçekleşir. Güreş, halter (bir taşınmaz nesne kaldırma girişiminde, kol boyu bir ağırlık tutan ve bazı güreş hareketleri) gibi sporlarda bu tür kasılmalar uygulanır.^{1,2,6}

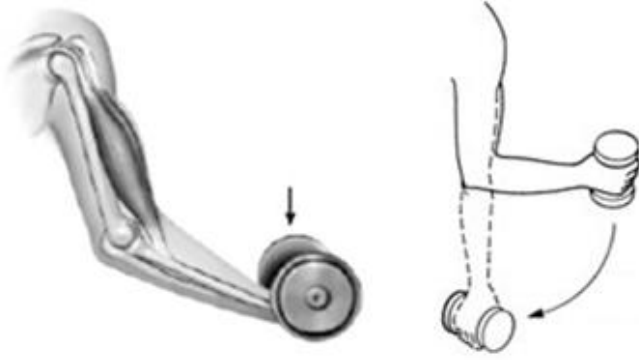


Şekil 2.3 İzometrik kasılma şematik çizim

Eksantrik Kasılma

Kas, gerilim altında uzar. Kasın tonusu sabit kalırken boyunda uzama olur. Kasılma sırasında eklem açısı büyürken kasın boyu uzar. Bu kasılma yer çekimine karşı kullanılır. Bu tip kasılmaya örnek olarak; yokuş aşağı koşma, yokuş aşağı yürüyüş, zıpladıktan sonra yere iniş sırasında oluşan kasılma eksantrik kasılmadır. Bu kasılma tipi her zaman tavsiye edilmez.

Ayak parmakları üzerinde dikilip, vücudu yere doğru yavaş yavaş eğme esnasında soleus ve gastroknemius kaslarının kasılmaları eksantrik kasılmadır. İnsan günlük yaşamında genellikle eksantrik kasılmayı takip eden konsantrik kasılma ile hareketlerini yapar. Bu şekilde yapılan kas hareketi sonucunda kasta gözle görülebilen güç artışı ve hipertrofi sağlanabilir. Bu durum egzersiz sonrasında kas ağrılarının neden olur. Eksantrik kasılmada yapılan mekanik iş negatif karakterdedir.^{1,6,37-41}



Şekil 2.4 Eksantrik kasılma şematik çizim

İzokinetik Kasılma

Sportif performansta uygulanan bir kasılma şeklidir. Sabit hızla kasın kasılmasını sağlayan bir kontraksiyondur. Hareket süratinin (kas kısalma süratinin) sabit tutulduğu maksimal bir kasılma şeklidir. Hareketin her açısında maksimal bir güçte kasılma olur ve bu kasılma tüm hareket boyunca devam eder. Böylece tüm hareket açıklığı boyunca kaslar aynı dirençle yüklenmiş olur. Bu kasılma tipinde hem eksantrik hem de konsantrik özellik vardır. Örnek; serbest stil yüzmede kulaçlarda kolun kasılması, kürek çekmede kolun kasılması gibi hareketlerde izokinetik kasılmayı sağlar.^{1,6,42,43}

2.2.3. Egzersizde Kas Hasarı

Egzersiz sonucu oluşan kas doku hasarı özellikle sağlık için spor yapanların, çeşitli rahatsızlıklar nedeniyle fizik tedavi alanların, kalp problemlerinden dolayı egzersiz yapanların ve egzersiz programı uzmanlarının yakından ilgilendiği bir konudur. Yapılan çalışmalarda uygulanan egzersizin, türünün ve boyutunun ise hasarın miktarında belirleyici olduğu anlaşılmaktadır. Özellikle eksantrik kasılma türünde hasar daha fazladır. Kas hasarı; ırk, cinsiyet, yaş ve antrenman durumu ile yakından ilgilidir.

Miyokartta da enfarktüse benzer zedelenmelere sebep olduğu ileri sürülmektedir.⁴⁴⁻⁴⁸ Özellikle maraton, ultra maraton gibi uzun süre efor gerektiren sporlarda hasar daha fazla meydana gelmektedir. Bu tür spor branşlarında iskelet kasındaki hasarın yanında, kalp kasında da enfarktüse benzer nitelikte hasar meydana gelmektedir.^{40,42,49}

Egzersizde çarpma ve burkulmalar sonucu yumuşak doku zedelenmeleri oldukça yaygındır. Bu zedelenmeler normal rehabilitasyon sonucu rehabilite edilebilen zedelenmelerdir. Fakat egzersizde yumuşak doku zedelenmeleriyle birlikte hücresel düzeyde de bir hasar meydana gelmektedir. Bu zedelenme türü terminolojide tam tanımlanmamış olmakla birlikte mikro travma, mikro yaralanma ve kas hasarı terimleri yaygın olarak kullanılmaktadır.⁵⁰

Bu hasar temel olarak iki yolla açıklanmaktadır. Birincisi alışık olunmayan egzersiz, ikincisi ise tam olarak karakterize edilmemesine karşın kas iskemisinde katkısıyla doku zedelenmesiyle bazı metabolik ve kimyasal olayların ortaya çıkmasıdır.⁴⁹

Kas hasarının tespitinde yaygın olarak iki metot kullanılır. Birincisi direkt yöntem olan görüntüleme teknikleridir.⁵¹ Bu yöntem hem pahalı hem alana uygulanabilirliği zor (Manyetik rezonans (MR), spektroskopi, mikrografi, elektron mikroskobu) yöntemlerdir.⁵²

İkinci yöntem ise kasa özel enzim aktivitelerinin serumdaki düzeylerinin belirlenmesine dayanır. Genetik olarak hangi dokuya ait oldukları belirlenmiş olan izoenzimlerin serumdaki miktarlarının artması ilgili dokudaki hasarı ve hasarın oranının tespit etmede belirleyici rol oynar.⁵²

Egzersiz sonrasında başlayan kas ağrısı yapılan egzersizi takiben iskelet kaslarındaki travma şartlarında geçici olarak oluşan ağrıdır. Geç dönemde başlayan kas

ağrısı kasta duyarlılık artışı ve beraberinde sertleşmeyi de içeren ağrıdır.^{53,54} Alışık olunmayan eksantrik kasılmanın sebep olduğu hasar miyofibrillere özgü yapının bozulmasına sebep olur. Özellikle Z bandındaki kopmalara miyofibril iskeletindeki kırılmalar eşlik eder.^{51,50} İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda kuvvet ile kas hasarı ve kas ağrısının ilişkili olduğunu göstermektedir.⁵⁰ Yapılan bir çalışmada geri pedal çevirme egzersizinden sonra gözlenen fibrillerde odaksal bir dağınıklık bulundu.^{51,55} MR ve elektromiyogram kullanılarak egzersizin kaslar üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada egzersiz sonrası kaslarda geniş yaralanmalar olduğu ve egzersizin dinlenme fazında kasın elektrik aktivitesinin anlamlı şekilde azaldığı bildirilmektedir.⁵⁶

Egzersizden sonra oluşan ağrıda rol oynayan faktörlerden biri yüksek yoğunluktaki ve şiddetteki egzersizlerle kan plazma volümünün azalması dolayısıyla iskemiye sebep olmasıdır. Ağırlık ve halter gibi yüksek direnç egzersizleri kısa süreli hipoksi koşulu oluşturarak iskemiye sebep olabilmektedir.⁵⁷ Dokudaki enerji kaynaklarının oksijenle yanmasıyla doku zedelenmesi arasında ilişkinin olduğunu bildiren çalışmalarda mevcuttur.⁵⁸

Yapılan bir çalışmada egzersizden sonra gecikmiş kas ağrı mekanizmaları açıklamakta; kasta biriken laktik asit, kas spazmı, bağ doku hasarı, kas hasarı, iltihaplanma ve enzim artıkları teorileri ileri sürülmektedir.⁵⁹

2.2.4. Kas Hasarında Enzim Aktivitesi

Dokuların izoenzim miktarı genetik olarak belirlenmiştir. İzoenzimlerin değerlendirilmesi aracılığıyla yüksek enzim aktivitesinin kaynaklandığı dokuyu tanımak mümkündür.⁴⁹ Normalde enzim molekülleri büyük olduğundan plazma zarından çok sınırlı miktarda geçebilirler. Ancak herhangi bir nedenle (hipoksi, viral, bakteriyel ajanlar) hücre zarı hasar görürse seçici geçirgenlik özelliği bozulur ve hasarın

derecesine göre önce hücre zarı yüzeyinde bulunan enzimler seruma karışır. Sitozolik miktar ve molekül büyüklüklerine göre seruma sızarlar. Eğer hücre hasarı çok şiddetli ise mitokondri de etkileneceğinden mitokondriyal enzimler seruma sızarlar. Enzimlerin hücre içi lokalizasyonları ise hücre hasarının derecesini tayin etmede önemlidir. Böyle bir enzimin artmış serum aktivitesi hasarlanmış dokuyu gösterir. İskelet ve kalp kası hasarını tespiti yönelik çalışmalarda kullanılan yapılar; başta kreatin kinaz (CK) ve alt izoformları, miyoglobin, aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH), karbonik anhidraz, laktat dehidrogenaz, troponin ve kas yapı proteinleri yaygın olarak kullanılan yapılardır. Bu yapılardan en önemlisi ve en çok kullanılanı CK'dır. CK kas kasılma veya taşıma sistemlerindeki ATP yenilenmesini sağlayan bir enzimdir. CK kas hücresinde fizyolojik bakımdan fonksiyonel hale gelir. Kasın her kontraksiyon döngüsünde kreatin fosfat kullanılarak ATP oluşur. Bu sonuç kasın ihtiyacı olan ATP düzeyini sabitleştir. CK'nın plazmadaki seviyesinin artması kas doku hasarının göstergesidir. Kas hasarı belirleyicisi olan CK kas hasarı esnasında plazmadaki oranı artar.⁶⁰⁻⁶⁵ İnsanlarda serum CK ile beraber LDH düzeylerinde artış şeklinde gözlenir.⁶⁶ Egzersizden sonra artan CK'nın pik zamanı egzersizin türüne, şiddetine ve süresine bağlı olarak değişmektedir. Literatürdeki çalışmalarda CK miktarının egzersizden 1-5 gün sonra en yüksek seviyesine geldiği bildirilmektedir.^{50,62,67-69}

Bunun yanında CK'nın tip II liflerinde tip I liflerine oranla daha fazla aktivasyon gösterebileceği bildirilmektedir.⁷⁰ Yapılan bir çalışmada yokuş aşağı yürüyüş egzersizinde tip II fibrillerinin tip I fibrillerinden daha fazla hasara uğradığı belirtilmiştir.⁶⁵ Egzersizle kas lif tiplerinde oluşan hasarın farklı olmasının sebebinin, lif tiplerinin yapısal farklılıklarından kaynaklandığı düşünülebilir. Nitekim sarkomerlerin birbirine bağlantı özellikleri bakımından tip I ve tip II lifleri farklılıklar göstermektedir.

Kas lifi tiplerinde M bağlantılarında farklılıklar vardır. Bu oranlar Z bandıyla ilişkilidir.⁵⁰ Egzersizdeki kas hasarının da Z bandındaki kopmalardan ileri geldiği düşünülmüşse kas lif tipi ile CK enzimi arasında bir ilişkisi olduğu düşünülmektedir.⁴⁹

Bunların yanında egzersize bağlı kas hasarı olduğunda plazma ve serumda hücre içi enzim olan CK'nın aktivitesi artar.⁶³⁻⁶⁵ CK'nın en aktif olduğu yer iskelet kasıdır. Egzersizin sebep olduğu kas hasarında CK aktivitesi cinsiyet, yaş, egzersizin tipi gibi değişkenlerden etkilenirken farklı ırklara mensup kişilerde farklı miktarda ortaya çıktığı bilinmektedir.⁷¹ Farklı ırkların bu cevabı tam olarak açıklanamamış olmasına karşın bunun kas kitlesiyle ya da fiziksel aktivite alışkanlık düzeyleri ile ilişkilerinin olmadığını bildiren çalışmalar mevcuttur.^{72,73}

CK çizgili kas, kalp kası ve beyinde bulunur.⁷⁴ İnsan dokularında CK'nın üç farklı izoenzimi bulunmaktadır. Kalp dokusunda CK aktivitesini CK-MM ve CK-MB oluşturur.^{75,76} İskelet kasındaki CK aktivitesinin %99 ünü CK-MM izoenzimi oluşturur.⁷⁷ CK-BB esasen beyin dokusuna özgü formdur.⁷⁸ CK-MB'nin neredeyse tamamı miyokartta üretilir. Bununla birlikte çok düşük miktarlarda ince barsakta, dilde, uterus ve prostatta bulunur.⁷⁹

2.2.5. Egzersizde Kalp Kası Hasarı

Yapılan egzersizin iskelet kasında olduğu gibi kalp kasında hasar meydana getirebilir ve kardiyak fonksiyon bozukluklarına sebebiyet verebilir.⁴⁴⁻⁴⁸

Plazma CK aktivitesi kas yaralanmalarında, akut miyokart enfarktüsü sonrasında ve proteinlerin enerji metabolizması olarak kullanıldığında artmaktadır.⁶⁵

Yapılan bir çalışmada CK-MB aktivitesi maratoncularda ve akut miyokart enfarktüsü geçirmiş hastalarda yüzde olarak benzerlikler göstermektedir. Enzimin uzaklaştırılması sporcularda daha yavaştır.⁵⁰

Miyokart hasarının tanımlanmasında sıklıkla CK-MB, Miyogloblin, Troponin T ve I kullanılmaktadır.^{64,80,81} CK-MB akut kardiyak doku hasarını ve miyokart enfarktüsünün tanımlanmasında ilk ve önemli göstergedir.^{63,66,82}

Miyokard hasarında en erken yükselen biyomarkırlardan biride miyoglobindir. Yapılan bir çalışmada ilk 3 saatte CK-MB yükselmesinin tanısal değerini %90, Miyoglobinin ise %100 olduğu bulunmuştur.⁸³ Miyokard hasarının tespitine yönelik çalışmalarda sıkça kullanılan bir diğer biyomarkır ise Troponin kompleksidir. Troponin çizgili kasın miyofibriler proteinlerindendir Serumda uzun süre bulunması harap olan miyofilamanlardan sürekli salınmasının sonucudur.⁸⁴ Tn-I sadece kalpte bulunması nedeniyle özgüllüğü % 100'dür.⁸⁵

Chen ve arkadaşlarının⁸⁶ ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada egzersizin yoğunluğu, süresi arttıkça miyokardiyal hasarın arttığını ve antrenmanın ise bu hasarını azalttığı ileri sürülmektedir. Alp maratonuna ve Alp krosuna katılan yarışmacılar üzerinde yapılan bir çalışmada müsabakadan sonra sadece 4 denekte anlamlı Tn-T yükselmesi tespit etmişlerdir. Bu dört sporcunun haftalık antrenman yoğunluklarının daha düşük olduğu tespit edilmiş.⁸⁷

2.2.6. Eksantrik Egzersiz ve Zararları

Pek çok araştırmada ağır ve tekrarlanan eksantrik egzersizler ile egzersiz sonrası kas hasarı ve gecikmiş kas hassasiyeti ilişkilendirilmiştir.⁸⁸ Sporu eğlence için yapanlar ile aktif sporcuların her ikisinde de bu durum meydana gelir. Aktif sporcularda, bu yanıtlar sıklıkla antrenman yoğunluğu ve miktarındaki ani artışlar veya uzun süren istirahat veya yaralanma sonrası görülür. Sedanter kişilerde ise tek bir eksantrik kas kasılmalarını içeren tek bir egzersiz periyodu önemli miktarda kas hassasiyeti ve kas hasarı oluşturabilir.¹⁸

Eksantrik kasılma diğer kasılma türlerine göre daha fazla kas hasarı meydana getirmektedir.⁸⁸

Konsantrik kasılmalar ile karşılaştırıldığında her kas lifinde mekanik zorlama daha yüksektir. Bundan dolayı kas lifleri bir araya toplanır. Dokulardaki yüksek stresin yer aldığı bir yükleme kas hasarının muhtemelen en ilk faktörüdür. Kısa kasılmalar süresince iş kas tarafından yapılır, fakat yoğun kasılmalar süresince iş eksternal uzatan güç tarafından kasa yaptırılır.

Eksantrik kas aktivasyonu sportif aktivitelerde ve gündelik yaşamda sıklıkla ortaya çıktığından dolayı kas hasarı birçok bireyde görülebilir. Davies ve arkadaşlarının⁸⁹ yaptığı bir çalışmada yoruluncaya kadar devam ettirilen akut bir treadmill koşusu sonrası sıçan kas dokusu homojenatında elektron paramanyetik rezonans (EPR) sinyallerinin yoğunlaştığını bildirmişlerdir.

Kas liflerinin kayma teorisine göre; miyozindeki çapraz köprüler aktif durumdaki kas iplikleri boyunca aktin filamentleri ile tekrar bağlantı yaparlar. Ancak eksantrik kasılma süresince aktin filamentlerin yerine miyozin filamentlerin merkezine karşı onları sevk eder onlar kasları aktive eden eksternal güç tarafından direk karşı karşıya çekilir.

Bu hasar primer ve sekonder olarak aşağıdakileri içerebilir,¹⁸

- Ekstrasellüler miyofibril matriks anormallikleri
- Hücre iskeletinde hasar
- Miyofibrillerin kasılma komponentlerindeki aksama
- Sarkotübüler sistemdeki aksama ve şişme
- Sarkolemma da aksama

Z diski uzaması kas hasarına sebep olan egzersizin en belirgin özelliğidir. Bu hasarın egzersizi takip eden ilk günlerde kötüleştiği ve bu hasarsa egzersizden sonraki 2 ya da 3 hafta içinde büyük bir onarımla yapılır. Sadece kas hücrelerin hasarı değil aynı

zamanda eksantrik egzersizden sonraki günlerde kollajenler de bozulma oranı konnektiv doku hasarı oranı artar.¹⁸

Maksimal istemli eksantrik kasılma sırasında kasın güce direnç gösterme yeteneği konsantrik kasılma sırasında güç oluşturabilme yeteneğinden %30 daha fazladır.¹⁸

Eksantrik kasılma gerektiren egzersizlerden sonraki güç kaybının insanlardaki kas hasarının en geçerli ve kabul edilebilir endirekt ölçümü olduğu düşünülür.^{55,90} Konsantrik kasılmalarından kaynaklanan kas gücündeki düşüş %10 ile %30 arasında değişir ve birkaç saat içinde tekrar normal seviyesine ulaşır.^{55,91-93} Eksantrik kasılmalara bağlı güç kaybı % 50 - % 65 arasında olmasından dolayı konsantrik kasılmalarla karşılaştırıldığında toparlanma süresi 1-2 hafta sürebilmektedir.^{55,94-97} Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda eksantrik kasılma sırasında kasın kendi optimal boyunun % 140'nın üzerine çıkması kas üzerinde aşırı bir gerilim doğurur. Egzersizden kaynaklanan güç kaybının öncelikli sebeplerinden birinin kas üzerindeki mekaniksel zorlamalar olduğu ispatlanmıştır. Bu durumun hem kas hasarına, hem de güç üretiminde bir düşüşe neden olduğu gözlemlendi.^{55,98-100} İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda da benzer bulgular görülür.^{55,92,101,102}

Egzersiz başlangıcındaki kas boyunun uzun olmasının kas fibrilleri üzerine daha büyük bir gerilmeye neden olduğunu, bu durumunda bazı sarkomerlerde bir deformasyonla sonuçlandığı biçiminde açıklamaktadırlar.^{55,101} Morgan ve arkadaşları¹⁰³ tarafından yapılan bir çalışmada kas yavaş yavaş gerildiğinde sarkomer boylarının artan baskıyla paralel uzayacağını, fakat ani gerilimin sarkomer boyunda büyük oranda uzamaya neden olacağı ve bazı sarkomerlerin kırılmasına neden olacağını bildirdiler. Egzersizden sonra kassal güç kaybının diğer bir göstergesi düşük frekans yorgunluğu olayıdır.^{55,92,96,103-106} Yapılan hayvansal çalışmalarda bu durumun en önemli

sebeplerinden birinin sarkoplazmik retikulumdaki kalsiyum salınım miktarındaki azalmadır.^{55,105,107,108} Eksantrik egzersizin konsantrik egzersizden daha fazla kas hasarı meydana getirdiğini bildiren çalışmalarda mevcuttur.⁸⁸ Diz kasında tekrar ettirilen eksantrik kasılma ve kas hasarına etkisi üzerine yaptıkları çalışmada tekrar sayısının arttıkça serum CK seviyesinin de arttığını tespit etmişlerdir.⁸⁸

Yapılan başka bir çalışmada 9 denek 1 kolla 12 maksimal eksantrik kasılma yaptırıldı, diğer kolla 100 defa izokinetik kasılma gerçekleştirdiler. İki hafta arayla ölçümler yapılmış, eksantrik kasılma egzersizinde izometrik kasılma egzersizine oranla daha yüksek CK aktivitesi tespit ettiler.¹⁰⁹ Başka bir çalışmada koşu bandında 13 derecelik eğimle yokuş yukarı ve aşağı yürüyüş egzersizinin plazma CK ya etkisi araştırılmış, yokuş yukarı yürüyüş egzersizinde CK egzersizden 24 saat sonra en yüksek seviyesine gelirken yokuş aşağı yürüyüşte 4-7. günlerde en yüksek seviyesine geldiğini bildirdiler.

Özellikle eksantrik kasılmaların yoğun olduğu egzersizlerde kasın yapısal bütünlüğünde önemli oranlarda değişiklikler görülür. Bu yapısal değişiklikler Z diski kopmaları, ince filamentlerdeki kayıp, anormallik gösteren bölgede mitokondri kaybı ve A bandındaki filamentlerin diziliminde bozulma olarak ortaya çıkmaktadır.^{55,90}

Diğer kasılma türlerine göre eksantrik kasılmada hasarın daha fazla olması iki teori ile açıklanmaktadır. İlki motor ünite aktivasyonundaki azalmadır. Bu durum fibril başına düşen yükü artırarak mekanik kopmalara neden olur. İkinci teori ise baskı altındaki kasın başlangıçtaki boyunun çok üzerinde uzamasından kaynaklanan kırılmalardan kaynaklandığıdır.^{55,110}

Alışık olunmayan eksantrik kasılmanın yol açtığı hasar miyofibrillere özgü yapının bozulmasına sebep olur. Özellikle Z bandındaki kopmalara miyofibril iskeletindeki kırılmalar eşlik eder.⁵¹

Eksantrik egzersizden sonra kasta biriken ödemin kas yaralanması ya da enfeksiyondan kaynaklanan ödemden farklı olduğunu bildiren çalışmalarda vardır.¹¹¹

Friden ve arkadaşları,¹¹² egzersizden sonra insanlardaki kas lifi hasarının ilk delillerini ortaya koydu. Tekrarlamalı yaptırılan yokuş aşağı inme aktivitesinden 2 ve 7 gün sonraki soleus kas biyopsilerini aldı. Biyopsi analizlerinde miyofibrillerde bir dağınıklık ve Z disklerinde bir dalgalanma belirledi.

2.2.7. Egzersizde Oluşan Hasarın Önlenmesi

Kasın önceden antrene edilmesi hasar oluşumunu engelleyen bir faktördür. Antrenman hasarı önleyici bir rol oynar.¹¹³ Bunun yanında egzersiz öncesi ısınma, germe egzersizleri, egzersiz sonrası aktif soğuma ve masaj hasarı önleyici etkiler yapmaktadır. Yapılan bir çalışmada egzersizden önce yapılan ısınmanın hasarla ilgili markerleri azalttığı ancak engellemediği tespit edilmiştir.¹⁰⁷ Yapılan başka bir çalışmada ise egzersiz sonrası yapılan hafif konsantrik egzersizlerin oluşan kas hasarını minimuma indirmede tedavi edici etkisinin olduğu bildirilmektedir.¹¹⁴ Egzersiz sonrası buz masajı yapılan grupta CK salınımının azaldığı bildirilmektedir.¹¹⁵ Yapılan başka bir çalışmada da egzersiz sonrası yapılan spor masajının CK seviyesindeki artışı yavaşlattığı ve egzersiz öncesi duruma daha erken getirdiği ileri sürülmektedir.¹¹⁶

Literatürde hasarın önlenmesine yönelik yaklaşımlar hasar oluşumunda rol oynadığı düşünülen mekanizmalara yöneliktir. Bu bağlamda farmakolojik ajanlar olarak östrojen, vitamin E, tamoksifen, kortikosteroidler kullanılmıştır.¹¹³ Yapılan çalışmalarda E vitamininin sıçanlarda hasara yatkınlığı azalttığı tespit edilmiştir.^{74,117-119} Sıçanlar

üzerinde yapılan araştırmada östrojen antagonisti olan tamoksifenin hasarı azalttığı bildirilmektedir.¹²⁰

Egzersizde oluşan hasarın önlenmesine ilişkin çeşitli farmakolojik ajanlar kullanılabileceği gibi, antrenman durumu, egzersizden önce ısınma ve germe hareketleri, egzersiz sonrası masaj uygulamaları ve aktif soğuma hasarı azaltabilir.⁴⁹

2.3. İnflamasyon

Bakteri, travma, kimyasal maddeler, sıcak gibi sebeplerle meydana gelen doku zedelenmesinde bazı ikincil değişmelere neden olan maddeler salınır. Bu maddelere inflamatuvar maddeler ve bunların oluşturduğu değişikliklere inflamasyon denir.⁶ İnflamatuvar maddeler makrofajları aktive ederek haraplanmış dokuyu ortadan kaldırılmaya çalışılır. Fakat makrofajlar canlı dokuya da zarar verebilirler.⁶ İnflamasyonun ilk sonuçlarından biri hasara uğrayan doku ile sağlam doku arasında bir duvar oluşmasıdır. Doku aralıkları ve inflamasyon bölgesindeki lenfatikler fibrinojen pıhtısıyla blok edilir. Bu şekilde sıvı güçlkle akar ve bakteri ya da toksik ürünlerin yayılması engellenir.⁶ Dokuda hazır bulunan makrofajlar istilacı ajan ile ilk karşılaşılır ve derhal fagositik aktiviteye başlarlar. Enfeksiyonun ilk birkaç saati içinde savunmanın ilk hattı olarak fonksiyon görürler.

Nötrofili (lökositoz): nötrofil sayısının artması demektir. İnflamasyondan birkaç saat sonra nötrofil sayısı 4-5 kat artar ve mm³ kanda 15000 ila 25000'e ulaşır. Bu, inflamasyon alanından salınan lökosit indükleyici faktörün kan vasıtasıyla kemik iliğine ulaşmasıyla olur. Kemik iliğinde depo haldeki nötrofiller dolaşıma geçirilir. İnflamasyona uğrayan doku ürünleri nötrofillerin inflamasyon alanına hareketine sebep olur. Doku haraplanması başladıktan birkaç saat sonra alan nötrofillerle iyice donatılır.⁶

Üçüncü savunma hattını makrofaj sayısının yavaş ve devamlı artması oluşturur. Bu kısmen hazır bulunan makrofajların çoğalması, kısmen de çok sayıda monositin inflamasyon alanına geçmesi ile oluşur. Nötrofiller ve makrofajlar çok sayıda bakteri ve nekrotik doku yuttukları zaman tüm nötrofiller ve makrofajların büyük bir kısmı da ölür. Bu alanda birkaç gün sonra nekrotik doku ve ölü akyuvarların bulunduğu bir kavite açılır.⁶

2.3.2. Nötrofil (Lökosit) İnfiltrasyonunun Kas Hasarı İle İlişkisi

Bir gerilme veya mekanik kuvvetlerin neden olduğu bir kas veya yumuşak doku hasarı polimorf nüveli nötrofil (PNN) aktivasyonunu başlatabilir. PNN hasara uğrayan hücreler tarafından üretilen kemotaktik faktörler tarafından doku hasarı (injury) bölgesine göç ederler ve fagositoz sırasında lizozomal enzimler ve O_2^- salarlar. Lizozomal enzimler hasara uğramış protein ve hücre artıklarının yıkımını kolaylaştırır. O_2^- miyeloperoksidaz ve NADPH oksidaz tarafından oluşturulur.¹²¹ Bu inflamatuvar yanıt, hasarlı proteinlerin ortadan kaldırılması ve bakteriyel ve viral enfeksiyonların önlenmesi açısından önemlidir. Ancak, nötrofillerden salınan reaktif oksijen metabolitleri (ROS) ve diğer oksidanlar lipid peroksidasyonu gibi ikincil hasarlara neden olabilirler

Şüphesiz düzenli egzersiz, organizmanın bütün sistemlerine olduğu gibi bağışıklık sistemine de olumlu yönde etki yapmaktadır. Lökositler organizmanın savunma sisteminin temel yapıtaşlarıdır.^{26,122} Uzun süreli egzersizler ve kuvvet egzersizleri lökosit kompozisyonunda ve konsantrasyonunda kayda değer değişiklikler meydana getirdiği bilinmektedir.¹²³⁻¹²⁵

Egzersiz esnasında baskın olarak lenfosit aktive edilerek dolaşıma girer.¹²⁶

Granülositler; nötrofil, bazofil ve eozinofillerden oluşmaktadır. Nötrofiller egzersize yüksek cevap veren lökosit tipidir. Nötrofiller dolaşımdaki lökositin % 50-60'ını oluştururlar. Bu hücreler bağışıklık sisteminin bir parçasıdır. Patolojik ve farklı inflamasyon şartlarında bağışıklık görevini üstlenirler.¹²⁵ Nötrofillerin fonksiyonuna egzersiz kısa süreli ve uzun süreli etkiler yapar. Nötrofil mikrobiyal ölüm, oksidatif yanma, degranulasyon, fagositoz ve kimyasal toksinler tarafından uyarılırlar. Genelde orta düzey egzersizde kimyasal toksin, oksidatif yanma ve fagositoz koşullarının oluşmasıyla nötrofiller uyarılır.^{127,128}

Egzersizin dolaşımdaki nötrofilleri artırmasındaki temel etkenler egzersizin yoğunluğu ve süresidir.^{129,130} Bu nötrofillerin artışı yüksek ihtimalle epinefrinin salınımının artmasıyla ilgilidir. Kas hasarı ve ısı gibi stresler nötrofilin egzersize cevabını arttırırlar. Egzersizin sebep olduğu kas hasarından 2-3 saat sonra nötrofil anlamlı şekilde yükselir.¹²⁷ Yüksek ihtimalle iltihaplanmada olduğu gibi kas hasarında da nötrofilin kemik iliğinden salınımı artar.

Mikro travmadan kaynaklanan iltihaplanma lökositin kas içerisine geçmesinde güçlü göstergedir. Yapılan çalışmalarda yüksek eksantrik kasılmayla insan iskelet kasındaki hasarın iltihaplı hücrelerin birikmesine yol açtığı tespit edilmiştir. Maraton gibi uzun süreli egzersizlerde nötrofil birikmesi egzersizden dakikalar sonra başlar ve hasarlı kas hücrelerine girişleri 5-7 gün boyunca sürer. Yapılan çalışmalarda makrofajın egzersizden sonraki ilk gün içerisinde arttığı ve en yüksek seviyeye 3-14. günler arasında geldiği bildirilmektedir.¹³¹ Aktif sporla uğraşan kişiler de akut egzersiz sonucu T Lenfosit yapısının ve yeteneklerinin değişmediği düşünülmektedir.¹³²

Hazar ve arkadaşlarının⁴⁹ yaptığı çalışmada hem maksimal kuvvet egzersizinin hem de kuvvette devamlılık egzersizinin lökosit bileşenlerinde kayda değer değişiklikler

meydana getirdiği tespit edilmiştir. Her iki egzersiz türü de lökosit miktarını arttırırken, maksimal kuvvet egzersizi daha yüksek lökositin dolaşıma girmesine neden olmaktadır. Bağışıklık sisteminin akut cevabının, kuvvette devamlılık egzersizine oranla maksimal kuvvet egzersizinde daha yüksek olduğu söylenebilir.

2.4. Serbest Radikaller

Atom, bir çekirdek ve etrafında bulunan değişik sayıda elektrondan oluşmaktadır. Elektronlar belirli enerji düzeylerinde orbit adı verilen yörüngelerde hareket ederler. Elektronlar orbital de çiftleşmişse stabil hallerini korurlar. Ancak en dış yörüngede bulunan elektron çiftinin dengesi, yörüngeye bir elektron girmesi ya da çıkmasıyla bozulmuştur artık bu tek elektron; atoma büyük bir aktiflik kazandırır.¹³³

Bu şekilde oluşan dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunan atom veya moleküle *serbest radikal* denir. Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip olduğundan kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Çoğu olayda serbest radikal üretimi, pato-mekanizmanın bir parçasıdır.¹³³⁻¹³⁷

2.4.1. Serbest Radikallerin Oluşum Yolları

Serbest radikaller, radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektronun çıkmasıyla veya radikal olmayan bir atom veya moleküle bir elektronun ilavesiyle oluşurlar. Hem organik hem de inorganik moleküller halinde bulunurlar.^{137,138}

2.4.2. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar.¹³⁶ Yani bu moleküller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de ilaçların ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisiyle oluşabilmektedir.¹³⁹

Serbest radikallerin ekzojen kaynakları; ilaçlar, metal iyonları, kirleticiler, radyasyon, karbon tetraklorür(CCl_4), pestisidler.^{136,139}

Serbest radikallerin endojen kaynakları;

a. Küçük Moleküllerin Oksidasyonu

Çözünebilir özelliği olan ve nötral sıvı ortamda oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına girebilen hücre komponentlerinden pek çoğu intrasellüler olarak serbest radikalleri açığa çıkarırlar.^{7,138}

b. Enzimler ve Proteinler

Ksantin oksidaz, oksijenin hidrojen peroksit redüksiyonu sırasında süperoksit radikalini meydana getirir. İn vivo olarak oluşturulan iskemi, ksantin oksidazı, dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüştürürken süperoksit radikalini açığa çıkarır. Benzer şekilde flavoprotein dehidrogenaz, triptofan deoksijenaz gibi enzimler de radikal oluşmasına neden olurlar.^{7,138}

c. Mitokondriyal Elektron Transportu

Mitokondriyal oksidasyon kimyası normalde dört tek elektron transfer reaksiyonundan oluşur. Oksijenin çoğu hidrojenle birleşip suyu oluştururken, tüketilen oksijenin en çok % 4-5 kadarının elektronların solunum zincirinden kaçması nedeniyle süperoksitleri oluşturacaklardır. İzole mitokondri ve submitokondriyal partiküllerle yapılan çalışmalarda, mitokondriyal serbest radikallerin kaynağının, iç mitokondriyal membranda yer alan elektron transport zinciri olduğu anlaşılmıştır. Başta süperoksit radikali olmak üzere hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit mitokondri içinde ya kendiliğinden veya enzimatik yolla meydana gelir.^{7,138,140}

Maksimal egzersiz sırasında, tüm vücut oksijen tüketimi (VO_2) 20 kat artarken, kas lifi düzeyinde oksijen tüketiminin 100 katına kadar arttığı tahmin edilmektedir

Egzersizin mitokondriyal ROS üretimini arttırdığı önermesi, büyük ölçüde şiddetli egzersiz sırasında doku ve tüm vücut oksijen tüketimindeki aşırı artışa dayanır.¹⁴¹

Mitokondrilerin egzersiz sırasında primer ROS oluşum yeri olduğuna dair hipotez, mitokondriyal oksidatif hasarı gösteren dolaylı veriler tarafından desteklenmektedir.

Örneğin, egzersiz sonrasında, oksidatif enzimlerin inaktivasyonu ve protein tiyol içeriği kaybının eşlik ettiği, mitokondriyal lipid peroksidasyonu artışı saptanmıştır.¹⁴²

d. Endoplazmik Retikulum ve Nükleer Membran Transport Sistemleri

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda serbest radikaller, membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan meydana gelirler.^{7,138}

e. Peroksizomlar

Peroksizomlar, güçlü hidrojen peroksit kaynağıdır.^{7,138}

f. Plazma Membranları

Ekstrasellüler olarak açığa çıkan serbest radikaller hücrenin diğer kısımları ile reaksiyona girebilmek için ya önce plazma membranını geçmelidir, ya da toksik reaksiyonların membranda başlatılmalıdır. Membranda bulunan fosfolipidler, gliseridler, steroller gibi yağ asitleri ve kolay okside olabilen amino asitleri içeren transmembran proteinleri serbest radikal hasarına açıktır.^{7,138}

2.4.3. Serbest Radikal Hasarı Riski Altındaki Hücresel Komponentler

Serbest radikaller hücrelerin lipidler, protein, DNA, karbonhidrat, enzimler ve diğer molekül grupları ile reaksiyona girerek onların metabolizmalarını etkilerler.^{137,143-}

146

1. Membran Lipitleri

Lipid peroksidasyonu: Serbest radikallerin hücrede başlattığı en önemli ve zararlı etki lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksitler de oksijenin serbest radikalleri gibi benzer hücresel komponentler üzerinde toksik etkilerini gösterirler. Lipid radikallerin hidrofobik yapıları nedeni ile reaksiyonların büyük çoğunluğu membrana bağlı moleküller ile meydana gelecektir. Membran yağ asitlerinin peroksidasyonundan sonra ortamda kısa zincirli yağ asitlerinin varlığı membran permeabilitesini ve mikroviskoziteyi ciddi boyutlarda etkileyebilir.^{7,138}

Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur.

MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir.^{136,147-149}

2-Proteinler

Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler.

Protein oksidasyonu: Serbest radikaller ile oluşan protein oksidasyonu, proteinlerin bağlanma özelliklerinde ve enzim aktivitelerinde farklılaşmaya neden olarak hücre fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilir.^{7,138}

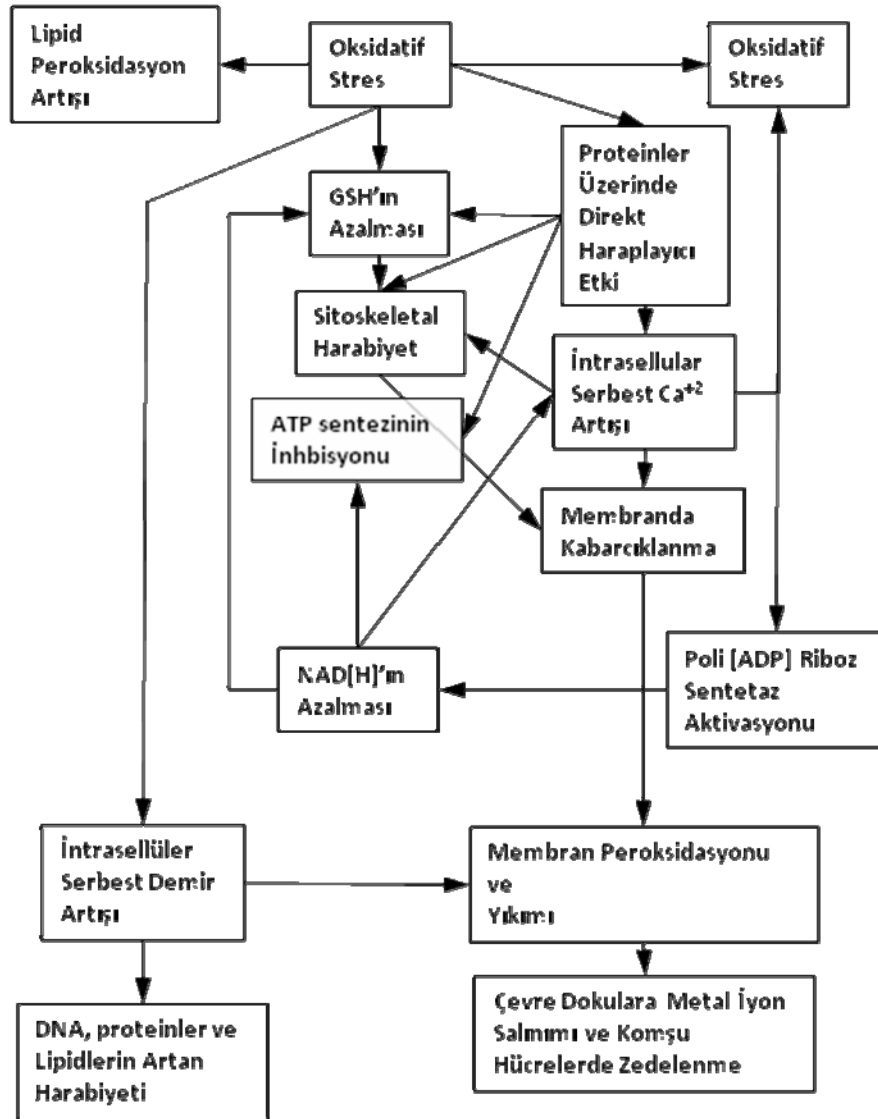
3. Nükleik Asitler ve DNA:

Radyasyonla hücre içinde enerji depolanması sonucu iyonlar, serbest radikaller ve aktif moleküller meydana gelir. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı

etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksiste, büyük oranda, ya nükleik asit baz modifikasyonlarında doğan kromozom değişikliklerine, ya da DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. DNA sarmalında bulunan dört bazın tümünde de hidroksilasyon meydana gelmektedir.^{7,138}

4.Sitozolik Moleküller

Sitozol proteinleri, sitoplazmik serbest radikaller nedeniyle etkilenecek değişime uğrarlar.^{7,138}



Şekil 2.5 Organizmada multifaktöriyel oksidatif hücre harabiyeti ve sonuçları

2.4.4. Serbest Oksijen Radikalleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. İlk defa 1969 yılında Mc Cord ve Fridovich'in¹⁵⁰ yapmış olduğu bir çalışmada Süperoksit Dismutaz (SOD)'ın enzimatik fonksiyonları ve biyolojik sistemlerde Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)'nin varlığı gösterilmiştir.

Canlılarda oksijen hem hücre yaşamının sürdürülmesi için kimyasal enerji üretiminde, hem de bazı endojen bileşiklerin oksidasyonu ve ksenobiotiklerin zararsız hale getirilmesinde kullanılır. Vücutta moleküler oksijenin % 95'i enzimatik işlemlerle suya çevrilirken kalan % 5'i bir elektron eklenerek değişik bileşikler oluşturulur.¹⁵¹

Serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Oksijen bir oksidan ajandır. Normal koşullarda moleküler oksijenin çoğu sitokrom sistemi gibi hücre içi sistemler içinde görev alır. Fakat % 1-2 oranında bu yoldan sızan oksijen, serbest oksijen radikalleri denen birçok reaktif ürünü açığa çıkarır.^{7,152}

Serbest oksijen radikallerinin oluşum basamaklarında öncelikle tek elektron transferi ile moleküler oksijen süperoksit serbest radikale dönüşür. Süperoksitin zararlı etkilerinin tam olarak anlaşılamamasına rağmen, yüksek derecede toksik olduğuna dair pek çok çalışma bulunmaktadır.¹⁵³⁻¹⁵⁶

Bu radikalden spontan ya da enzimatik dismutasyon ile ikinci bir ara ürün, hidrojen peroksit ortaya çıkar. Süperoksite iki elektron eklenmesi ile hidrojen peroksit oluşur. Hidrojen peroksit, kendi başına hücreler üzerinde toksik etkilere sahiptir, çünkü hidrojen peroksit hücrelerle inkübe edildiğinde DNA harabiyeti, membran yıkımı ve hücre içinde kalsiyum iyon salınımına neden olur.¹⁵²

Hidrojen peroksit, bir protonun eklenmesi sonucu su ve hidroksil radikale dönüşür. Hidroksil radikal de suya dönüşür. Hidroksil radikalının en iyi tanımlanmış

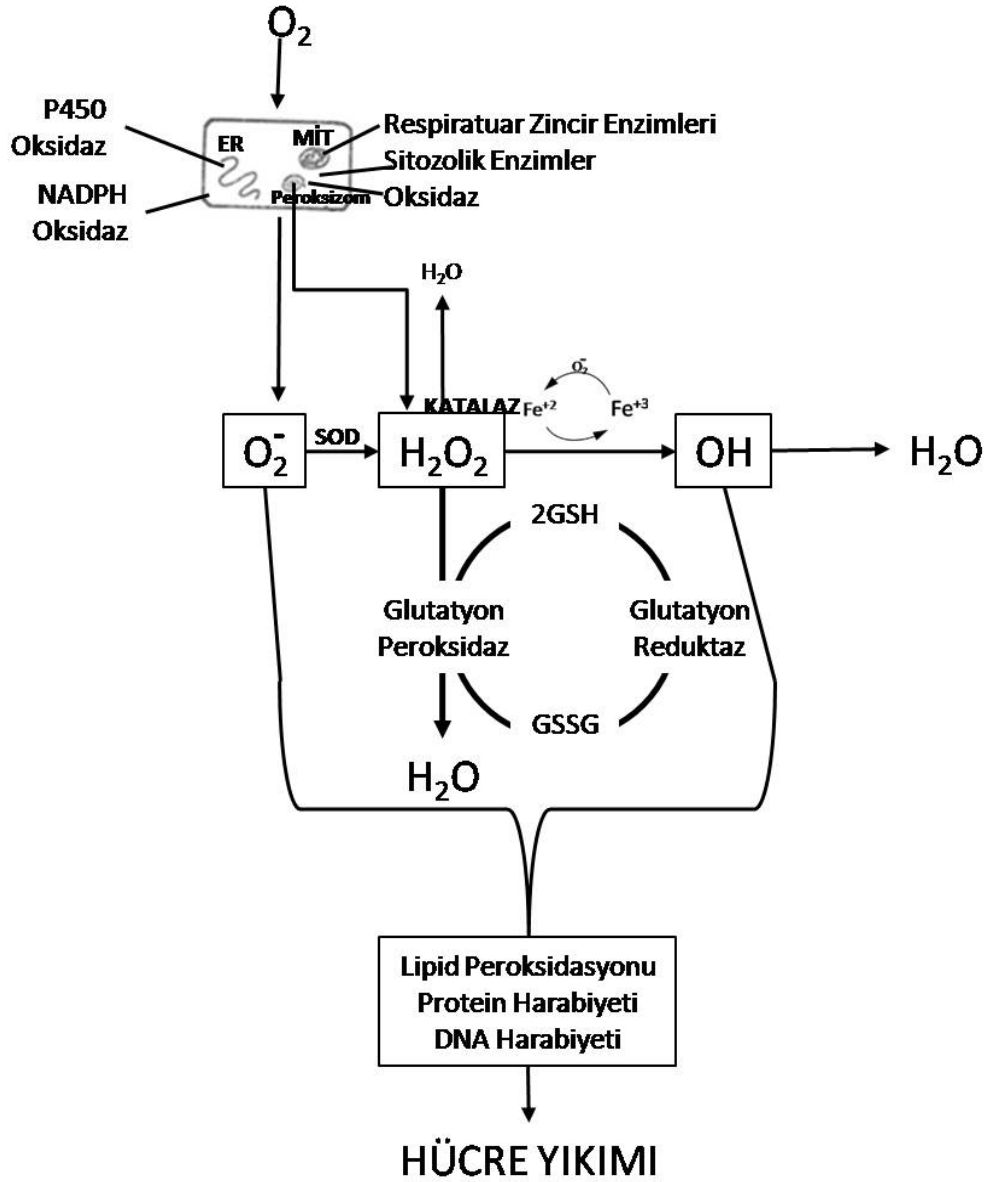
biyolojik hasarı lipid peroksidasyonunu artırmasıdır. Bu durum hidroksil radikallerinin membranlara yakın bir yerde üretilmesi ve membran fosfolipid zincirinin yağ asidi tabakasına atak yapması ile meydana gelir.¹⁵³

Nitrik oksit ise fizyolojik bir serbest radikal olup gevşetici bir ajan olarak damar endotelinde, fagositlerde ve beyinde yapılır. NO ve NO₂ eşleşmemiş elektrona sahip birer radikaldirler. NO kokusuz, renksiz ve az indirgenebilen oksidan bir gazdır. Son yıllarda radikal olan nitrik oksit üzerinde oldukça fazla durulmaya başlanmıştır. NO₂, nitrik oksitin oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelir. NO₂ oldukça toksik ve çok güçlü bir oksidandır.^{135,153,157-160}

Singlet Oksijen (¹O₂); ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur.^{153,161,162}

Diğer Radikaller

Serbest oksijen radikallerinin etkisi ile karbon merkezli radikaller (R), peroksil radikalleri (ROO), alkoksil radikalleri (RO), tiyol radikalleri (RS) gibi önemli serbest radikaller de oluşabilir.¹⁵³



Şekil 2.6 Biyolojik sistemlerde reaktif oksijen metabolitlerinin açığa çıkışı ve ilgili antioksidan mekanizmalar

2.4.5. Serbest Radikaller ve İnflamatuvar Cevap

Serbest radikaller, inflamatuvar cevabı ve ardından gelen doku hasarını modüle etmede önemli rol oynarlar. İnflamatuvar hücre kaynaklı serbest radikallerin oluşturduğu hasardan en çok etkilenen ekstrasellüler doku bileşenleri kollajen ve hyaluronik asittir. Kollajen, süperoksit radikalının jelasyonu engellemesi sonucu harap olur. SOD, kollajeni süperoksit radikalının jelasyonu inhibe edici etkilerinden korur,

eklemde, sinoviyal sıvının viskozitesini sağlayan hyaluronik asit süperoksit radikali tarafından depolimerize edilebilir, radikalleri ortadan kaldıracı enzimler söz konusu depolimerizasyona engel olurlar. Ekstrasellüler sıvılar çok az miktarda SOD içerdiğinden serbest radikallerin eser miktarları bile bu kompartımanda büyük hasara yol açabilir.^{7,138}

Aktive olmuş inflamatuvar hücrelerde meydana gelen süperoksit ve diğer oksijen türevleri bir plazma komponenti ile reaksiyona girerek ilerde inflamatuvar hücre infiltrasyonuna neden olacak kemotaktik faktör ya da faktörlerin açığa çıkmasını sağlar. Bu plazma faktörünün lökositlerden açığa çıkışı süperoksit tarafından inhibe edilebilirler.^{7,138}

Reaktif oksijen metabolitlerinin aşırı miktarlarda üretimi, hücre harabiyeti oluşturabilir. Bunlardan hidrojen peroksit, hızla çevre hücrelere geçerek hem glikolitik ve hem de oksidatif fosforilasyon yollarını etkilerken ATP sentezinin inhibisyonuna da neden olmaktadır.¹⁵²

2.5. Oksidatif Stres

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge de olduğu sürece, organizma etkilenmez ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme zararlı olmaya başlar ve bu dengenin bozulmasına neden olur. “Oksidatif stres” olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizlik, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır.^{139,151}

2.6. Antioksidan Savunma Sistemler

Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir.¹³⁹

Antioksidanlar etki mekanizmalarını serbest radikalleri tutarak veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirerek, serbest radikalle etkileşip aktivitelerini azaltarak, serbest radikalleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak ya da onarım yaparak gösterirler.¹⁶³⁻¹⁶⁵

Antioksidanlar doğal (endojen kaynaklı) ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalin meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler.^{166,167}

Antioksidanlar doğal (endojen kaynaklı) ve ekzojen kaynaklı olmak üzere iki gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalin oluşumunu önleyenler ve mevcut olanı etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler.¹⁶³

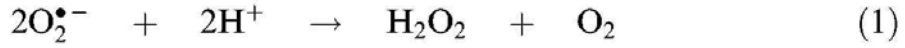
2.7. Enzimatik Antioksidanlar ve Egzersiz

Antioksidan moleküller endojen ve ekzojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi (enzimler) hem de hücre dışı (enzim olmayanlar) savunma ile etkisiz hale getirilirler. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) ve sitokrom oksidazdır. Enzimatik olmayanlar

ise tokoferol, β karoten, askorbik asit, ürat, sistein, seruloplasmin, bilirubin, transferrin ve albümindir.^{151,164,165,168}

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit radikallerine karşı birincil hücrel savunma SOD tarafından sağlanır. SOD ilk olarak 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanmış olup bu enzim süperoksit (O_2)'in, süperoksit dismutaz enzimi tarafından hızla O_2 ve H_2O_2 'e dönüştürülür. Dismutasyon reaksiyonu sırasında, bir süperoksit radikali oksijene yükseltgenirken bir başka süperoksit radikali ise hidrojen perokside (H_2O_2) indirgenir. SOD aslında proteinin aktif bölgesindeki metale göre farklılaşan bir enzim ailesidir. İnsanda ve diğer memelilerde iki izoenzimi vardır. CuZnSOD başlıca sitozolde MnSOD ise başlıca mitokondriyal matrikste bulunur. Sitoplazma, mitokondri ve ekstrasellüler sıvılarda bulunan SOD iki Cu ve iki Zn atomu içerirken, mitokondrinin matriks boşluğunda lokalize olan MnSOD'dir.¹⁵²



Antioksidan enzimlerden en önemlisi olan SOD, hepatositlerin, eritrositlerin ve beyin hücrelerinin mitokondri matriksinde bulunur. Kararlı bir yapıya sahiptir.^{169,170}

Ayrıca bu enzimin demir içeren (FeSOD) ve manganez içeren (MnSOD) tipleri prokaryotlarda bulunurken, bakır ve çinko içeren tipi (CuZnSOD) ise genellikle bitkiler, hayvanlar ve mantarlarda bulunur.¹⁷¹

SOD aktivitesi oksidatif kasları fazla olan (tip I ve IIa liflerinden zengin) iskelet kaslarında oksidatif kapasitesi düşük (tip IIb'den zengin) iskelet kaslarına nazaran daha yüksektir.^{152,172}

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px selenyum içeren, sitozol ve mitokondride bulunan bir enzimdir.¹⁷¹ (Şekil 2.7) Glutasyon peroksidaz, elektron verici olarak indirgenmiş glutasyonu (GSH) kullanarak, okside glutatyona dönüştüğü reaksiyonda hidrojen peroksiti kullanır ve böylece hücre içinde hidrojen peroksit birikimine engel olur.¹⁵² H_2O_2 yeniden H_2O ve O_2 oluşturmak üzere glutasyon peroksidaz (GSH-Px) veya katalaz tarafından uzaklaştırılır. GSH-PX H_2O_2 'e karşı en önemli savunma olarak kabul edilir.

Dokular genellikle hem selenyum bağımlı hem de selenyum bağımsız GSH-Px aktivitesi gösterirler. Selenyum bağımlı GSH-Px H_2O_2 'in H_2O 'ya dönüştürürken, Selenyuma bağımlı olmayan GSH-Px organik hidroperoksitlerin alkole indirgenmesi reaksiyonlarını katalize eder.^{165,166,173,174}



GSH-Px aktivitesi tip I liflerinde en fazla ve tip IIb liflerinde en az olmak üzere kas lifi tipine göre değişiklik gösterir. GSH-Px enziminin hem sitozolde hem de mitokondrilerde yerleşmesi, onun hücrede değişik kaynaklardan gelen hidrojen peroksit ve hidroperoksitleri uzaklaştırabilmesini sağlar.¹⁷⁴

Glutasyon redüktaz (GR)

GSH-Px'ın fonksiyon görebilmesi için bir GSH kaynağına ihtiyacı vardır. Bu reaksiyonun indirgeyici gücü olarak NADPH kullanılır.



GR, primer bir antioksidan enzim olarak düşünülmesine de GSH-PX enziminin normal antioksidan fonksiyonunu sürdürebilmesi için vazgeçilmezdir.¹⁷⁴

Glutasyon-S Transferaz (GST):

Hücrede en çok bulunan ve protein olmayan tiyol (-SH) kaynağıdır. Hücre içi ortamı redükte (indirgenmiş) halde tutma ve dokuları oksidatif hasardan koruma ile ilgili birçok fonksiyon görür.^{174,175}

İskelet kası ve kalpte egzersiz sırasında ROS üretim artışına bağlı olarak önemli miktarlarda GSH, glutasyon disülfide (glutasyon disülfide – GSSG) okside olmasına rağmen, GSH redoks durumu anlamlı bir şekilde değişmez, çünkü GSSG indirgeyici kuvvet olarak NADPH kullanan glutasyon redüktaz (GR) tarafından tekrar GSH'a redükte edilir. Hatta egzersiz yapan kasların plazmadan γ -glutamil siklus yoluyla GSH alımları artıyor gözükmemektedir.¹⁷⁴⁻¹⁷⁷

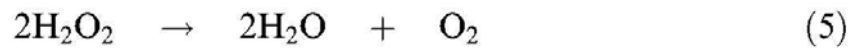
Ancak, uzamış yorucu egzersiz sırasında, hepatik GSH rezervleri azalmış ve GSH kullanımı GSH uptake (tutulum)'ini aşmışsa, plazma ve kas GSH düzeyleri sonunda azalabilir.^{174,178,179}

Katalaz (CAT)

Katalaz birçok dokuda peroksizomlarda bulunan ve demir içeren bir enzimdir. Katalaz eritrositlerde yüksek oranda, kalp kası ve endotelde ise düşük oranda bulunur.¹⁷¹

Katalaz (CAT) 4 tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Görevi H_2O_2 'i oksijen ve suya parçalamaktır.^{166,180,181}

Katalaz, SOD tarafından inhibe edilmesi sırasında oluşan H_2O_2 'i su ve moleküler oksijene parçalayarak elimine etmektedir.^{172,182}



Katalaz, H_2O_2 'e spesifiktir, diğer organik peroksitlere etki etmez.^{165,173}

Memeli GSH-PX enzimi düşük konsantrasyonlardaki H_2O_2 için CAT'a nazaran daha yüksek bir afiniteye sahiptir (K_m değeri GSH-Px için 1 μM iken, CAT için 1

mM'dır). Kas hücresinden H_2O_2 'in uzaklaştırılmasında GSH-Px daha aktif bir rol oynar.

CAT'ın primer fonksiyonu H_2O_2 'in parçalanmasını katalize etmektir SOD ve GSH-Px'a benzer şekilde CAT aktivitesi de oksidatif kaslarda (tip I) en yüksek, buna karşılık büyük oranda hızlı (tip II) kas liflerinden oluşan kaslarda ise en düşüktür.

2.7.1. Akut Egzersizde Oksidatif Stres

Egzersiz serbest radikal üretimini farklı sebeplerle artırabilir. Egzersizde oksijen tüketimi birçok kat artar. Mitokondriyal elektron transfer zincirinden elektron sızıntısı süperoksit radikal üretiminde artışa sebep olur. Şiddetli egzersizde aktif kaslar hipoksik olabilir. İskemide anaerobik metabolizmayla ksantin üretilir ve ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüştürülür. Egzersiz sonucunda oluşan doku hasarı daha sonra NADPH oksidaz tarafından serbest radikal üretimi ile nötrofil gibi inflamatuvar hücrelerin aktivasyonuna neden olabilir. Egzersiz sırasında katekolamin konsantrasyonu artar ve bu da ROS'un otooksidasyonu (kendi kendine yükseltgenme) ile sonuçlanır.¹⁸³ Egzersizin neden olduğu hipertermi oksidatif hasara neden olabilir.¹⁸⁴ Oksihemoglobinin methemoglobine otooksidasyonu egzersiz ile artabilir, bu da süperoksit üretimiyle sonuçlanır.^{169,185}

Antioksidan enzimlerin akut egzersize yanıtı

İskelet kası egzersiz sırasında artan ROS üretimine bağlı olarak karaciğer ve kalpten daha çok oksidatif strese maruz kalabilir. Bu nedenle, iskelet kası egzersiz sırasında ve/veya egzersizden sonra oluşabilecek potansiyel bir oksidatif hasara karşı daha fazla antioksidan korunmaya ihtiyaç duyar.

Akut egzersizin MnSOD'den ziyade CuZnSOD'i arttırdığını gösterilmiştir.

SOD aktivasyonunun egzersiz sırasında artan O_2^- üretiminden kaynaklandığı varsayılır.¹⁸⁶ Nitekim, Radak ve arkadaşlarının¹⁸⁷ bir çalışmada 60-70 dakika süren tek bir yorucu treadmill koşusu sonrasında sıçan soleus ve tibialis kaslarında hem CuZn hem de MnSOD enzim aktiviteleri ve immünoreaktif enzim içeriklerinde anlamlı artışlar olduğunu göstermişlerdir. Oh-ishi ve arkadaşları,¹⁸⁸ antrene olmayan sıçanların soleus kasında hem CuZn- hem de MnSOD'nin mRNA düzeylerinde anlamlı bir azalma (downregulation) olduğu halde, antrene sıçanlarda bu azalmanın izlenmediğini göstermişlerdir.

Bejma ve arkadaşları¹⁸⁹ hücre içi prop olarak dichlorofluorescein (DCFH) kullanarak, yorucu egzersiz yaptırılan genç ve yaşlı sıçanların vastus lateralis kas homojenatlarında ROS üretim hızının anlamlı bir şekilde arttığını göstermişlerdir. Kalpte egzersize bağlı ROS üretimi artışı sadece yaşlı sıçanlarda arttığı saptanmıştır.

2.7.2. Düzenli Egzersizde Antioksidan Savunma

Düzenli egzersiz, akut egzersizin yol açtığı oksidatif stresi azaltmak için adaptasyona neden olabilir. Süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırmak suretiyle oksidatif stresin zararlı etkilerini ortadan kaldırdığı gösterilmiştir.^{169,190}

Antioksidan enzimler üzerine antrenmanın etkileri

İskelet kası süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesini arttırmada yüksek yoğunluklu egzersize, düşük yoğunluklu egzersize göre genellikle daha üstün olduğunu gösterilmiştir.^{191,192}

Egzersize bağlı SOD indüklenmesinin oksidatif özelliği fazla olan iskelet kaslarında daha çok olduğu fark edilmiştir.¹⁹¹ Dayanıklılık antrenmanının sıçan iskelet kaslarında SOD izoformlarının aktiviteleri üzerine etkileri incelenmiştir.¹⁹²

Yetişkin dişi Sprague-Dawley sıçanlar treadmill üzerinde 10 hafta koşturulmuşlardır. Antrenmanın arka bacak iskelet kaslarında hem MnSOD hem de CuZnSOD aktivitelerini arttırdığı görülmüştür.¹⁹¹

Literatürde dayanıklılık antrenmanının aktif iskelet kaslarında glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesini genellikle arttırdığı konusunda fikir birliği vardır.^{178,193} İskelet kası GSH-Px aktivitesinin artırılmasında uzun süreli antrenman, kısa süreli antrenmana üstündür. Yine, antrenmana bağlı olarak indüklenen GSH-Px aktivitesi artışı genellikle oksidatif (yani tip I ve tip IIa lifleri) iskelet kasları ile sınırlıdır.¹⁹¹ Ayrıca, dayanıklılık antrenmanı mitokondriyal fraksiyonda daha fazla olmak üzere, hem sitozolik hem de mitokondriyal GSH-Px aktivitesinde artışa neden olur.¹⁹⁴

SOD aktiviteleri dokular ve çeşitli kas tipleri arasında rölatif olarak üniform dağılım gösteren ve yeterince yüksek aktiviteye sahip görünmektedirler, bu da süperoksit anyonunun uzaklaştırılmasının hız sınırlayıcı adım olmadığını düşündürmektedir. Buna karşılık GSH-Px, ROS oluşum yolağı son ürünlerini (örneğin hidrojen peroksit, lipid ve nükleotid peroksitlerini içeren organik peroksitler) yok eder ve aktivitesi rölatif olarak daha düşüktür. Bu durum GSH-Px'ın SOD ve CAT'a nazaran genellikle neden daha fazla antrenmana uyum gösterdiğini açıklayabilir.¹⁹⁵

Tüm hücrelerde bol miktarda bulunan glutatyonun,¹⁷⁴ iskelet kasının egzersize bağlı oksidatif strese uyumunu GSH içeriğini arttırarak yaptığına dair kanıtlar artmaktadır. Yüksek yoğunluklu ve uzun süreli dayanıklılık antrenmanının köpek¹⁷⁸ ve sıçanların^{196,197} arka bacak kaslarında GSH içeriğini arttırdığı gösterilmiştir.

İskelet kasında GSH'un antrenmana uyumu kas lifi tipine özgü gibi görünmektedir. Uyumdaki bu kas lifi tipindeki varyasyonun açıklaması her bir kas lifi

tipi içindeki GSH kullanımına karşı GSH tutma oranıyla ilişkili olabilir. Bu açıdan bakıldığında, gamma-glutamil siklus enzim aktiviteleri önemli bir rol oynayabilir. Örneğin, dayanıklılık antrenmanı sıçan derin (deep) vastus lateralis kasında GSH içeriğinde anlamlı bir artış oluşturmuştur. Buna karşılık, soleus ve yüzeysel (superficial) vastus lateralis kaslarındaki GSH içeriğinde antrenmana bağlı bir artış gözlenmemiştir.¹⁹⁷

Ağır fiziksel egzersiz iskelet kası ve diğer dokularda serbest radikal üretimini artırır. Mitokondriyal elektron transport zinciri boyunca artan oksijen muhtemelen serbest radikal oluşumunun esas kaynağıdır. Oksidatif hasar bir akut egzersiz periyodu sırasında veya sonrasında artabilir. Antioksidan savunma sistemi oksidatif strese karşı korunmada hayati önem taşır.¹⁶⁹

2.8. Östrojen

Hormonlar kimyasal olarak 3 tipe ayrılırlar.

1-Steroid Hormonlar: Kolesterol gibi steroid bir çekirdek içerirler. Genellikle kolesterolde sentezlenirler. Kortizol, aldosteron, östrojen, progesteron, testosteron.

2-Tirozin amino asit türevleri: tirozinden üretilen hormonlardır. Tiroksin, triiyodotironin, adrenalin ve noradrenalin.

3-Proteinler veya peptidler: Ya protein veya peptidler veya onların ürünleridirler. ADH, oksitosin, insülin, glukagon, parathormon ve ön hipofiz hormonları.

Östrojenler: 18 karbonlu steroidlerdir. Steroid hormonlar pek depo edilmezler. Ancak kolesterol gibi ön molekülleri depo edilir. Uygun stimulus ile dakikalar içinde üreterek salgılanırlar.⁶

Östrojen Sentezi, östrojen ve progesteronların tümü steroid yapıdadır. Östrojenlerin sentezi FSH tarafından kontrol edilir. Sentez yeri; overlerde Graaf

folikülün granüloza hücreleridir. Östrojen ve progesteron overlerden siklik bir şekilde salınır. Menstrüel siklusun ilk yarısında östrojen salgısı hâkimdir. İkinci yarıda ise progesteron siklusu hâkim duruma geçer. Bu hormonlar başlıca, overlerde kandan alınan kolesterolden az miktarda da asetil koenzim-A'dan sentez edilirler. Uygun steroid çekirdeğinin oluşumunda birçok moleküllerin birleşmesi gerekir. Sentez sırasında ilk oluşan hormon progesteron ve erkek cinsel hormonu, testosterondur. Bu hormonlardan testosteronun tümü ve progesteronun büyük bir kısmı granüloza hücrelerinde östrojenlere dönüşür. Siklusun luteal fazında ise hormonların çoğunluğu progesterona dönüşür. Böyle olmasına karşın, kadında overlerden plazmaya serbestleyen testosteron miktarı, erkekte testislerden plazmaya salgılanan miktarın 1/15'ine ulaşmaktadır. Adrenal bezde sentezlenen androstenedion periferde östrojenlere dönüştürülür. Östrojen reseptörleri sitoplazmiktir.⁶

Östrojenlerin Çeşitleri; Kadının plazmasında önemli miktarlarda, üç tip östrojen görülür: β -östradiyol, östron ve östriyol. Bu hormonların formülleri şekilde verilmiştir. Overlerden salınan en önemli östrojen β -östradiyol'dur. Bu organların östron salgısı çok az miktardadır.

Östron çoğunlukla, adrenal korteks ve ovaryum teka hücrelerinden salgılanan androjenlerin periferik dokulardaki dönüşümlerinden kaynaklanır.

Östriyol etki gücü hepsinden daha zayıf bir östrojendir ve özellikle karaciğerde, östradiyol ve östronun oksidasyon ürünü olarak ortaya çıkar.

β -östradiyolün östrojenik kuvveti östrona göre 12 kat östriyole göre 80 kat daha fazladır. Belirtilen göreceli üstünlük, β -östradiyolün östrojenik etkisinin diğer iki hormona oranla kat kat yüksek olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, β -östradiyolün en önemli östrojen olduğu buna karşın östronun östrojenik etkisinin ihmal edilebilir

düzeyde olduğu söylenebilir. En güçlü östrojen hormonu östradiol'dur. Östradiol, periferde 17α -hidroksisteroid dehidrogenaz enzimi ile kısmen östron'a çevrilir. Postmenopozal kadınlarda en fazla bulunan östrojendir.

Östrojen Sentezlendiği Yerler; Gebe olmayan normal bir kadında, östrojenler büyük miktarlarda yalnız overlerden, küçük miktarlarda da adrenal korteksten salgılanırlar. Gebelikte ise çok büyük miktarlar da plasentadan salgılanırlar. Premenopozal dönemde östrojenin % 75'i over kaynaklıdır. Postmenopozal dönemde ise adrenal korteks en önemli kaynaktır.

Over dışı östrojen sentez yerler:

1. Plamenta
2. Adrenal Korteks
3. Testisler: Burada androstendionun küçük bir kısmı östrojene çevrilir.
4. Periferik dokular: Özellikle yağ dokusundan androjenler, aromataz enzimi tarafından östrojene çevrilmektedir.

2.8.1. Östrojenin Egzersizdeki Etkileri ve Faydaları

Östrojenin İskelet Sistemine Etkisi

Östrojenler osteoblastik aktivitenin artmasına neden olurlar. Bu nedenle, pubertede kadınların üreme çağına girmesiyle birlikte birkaç yıl için, büyüme çok hızlıdır. Bunun yanında, östrojenlerin iskelet büyümesi üzerinde bir başka etkisi, uzun kemiklerin cismi ile epifizlerin erken birleşmesine yol açmasıdır. Bu etki, erkekte testosteronun etkisine benzer; ancak kadında çok daha kuvvetlidir. Sonuç olarak, kadında büyüme olayı genellikle, erkeğin büyümesinden daha erken yıllar öncesinde kesilir. Östrojenden yoksun, önükoid kadınlarda epifizler erken kapanmadığından, boylan normal erişkin kadına göre çok daha uzun olur.

Menopoz sonrasında ise, overlerden hemen hemen hiç östrojen salgılanmaz. Östrojen eksikliğine bağlı olarak: (1) kemiklerde osteoblastik aktivite azalır, (2) kemik matriksi azalır ve (3) kemikte kalsiyum ve fosfor birikimi azalır. Bazı kadınlarda bu etki, son derece ciddi boyutlardadır ve *osteoporozla* sonuçlanır. Bu olay, kemikleri çok zayıflatarak kırıklara, özellikle vertebra kırıklarına yol açar. Bu nedenle, post menopozal dönemde, kadınların çoğunluğu östrojenle desteklenerek tedavi edilmektedir.

Östrojenler total vücut proteinini hafifçe artırır. Östrojen uygulaması sonrasında, nitrojen dengesinin pozitif tarafa kayması bunun kanıtıdır. Östrojenin seksüel organlar, kemikler ve vücudun daha birçok dokusunda büyümeyi hızlandırıcı etkisi de bunu göstermektedir. Östrojenler metabolik hızı, hafif de olsa artırır. Bunun yanında, hormonun derialtı yağ dokusunu artırıcı etkisi de vardır. Sonuç olarak, kadın vücudunun ortalama özgül ağırlığı ki bu ağırlık suyun kaldırma gücüyle ölçülür, erkeğinkine oranla oldukça düşüktür. Çünkü erkekte daha fazla protein ve daha az yağ bulunur. Östrojenler yağın göğüs ve deri altından başka, kalçalarda birikmesine yol açar ki, bu da kadınlarda egzersiz sırasında ısı kaybını azaltır ve enerji tüketiminde tasarruf sağlar.⁶

Östrojen kas nötrofil infiltrasyonu üzerine etkisinin potansiyel mekanizmaları

Östrojenin kas lökosit infiltrasyonunu etkileyebilme mekanizmaları henüz bilinmemektedir. Kas içinde lökosit tutulması, yuvarlanması, adezyonu ve diapedezisi karmaşıktır ve adezyon molekülleri, selektinler ve sitokinleri içeren sayısız faktör tarafından etkilenme potansiyeline sahiptir.^{11,198} Aynı zamanda, östrojenin kas hasarı, inflamasyon ve tamiri ile ilişkili faktör ya da faktörleri etkileme yolları büyük ölçüde bilinmemektedir.

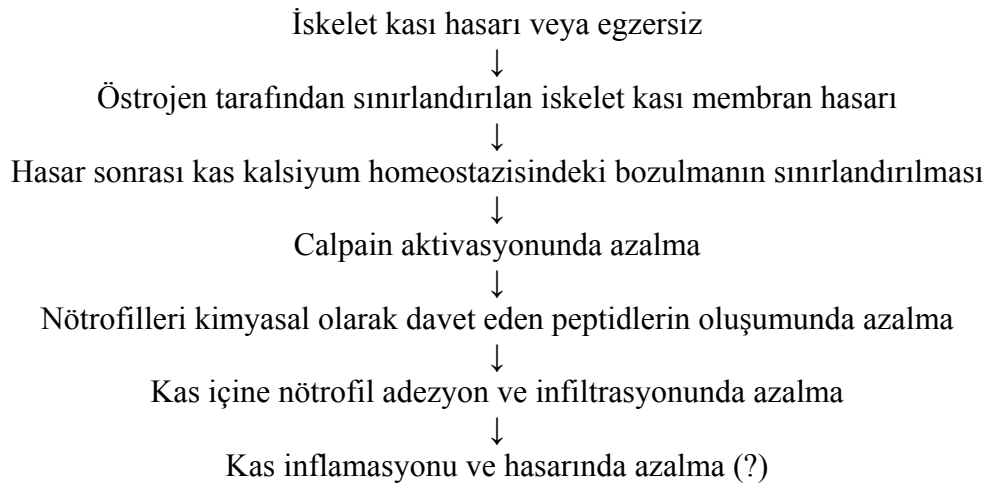
Östrojenin beyin ve nöronlar gibi diğer dokular üzerindeki koruyucu etkilerini gerçekleştirme mekanizmaları ile ilgili, hem östrojen-reseptör aracılığıyla hem de reseptör aracılığı olmayan olaylarla, östrojenin aracılık ettiği korumanın gerçekleşebileceğine dair sınırlı miktarda veriler vardır.¹⁰ İskelet kasının küçük fakat önemli miktarda membrana bağlı östrojen reseptör alfa (ER-alfa)'yı işlediği bilinmektedir. O halde, östrojen reseptörünün aracılık ettiği olayların kas hasarı, inflamasyon ve tamir süreçleri üzerinde etkili olabilmesi mümkündür.

Hasar sonrası 1-2 saat içinde iskelet kası nötrofil infiltrasyonunda yavaşlamanın esas olarak östrojenin membran stabilitesini etkilemesi ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür.¹³ Östrojenin ya doğrudan doğruya fosfolipidlerle etkileşerek ya da doğrudan doğruya diğer membran komponentleri ile etkileşerek, membran akışkanlığı ve fonksiyonunu etkilediği bilinmektedir.¹⁹⁹ Belcastro ve arkadaşları²⁰⁰ sarkolemma bütünlüğünü bozan egzersizin indüklediği kas hasarının kas kalsiyum homeostazisini bozacağını ve bunu sonucu olarak kalpain aktivasyonuna yol açabileceğini ileri sürmüşlerdir. Kalpain, kas hasarından hemen sonra artan sitozolik kalsiyum tarafından aktive edilen nonlizozomal bir proteaz olup, spesifik kas proteinlerini seçici olarak yıkar ve bu yıkım aracılığıyla nötrofil kemoatraktif ürünleri oluşturur. (degradation).²⁰⁰ Belcastro ve arkadaşları²⁰⁰ egzersizden hemen sonraki zaman periyodunda iskelet kasında kalpainin aracılık ettiği nötrofil invazyonu ile ilgili veri sağlamışlardır.

Östrojenin bir antioksidan olarak veya doğrudan doğruya membran stabilize edici olarak davranabildiğine dair önemli kanıtlar vardır.¹⁸ Östrojen kolesterolle hemen hemen aynı yolla doğrudan doğruya hücre membranlarına girebilir (inkorpore olabilir) ve benzer şekilde membran akışkanlığını ve poliansatüre yağ asidi düzenlenmesini optimize edebilir. Böylece, östrojen, membran komponentleri ile doğrudan doğruya

etkileşime girerek, hasar sonrası kas membran bozulmasını sınırlandırma potansiyeline sahip olur. Daha önce belirtildiği gibi, dişi ve östrojen tedavisi görmüş kasta CK sızıntısının azalması ve (muhtemelen artmış membran östrojen içeriği ile sonuçlanan) östrojene maruz kalma süresi arttıkça, bu enzim sızmasındaki azalmadaki artış, bu öneriyi destekleyen bir kanıttır. Östrojen reseptör blokeri Tamoksifenin östrojenin indüklediği egzersiz sonrası HSP sentezi inhibisyonunu önleyememesi de, östrojenin kas üzerindeki reseptör aracılığı ile olmayan etkisini destekler mahiyettedir.²⁰¹

Bu durumda, akım şemasında da görüldüğü gibi, östrojen kalpain aktivasyonunu azaltarak, kalpainin indüklediği nötrofil kemoatraktif peptidlerin üretimini azaltabilir ve böylece hasar sonrası nötrofil infiltrasyonunu sınırlandırabilir. (**Şekil 2.7**) Bu östrojenin hasarın indüklediği kas membran bozulmasının azaltma yeteneğine ve böylece kas kalsiyum homeostazisindeki bozulmanın sınırlandırılmasına ve böylece de dolaylı olarak kalpain aktivite artışının inhibe edilmesine atfedilebilir.



Şekil 2.7 Egzersiz veya iskemi-reperfüzyon hasarından sonraki ilk 1-2 saatte iskelet kası nötrofil infiltrasyonunun östrojen tarafından yavaşlatılması ile ilgili önerilen mekanizma. İskelet kası membranının östrojen tarafından stabilizasyonu kalsiyum homeostazisinin sürdürülmesi yoluyla calpain aktivasyonunu azaltır. Bu nötrofilleri kimyasal olarak çeken maddelerin yapımında azalmaya ve bunu izleyen nötrofil infiltrasyonunda azalmaya yol açar.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

“Östrojenin egzersize bağlı kas hasarına karşı koruyucu olup olmadığının araştırılması” başlıklı çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) Etik Kurulu Başkanlığının 22.01.2007 tarih 35 sayılı kararıyla etik kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir.

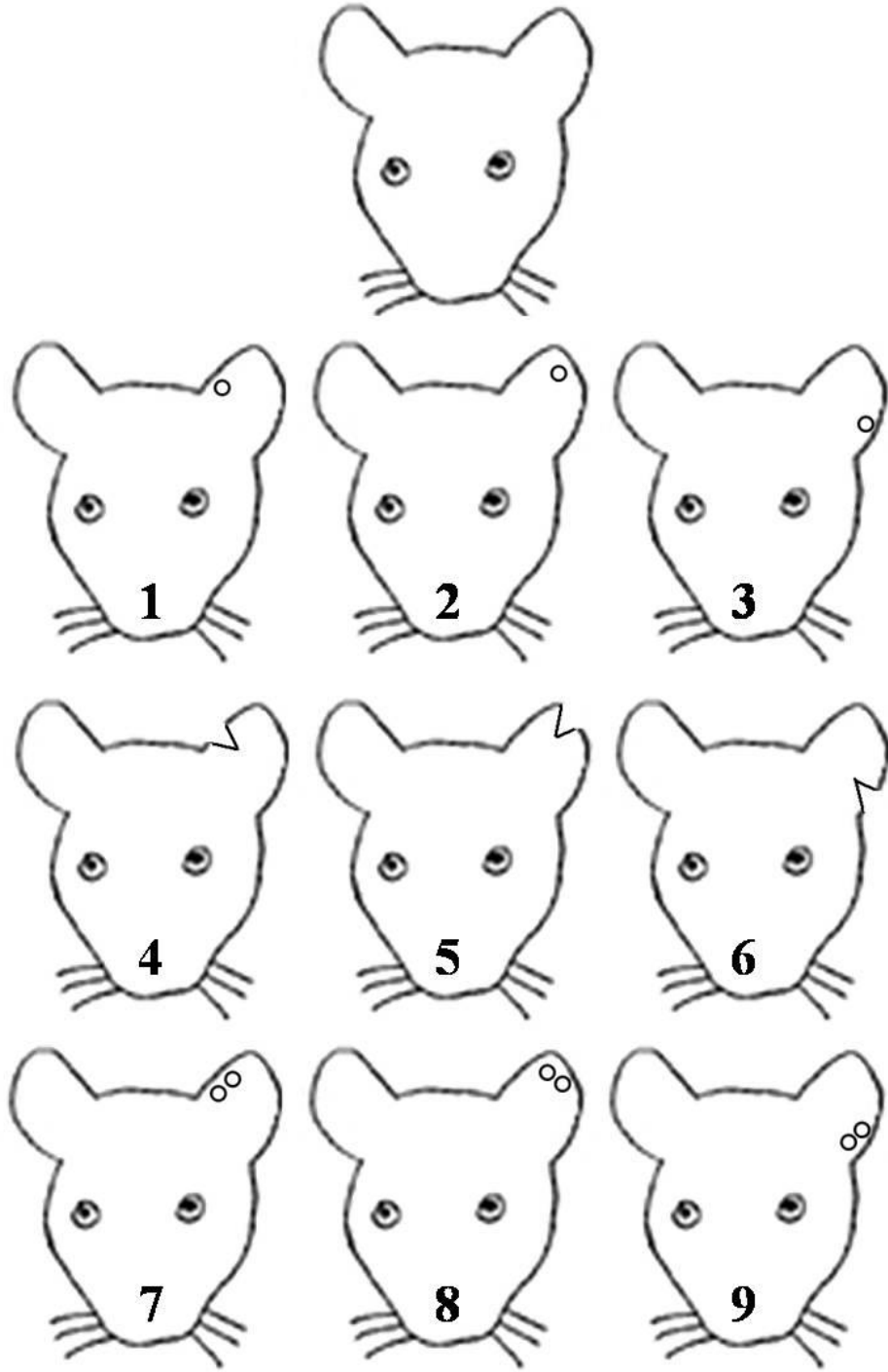
Yukarda adı geçen çalışma etik kurul onayının alınmasının ardından, Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından **(B.30.2.ATA.0.05.02.00/60)** desteklendi.

Çalışmamız ATADEM’de, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji, Biyokimya ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalları laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Çalışmada denekler ATADEM’de yetiştirilen 12 haftalık Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar arasından rastgele olarak seçildi. Vücut ağırlığı 245 ± 23 gr olan toplam 36 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Çalışma süresince denekler, istedikleri zaman ulaşabilecekleri şekilde, pelet yem ve musluk suyu ile beslendi.²⁰²

3.1. Deneklerin Gruplanması

Çalışma gruplarının oluşumu sırasında hayvanların sol kulaklarına çentik ya da delik açılarak her deneğe bir numara verildi. Numaralandırma şekli aşağıdaki Şekil 3.1’de gösterildi.²⁰³



Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan deneklerin etiketlenmesi ile ilgili şematik çizim

36 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçanlar öncelikle östrojen verilmeyen (n:18) ve östrojen verilen (n:18) grupları olmak üzere 2'ye ayrıldı.

Bu çalışma egzersizin etkilerinin daha açık bir şekilde anlaşılması için;

1. Egzersiz yaptırılmayan grup

2. Eksantrik egzersiz yaptıktan 1 saat sonra diseke edilen grup

3. Eksantrik egzersiz yaptıktan 48 saat sonra diseke edilen gruplar oluşturuldu.

Östrojen verilmeyen grup, egzersiz yapmayan (n:6) ve egzersiz yapan (n:12) olarak 2'ye ayrıldı. Östrojen verilmeyen ve egzersiz yaptırılan (n:12) grupta kendi içinde; egzersizden 1 saat sonra öldürülen (n:6) ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen (n:6) olmak üzere 2'ye ayrıldı.

Östrojen verilen grup, egzersiz yapmayan (n:6) ve egzersiz yapan (n:12) olarak 2'ye ayrıldı. Östrojen verilen ve egzersiz yaptırılan (n:12) grupta kendi içinde; egzersizden 1 saat sonra öldürülen (n:6) ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen (n:6) olmak üzere 2'ye ayrıldı. Böylece, bu çalışmada kullanılan sıçanlar 6 eşit gruba ayrıldı

K - (*Grup 1*) Çözücü solüsyon verilen ve egzersiz yaptırılmayan kontrol grubu;

Ö - (*Grup 5*) Östrojen solüsyon verilen ve egzersiz yaptırılmadan öldürülen grup;

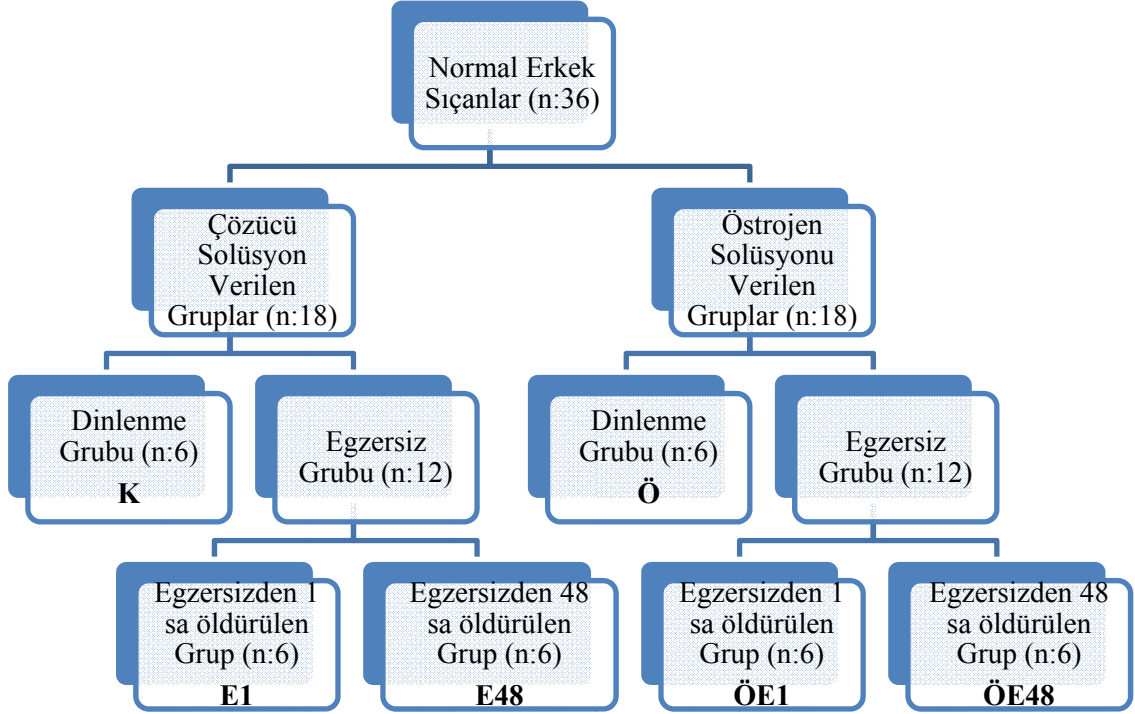
E1 - (*Grup 3*) Çözücü solüsyon verilen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen grup;

ÖE1 - (*Grup 2*) Östrojen solüsyon verilen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen grup;

E48 - (*Grup 4*) Çözücü solüsyon verilen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen grup;

ÖE48 - (*Grup 6*) Östrojen solüsyon verilen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen grup;

Çalışmada kullanılan deneklerin gruplara göre dağılımı Tablo 3.1'de özetlendi.

Tablo 3.1 Deneklerin Gruplandırma Şeması

Analiz ve incelemeler sırasında bir ön kabul durumunu engellemek için grup numaraları rastgele verildi.

3.2. Östrojen Hazırlanması ve Uygulanması

Üç mg 17- β Estradiol 50 ml absolü etanolde çözülerek 100 ml susam yağı ilave edildi. Bu işlem sonunda 17- β Estradiol konsantrasyonu 20 μ g/ml idi.²⁰⁴

Çözücü verilen gruplar için solüsyonun hazırlanması esnasında etanol (1 volüm) ve susam yağı (2 volüm) karıştırıldı.

Deneklerin ağırlıklarına uygun 30 gün boyunca subkutan olarak 10 μ g/kg.gün solüsyon uygulaması yapıldı. Östrojen gruplarına paralel olarak çözücü solüsyon verilen gruplara da 30 gün boyunca aynı volümde subkutan olarak verildi. (Şekil 3.2)



Şekil 3.2 Deneklere subkutan olarak enjeksiyon yapılırken

Subkutan olarak 30 gün boyunca enjeksiyonlar yapıldı. Enjeksiyon uygulaması 30. günün sonunda kesildi. Deneklerin dinlenmeleri ve egzersiz alıştırmaları yapmaları için enjeksiyon uygulamaları bittikten sonra 24 saat beklendi.^{120,205-207}

Egzersiz gruplarına aşağıda tarif edilen eksantrik egzersiz yaptırıldı.

3.3. Eksantrik Egzersiz Uygulaması

Eksantrik egzersiz uygulanması için, MAY TME 9805 TREADMİLL EXERCİSER isimli koşu bandına -15°'lik (aşağı doğru) bir eğim verildi. Ardından deneklerin 20 m/dk'lık bir hızla koşmaları sağlandı. Beş dk koşu ve 2 dk dinlenme periyotlarından oluşan toplam 18 (5x18=90 dk) koşu yaptırıldı (**Şekil 3.3**). Toplamda 90 dakikalık koşu ve 34 dakikalık dinlenme yaptırılarak egzersiz tamamlandı.²⁰⁸



Şekil 3.3 Deneklere TREADMİLL’de eksantrik egzersiz yaptırılırken

Eksantrik egzersiz yapılmadan önce egzersiz grupları treadmillle alıştırdı. **E1, ÖE1, E48, ve ÖE48 grupları** egzersiz öncesi bir gün 20 m/dk’lık bir hız ile 5 dk düz koşu yaptırıldı. Bir gün sonra öne doğru -15°’lik eğimli açı (eksantrik egzersiz) ve 20 m/dk’lık bir hızla arada bir dakika dinlenme olacak şekilde 2 dakikalık 2 koşu yaptırılarak egzersize alıştırdı.

3.4. Anestezi

Çalışmamızda Forane-Likit (İsoflurane) ile inhalasyon anestezisi kullanıldı.

K ve Ö grupları son enjeksiyon uygulamasından sonra 24 saat bekletildi. Deneklere Forane-Likit (İsoflurane) ile inhalasyon anestezisi yapıldıktan sonra deneklerden 5 ml kan alınarak sitratlı deney tüplerine konuldu. Hayvanlar kalpten kan alınarak öldürüldü.

Tablo 3.1’de gösterildiği gibi, **E1** ve **ÖE1** gruplarına ise östrojen uygulamasının egzersizden sonra kaslarda meydana gelebilecek hasara karşı koruyucu olup-olmadığı incelemek için eksantrik egzersiz yaptırıldıktan sonra 1 saat beklendi. Bu beklemin ardından deneklere Forane-Likit (İsoflurane) ile inhalasyon anestezi yapıldıktan sonra deneklerden 5 ml kan alınarak sitratlı deney tüplerine konuldu. Hayvanlar kalpten kan alınarak sakrifiye edildi.

E48 ve **ÖE48** gruplarına ise östrojen uygulamasının koruyucu olup-olmadığı incelemek için eksantrik egzersiz yaptırılıp 48 saat beklendikten sonra deneklere Forane-Likit (İsoflurane) ile inhalasyon anestezi yapıldı ve 5 ml kan alınarak sitratlı deney tüplerine konuldu. En son olarak denekler kalpten kan alınarak öldürüldükten sonra disekte edildi.

3.5. Biyokimyasal İşlemler

Deneklerden kardiyak ponksiyonla alınan kan örnekleri biri antikoagülanlı, diğeri antikoagülansız olan iki ayrı deney tüpüne alındı.

Antikoagülansız deney tüpüne alınan kan örnekleri oda sıcaklığında pıhtılaşması için 30 dk bekletildikten sonra 3500 devir/dakika hızla 10 dakika boyunca santrifüje edilerek serumları ayrıldı. Serum örnekleri kreatin kinaz ölçümü yapılacak güne kadar -80°C’lik derin dondurucuda saklandı.

Antikoagülanlı deney tüpüne alınan kan 3000 devirde 15 dakika santrifüje edildi ve üstteki plazma ve lökosit tabakası bir pastör pipeti ile uzaklaştırıldı. Daha sonra, eritrositler % 0.9’luk NaCl ile 3 defa 1500 devirde 5 dk santrifüje edilerek yıkandı. Eritrositler deiyonize su ile (50 kat) sulandırılarak hemolize edildi. Hemogloblin değerleri kan sayım cihazı ile ölçüldü. Elde edilen hemolizat biyokimyasal ölçümler yapılana kadar -80 °C’de saklandı.

Tüm gruplardaki sıçanlardan alınan soleus ve kalp kası ayrı ayrı kodlandıktan sonra, poşetlere konuldu. Alınan dokular önce -18°C 'de bir gün bekletildi. Daha sonra incelemek için ise -80°C 'de derin dondurucuya konuldu.²⁰⁹

- Serumda kreatin kinaz aktivitesi ölçümü
- Eritrositlerde;
 - o Cu, Zn Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçümü
 - o Malondialdehit (MDA) Ölçümü
 - o Glutasyon -S Transferaz (GST) Ölçümü
- Kalp dokusunda;
 - o Cu, Zn Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçümü
 - o Malondialdehit (MDA) Ölçümü
 - o Glutasyon -S Transferaz (GST) Ölçümü
 - o Katalaz (CAT) Ölçümü,
 - o Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) Ölçümü yapıldı.
- Soleus kas dokusunda;
 - o Cu, Zn Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçümü
 - o Glutasyon -S Transferaz (GST) Ölçümü
 - o Katalaz (CAT) Ölçümü,
 - o Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) Ölçümü yapıldı.

3.5.1. Doku Homojenizasyon İşlemi

Bir gün önceden ön hazırlık yapıldı. Ertesi gün homojenizasyon işlemleri başlandı.

1. En az bir gün önceden yeterli homojenizasyon tamponları hazırlandı:

MDA için % 1.15 KCl,

GST, GSH-Px, SOD ve CAT için % 0,9 NaCl hazırlandı.

2. Çalışma sabahı buz makinesi çalıştırıldı ve buz biriktirildi.

3. Soğutmalı santrifüj (uygun boy rotor takılarak) +4°C'ye 15000 rpm 15 dk ayarlanıp soğutmaya bırakıldı. Bu arada santrifüj için gerekli plastik tüplerin temiz olup olmadığı kontrol edildi.

4. Camyazar kalem hem dokuların parçalandıktan sonra kaldırılması hem de homojenizasyon sonrası süpernatantların dondurulması için gerekli olan eppendorf tüplerin ve uygun ebatlarda spor ve naylon torbalar hazır edildi.

5- Camyazar kalem ile homojenizasyon için kullanılan tüpleri 3 ayrı tampon için (aynı doku için örneğin “kalp”) 3 tüp hazırlandı.

6- Homojenizasyon sonrası santrifüj yapılacak eppendorf tüpleri de aynı şekilde kodlanarak camyazar kalem ile yazılır.

7- Çalışılacak olan doku – 80°C’de çıkarılarak doku 0,5 g civarında kesilir. Hassas terazide tartılır. Doku örneği yaklaşık 0,100 g olacak şekilde 3 parçaya ayrılır. 3 ayrı tüpe kodlamaya dikkat edilerek konulur.

8- 1/11 sulandırma oranı kullanılarak 0,1000 g olan doku parçasına 1,000 ml tampon konulur. Dokunun 10 katı tampon ilave edilir.

9- Buz dolu bir beher içerisinde kalp dokuları (10 sn-5 sn)

3 defa 10 sn homojenize edilerek 5 sn beklenerek homojenize edilir.

Toplam 30 sn homojenize edilmiş olur.

Yellow Line DI 18 basic (homojenizasyon aleti) 2. ayarda çalışır.

Bıçağın ucu yıkanıp temizlenir. Bir sonraki örnek için ağırlık tartılır.

10- Önceden numaralandırılan eppendorf tüplerine (5 µl) konularak soğutmalı (+4°C'de; [10000 rpm'de 10 dk] 5000 rpm'de 20 dk) santrifüj yapıldı. Uygun büyüklükte sporlara yerleştirildi.

11- Santrifüj işlemi sonucunda elde edilen sıvının (süpernatant) üstte kalan berrak kısımda daha küçük iki eppendorf (2 µl) tüplerine ayrıldı. Doku parçacıkları olan alt kısımları atılarak, üstteki süpernatant 6 küçük (2 µl) eppendorf tüpüne ayrıldı. Derin dondurucuda (-80°C'de) saklandı.

Bir dokudan üç ayrı parça doku: üç ayrı tamponda homojenize edildi. Santrifüjlendi. Santrifüj sonrası sıvının üstte kalan berrak kısımda (süpernatant) enzim aktiviteleri ve miktar tayinlerinin belirlenmesi 2 ayrı eppendorf tüp içine alındı.²¹⁰

3.5.2. Serum Kreatin Kinaz Ölçümü

Serum kreatin kinaz düzeyi konvansiyonel fotometrik yöntemle Roche Cobas 6000 biyokimya otoanalizörü ve ticari kiti (CKL creatine kinase) kullanılarak ölçüldü (Roche® Diagnostics, Mannheim, German) ve sonuç U/L cinsinden verildi.

3.5.3. Malondialdehit (MDA) Ölçümü

Yukarıda tarif edildiği şekilde hazırlanan eritrosit hemolizatından veya uygun şekilde hazırlanan doku süpernatantı kullanılarak ölçüldü.

Lipit peroksidasyon ürünü olan MDA, oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Ölçümün prensibi, MDA ile tiyobarbutirik asidin etkileşimi sonucu oluşan pembe renkli bileşiğin 532 nm'de absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır.²¹¹

Kullanılan Çözeltiler:

1. 8.1'lik SDS çözeltisi: 8.1 g SDS bir miktar saf suda çözündü ve hacim 100 mL'ye tamamlandı.

2. % 20'lik asetik asit çözeltisi: %100'lük asetik asitten 20 mL alındı ve saf suyla son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

3. % 0.9'luk TBA: 0.9 g TBA bir miktar saf suda hafifçe ısıtılarak çözündü, hacim 100 mL'ye tamamlandı. (Bu çözelti çalışma günü taze olarak hazırlanmalıdır.)

4. 1/15 piridin/1-bütanol karışımı: 15 mL 1-bütanole 1 mL piridin eklenerek hazırlandı.

5. 200 μ M'lık stok standart çözeltisi: 1,1,3,3-tetraetoksipropandan 25 μ L alınıp 500 ml saf suda karıştırılarak çözündü. (Taze hazırlanmalıdır.) Seri dilüsyonla stok standarttan 200 (direkt stoğun kendisi kullanılır), 100, 50, 25, 12.5, 3 ve 0 μ M'lık standartlar hazırlandı.

MDA Ölçümü:

Numune olarak serum kullanıldı. Isıya dayanıklı, kapaklı cam tüplere Tablo 3.5 pipetlemeler yapıldı.

Tablo 3.2 MDA ölçüm prosedürü 1

	Numune tüpü	Standart tüpü	Kör tüpü
SDS	200 μ L	200 μ L	200 μ L
Asetik asit	1500 μ L	1500 μ L	1500 μ L
TBA	1500 μ L	1500 μ L	1500 μ L
Numune	200 μ L	-	-
Standart	-	200 μ L	-
Saf su	700 μ L	700 μ L	900 μ L

Tüm tüpler kapaklarıyla kapatıldı, vortekslendi ve sıcaklığı 95°C olan su banyosunda 1 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon bittikten sonra tüpler, fazlar karıştırılmadan, çeşme suyu altında soğutuldu. Her bir tüpün üste kalan pembe renkli

süpernatantından 600 µL alınarak karşılık gelen eppendorfa aktarıldı. Her bir eppendorfa aşağıdaki pipetlemeler yapıldı (**Tablo 3.6**):

Tablo 3.3 MDA ölçüm prosedürü 2

	Numune tüpü	Standart tüpü	Kör tüpü
Saf su	150 µL	150 µL	150 µL
Piridin/n-bütanol	750 µL	750 µL	750 µL

Eppendorf içeriği iyice vortekslendi, 4000 rpm’de 10 dakika santrifüjlendi. Fazlar karıştırılmadan üst fazdan 200 µL alınarak mikropate okuyucuda 532 nm’de standart ve numunelerin absorbansı okundu ve standartlara karşı numunelerin konsantrasyonları kaydedildi. Konsantrasyon µmol/L olarak ifade edildi.

3.5.4. Glutasyon S-Transferaz (GST) Ölçümü

Yukarıda tarif edildiği şekilde hazırlanan eritrosit hemolizatından veya hazırlanan doku süpernatantı kullanılarak ölçüldü.

Habig ve arkadaşlarının²¹² yaptığı yönetime göre modifiye edilmiştir.

Kullanılan Çözeltiler:

1. *0,1 M fosfat tamponu (pH:6,5):* KH₂PO₄ 8, 349 g ve K₂HPO₄’den 6,732 g alındı. Bir miktar distile suda (1000 ml’ye yakın) çözüldükten sonra pH metre ile pH 6,5’a ayarlandı. Hacim 1000 ml’ye tamamlandı.

2. *% 0,66 Triton-X-100 çözeltisi:* 0,66 ml T-X-100 alındı. Distile suda çözülerek (9934 µL ilave edilerek) 100 ml’ye tamamlandı.

3. *1-Chloro 2-4 dinitrobenzen (5 mg/ml Etanol içinde) çözeltisi:* 1 ml etanol içinde 0,005 g olacak şekilde hazırlandı. 3 ayrı eppendorf tüpünde her biri 1 ml olarak şekilde 3m L hazırlandı. Alüminyum kâğıt ile ışıktan koruma sağlandı. (Günlük taze hazırlanır.)

4. İndirgenmiş Glutasyon (GSH) 46 mg/ml: pH: 7,4 fosfat tamponu içinde hazırlandı. (Günlük taze olarak hazırlanır.)

a) 0,1 M Fosfat tamponu (pH:7,4): KH_2PO_4 'den 2,267 g, K_2HPO_4 'den 14,515 g tartıldı. Bir miktar distile suda (1000 ml'ye yakın) çözüldükten sonra pH metre ile pH 7,4'e ayarlandı. Hacim 1000 ml'ye tamamlandı.

b) 1 ml tampon içinde (pH:7,4 olan 0,1 M fosfat tamponu) 46 mg/ml GSH olacak şekilde hazırlandı.

GST Ölçüm Reaktifi:

- 32,20 ml fosfat tamponu (0,1 M pH.6,5)
- 1 mL İndirgenmiş Glutasyon (GSH)
- 1 mL Triton-X-100
- 0,8 mL CDNB (Klorodinitrobenzen)

Karıştırıldı. Bekletildi. Hemen kullanıldı.

Deneyin çalışılacağı gün (deneyden hemen önce) 32,20 ml 0,1 M fosfat tamponu (pH:6,5), 1 mL indirgenmiş Glutasyon (GSH), 1 mL Triton-X-100, ve 0,8 mL CDNB (Klorodinitrobenzen) birleştirilir 37 °C'de 3 dk bekletildi. Deneyden hemen önce taze olarak hazırlandı ve kullanıldı. (Aksi takdirde "Assay Reaktifi" bozulacağı için hatalı absorbands verecektir.)

GST ölçümü:

Numune olarak eritrosit paketleri kullanıldı. Isıya dayanıklı, kapaklı cam tüplere Tablo 3.7'deki gibi pipetlemeler yapıldı.

Tablo 3.4 GST ölçüm prosedürü (platede)

	Numune tüpü	Kör tüpü
Numune	25 µL	- (ELİSA'da kontrol diye işaretlenecek)
Fosfat Tamponu (pH:6,5)	-	25 µL
GST ölçüm reaktifi	300 µL	300 µL

Nazikçe karıştırıldı. Mikroplate okuyucuda 340 nm'de 3 dakika boyunca kinetik olarak absorbans okutuldu. Enzim spesifik aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Sonuçlar U/g Hb olarak ifade edildi.

Hesaplama Formülü=

$$\frac{U}{pHb} = \frac{\Delta A}{dk} \times 1353 \times \frac{1}{Hb(mg / dl)} :$$

$$\frac{\Delta A}{dk} = \text{Birim zamandaki absorbans değişimi}$$

3.5.5. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Ölçümü

Yukarıda tarif edildiği şekilde hazırlanan doku süpernatantı kullanılarak ölçüldü.²¹³

Hazırlanacak çözeltiler:

1. (150 mM): 50 mg GSH alındı ve 1 ml tamponda çözüldü

2. NaN₃ (1 M): 65 mg alındı ve 1 ml tamponda çözüldü.

3. NADPH(3 mM): 5 mg alındı ve 1 ml tamponda çözüldü. Günlük hazırlandı.

(Not: 70 numunelik için NADPHNa₄'ten 18 mg alındı ve 7 ml tamponda çözüldü).

4. Redükte GSH (katı ise): 30 mg alındı ve 1 ml 3.2 M (NH₄)₂SO₄'de çözüldü.

5. Redükte GSH (sıvı ise): Direkt olarak 10 µl alındı ve deney ortamına konuldu.

6. H₂O₂ (50 mM): 15 µl H₂O₂ alındı ve 5 ml tampona pipetlendi. Günlük hazırlandı. (%30'luk H₂O₂'den 25 µl alındı ve 5 ml tamponda çözöldü. Bundan 15 µl al 5 ml tamponda çözöldü.)

7. Tampon: A (50 mM Na₂HP0₄): Na₂HP0₄.2H₂0'dan 8.85 g alındı ve litreye tamamlandı. Tampon B (50 mM KH₂P0₄): 6.8 g alındı, litreye tamamlandı.

Sonra 600 ml A + 400 ml B + 2.08 g EDTA (sodyum tuzu) ilave edildi.

8. Amonyum sülfat (NH₄)₂ S0₄,3.2 M: 42.24 g alındı ve 100 ml distile suda çözöldü.

Deneyin yapılışı:

Tablo 3.5 GSH-Px ölçüm prosedürü (platede)

Fosfat tamponu (50 mM,pH 7.0)	2.650 ml
Redükte GSH (150 mM)	0.100 ml
NADPH (10mM)	0.100 ml
GSH-redüktaz	0.010 ml
NaN3 (Sodyumazid) (1M)	0.010 ml
Numune	0.020 ml

Karıştırılır. 37°C'de 30 dakika inkübe edildi

H ₂ O ₂ (2mM)	0.100 ml
-------------------------------------	----------

340 nm'de 5 dk absorbanstaki azalma kaydedildi.

Hesaplama:

$$IU/I : \frac{\Delta A/t}{6.22 \times 10^{-6}} \times \frac{1}{0.020}$$

$$\Delta A/t : 8038585 .2$$

$$IU / mgprotein = \frac{IU / I}{1000 \times W}$$

ΔA : Absorbans değışimi

t: zaman(dk)

W: enzim çözeltisi proteini(mg/ml)

NADPH için molar ekstinksiyon katsayısı: $6.22 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$

3.5.6. Cu, Zn Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçümü

Yukarıda tarif edildiğı şekilde hazırlanan eritrosit hemolizatından veya hazırlanan doku süpernatantı kullanılarak SOD ölçümü yapıldı.

Sun ve arkadaşlarının²¹⁴ yaptığı yöneme göre modifiye edildi.

Kullanılan Çözeltiler:

1. Assay Reaktifi:

- a) *Xanthine (0,3 mM)*: 9,13 mg Xanthine 200 ml distile suda çözöldü.
- b) *EDTA (2 Na tuzu, 0,6 mM)*: 25 mg EDTA 100 ml distile suda çözöldü.
- c) *NBT*: 12,3 mg Nitroblue tetrazolium ml distile suda çözöldü. Renkli şişede ışıktan korundu.
- d) *Na₂CO₃ (0,4 M)*: 2,54 gr Na₂CO₃ 60 ml distile suda çözöldü.
- e) *Bovin serum albümin (BSA). (1 gr/L)*: 30 mg bovin serum albümin 30 ml distile suda çözöldü.

Hazırlanan bu 5 reaktif +4 °C saklandı. Deneyin çalışılacağı gün (deneyden hemen önce) 20 ml Xanthine, 10 mL EDTA, 10 mL NBT, 6 mL Na₂CO₃ ve 3 mL BSA koyu renkli bir şişede birleştirildi. Aksi takdirde “Assay Reaktifi” bozulacağı için hatalı absorbans verecektir.

2. Xanthine Oksidaz (167 U/L):

30 ml Xanthine oksidaz alındı. (Sigma X-1875) 1 ml 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ile dilüe edildi (amonyum sülfat buz gibi soğuk olmalıdır).

3. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$:

2,64 gr alınır 10 ml distile suda çözöldü.

Mikroplateye Tablo 3.4’da gösterildiğı gibi numuneler ve körler (birkaç kör tüpü hazırlandı, hesaplama için bunların ortalaması kullanıldı) için pipetlemeler yapıldı.

Tablo 3.6 SOD ölçüm prosedürü

	Numune tüpü	kör tüpü
Distile Su	40 μL	50 μL
Numune	10 μL	-
Xanthine Oksidaz	10 μL	10 μL
Assay Reaktifi	200 μL	200 μL

Mikroplate içeriğı karıştırıldıktan sonra 25 °C’de 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda oluşan mor renkli kompleksin absorbansı mikroplate okuyucuda 560 nm’de okundu ve numune ile körlere ait absorbanslar kaydedildi. Enzim spesifik aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı, sonuçlar U/g Hb olarak ifade edildi.

Hesaplama:

1 U → % 50’lik NBT inhibisyonuna 1 U denir.

$$U/gHb = \frac{A_{k\ddot{o}r} - A_{numune}}{A_{k\ddot{o}r}} \times \frac{100}{0,5} \times \frac{1}{Hb \left(\frac{mg}{dl} \right)}$$

A_{numune} =Numune absorbansı

$A_{k\ddot{o}r}$ =Körlerin ortalama absorbansı

Hb=mg/dl cinsinden Hemoglobin konsantrasyonu

3.5.7. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Ölçümü

Yukarıda tarif edildiği şekilde hazırlanan eritrosit doku süpernatantı kullanılarak ölçüldü.

Aktivite ölçüm ortamındaki hidrojen peroksitin CAT enzimi vasıtasıyla H₂O'ya dönüşümü sağlanırken meydana gelen absorbans değişimi (azalma) 240 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Tükenen H₂O₂ miktarından CAT aktivitesi aşağıda bahsedilen yönteme göre hesaplandı.

Kullanılan Çözeltiler:

CAT Enziminin Aktivitesini Ölçmek İçin Homojenat Tamponu Homojenat Tamponu (%1 Triton x-100 içeren, 50 mM pH 7,8 Fosfat Tamponu):

1.7 g KH₂PO₄ ve 25 µl Triton x-100 alınarak 200 ml saf suda çözüldükten sonra pH 7,8'e ayarlanarak son hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlandı.

CAT Enzimi Ölçüm Reaktifi (pH 7'de 40 mM H₂O₂ içeren 50 mM Fosfat Tamponu):

1020 µl H₂O₂ ve 1,7 g KH₂PO₄ alınarak 200 ml saf suda çözüldü ve pH'sı pH metre yardımı ile 7'ye ayarlandıktan sonra son hacim 250 ml'ye tamamlandı.

CAT Ölçümü:

CAT aktivitesi, Rowe (1966)'nin belirttiği metoda göre modifiye edilerek ölçüldü.²¹⁵ 0,5 g doku üzerine 4,5 ml 50 mM K-fosfat tamponu (pH 7,8) ilave edilerek homojenize edildi. Daha sonra homojenatlar, 18000 g'de 60 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar CAT aktivitesi ölçümünde enzim kaynağı olarak kullanıldı. Kuvartz küvet içerisine son konsantrasyonu 20 mM olacak şekilde H₂O₂ çözeltisinden 1,5 ml konularak numune çözeltisinden 1,5 ml ilave edilir edilmez kronometre çalıştırıldı. Alt üst etme sonrası spektrofotometrede 240 nm dalga boyundaki absorbans azalması, 15 saniye aralıklarla 3 dakika süreyle, köre karşı okunarak kaydedildi.

CAT Aktivitesi'nin Hesaplanması:

Ölçümlerde lineer olarak absorbans azalması olan aralıktan dakika başına absorbans azalması hesaplandı. Işık yolu (b)= 10mm, ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon_{H_2O_2}$), 0,00394 (mmol⁻¹ x mm⁻¹) alınarak $A = \epsilon.b.c$ formülünden 240 nm'de, dakikada 1 mmol H₂O₂'nin harcanmasını sağlayan enzim miktarı (=EÜ) hesaplandı (140). Formül pratik olarak mmol/min= $A/39,4 \times 30$ şekline getirildi ve bütün aktiviteler bu formülde yerine konulan absorbans değerlerinden hesaplandı. CAT aktivitesi, seyrelme faktörleri dikkate alınarak mmol/dakika/mg doku olarak tarif edildi. Deneyler 3 paralel tekrar halinde yapıldı.

3.6. Histolojik İşlemler

3.6.1. Işık Mikroskopik Takip İşlemi

Tüm gruptaki sıçanlardan alınan soleus kasları tendonları ve sinirleri ile birlikte alınarak, ayrı ayrı kodlandıktan sonra, % 10'luk formalin solüsyonu içerisinde 24 saat boyunca fiks edildi. Fiksasyon işleminin ardından ışık mikroskopik inceleme için doku takip işlemlerine geçildi.

1-*Akarsuda yıkama*: Dokular 1 saat yıkandı.

2-*Dehidratasyon işlemi*: Alkol serilerinde (Pelco) yapıldı. Bu amaçla;

- %50'lik Alkolde 20 dk,
- %60'lik Alkolde 20 dk,
- %70'lik Alkolde 20 dk,
- %80'lik Alkolde 20 dk,
- %90'lik Alkolde 1 saat,
- %100'lük Alkolde 1 saat,
- %100'lük Alkolde 1 saat bekletildi.

3- Ksilen serileri (Merc) ile *şeffaflaştırma işlemi*: Bu amaçla;

- 1/1 oranında Ksilen/Etil Alkol'de 15 dk,
- Ksilende 75 dk bekletildi.

4- Boncuk parafinde (Pelco) 60° C etüvde takip işlemi:

- 1/1 oranında Ksilen/Parafin'de 30 dk,
- Boncuk parafinde 60°C'lik etüvde 1 saat,
- Boncuk parafinde 60°C'lik etüvde 12 saat bekletildi.

5-Dokular parafin bloklara gömülmesi

Elde edilen parafin bloklara gömülü bulunan dokular, (Leica RM2125RT) mikrotomunda 5 µm kalınlığında kesilerek, boyama işlemlerine hazır hale getirildi. Daha sonra kesitler, ışık mikroskobu düzeyinde incelenmek üzere boyandı.

3.6.2. Hematoksilen-Eozin (H-E) Boyama İşlemleri

Bu işlemler aşağıda sırasıyla verildi;

1. Ksilol'de (20 dk) bekletildi.
2. Ksilol ve Ksilol'de (10 dk) bekletildi.
3. %80'lik Alkolde (10 dk) bekletildi.
4. İki ayrı %96'lık Alkol serisinde (5 dk) bekletildi.
5. Kesitler çeşme suyunda yıkandı
6. Hematoksilen boyasında 1 dk bekletildi.
7. Asit-Alkol karışımına batırılıp çıkarıldı.
8. Eozin solüsyonunda (1 dk) bekletildi.
9. Suda (1 dk) yıkandı.
10. %80'lik Alkolde (10 dk) bekletildi.
11. İki ayrı %96'lık Alkol serisinde (10 dk) bekletildi.
12. Ksilol, Ksilol ve Ksilol serilerinde (20 dk) bekletildi.
13. Entellan ile kapatma işlemi gerçekleştirildi.

Eksantrik egzersizden sonra soleus kasındaki infiltrasyonun bir göstergesi olarak, toplam lökosit sayısının histolojik olarak saptanmasında 5 µm kalınlığındaki kesitler kullanıldı. Kesitler hematoksilen eosin (H-E) boyası ile rutin histolojik işlemlere uygun şekilde boyandı. Kas lökosit infiltrasyonunun kantifikasyonu Walden ve arkadaşları²¹⁶ tarafından uygulanan metod modifiye edilerek kullanıldı. Kas lökosit infiltrasyonu için bir kas kesiti (10x oküler ve 40x objektif lens) 400 büyütmede

incelendi. Beş kesitin toplam görüntü alanı birlikte (0.25 mm^2 görünüm alanı) hesaplanarak toplam lökosit sayısı bulundu. Bu işlem ikinci bir seri kesit ile tekrarlandı ve ikisinin ortalaması alındı.¹³ Değerlendirmeler deneysel gruplar hakkında bilgisi olmayan bir kişi tarafından yapıldı.

3.7. İstatistik

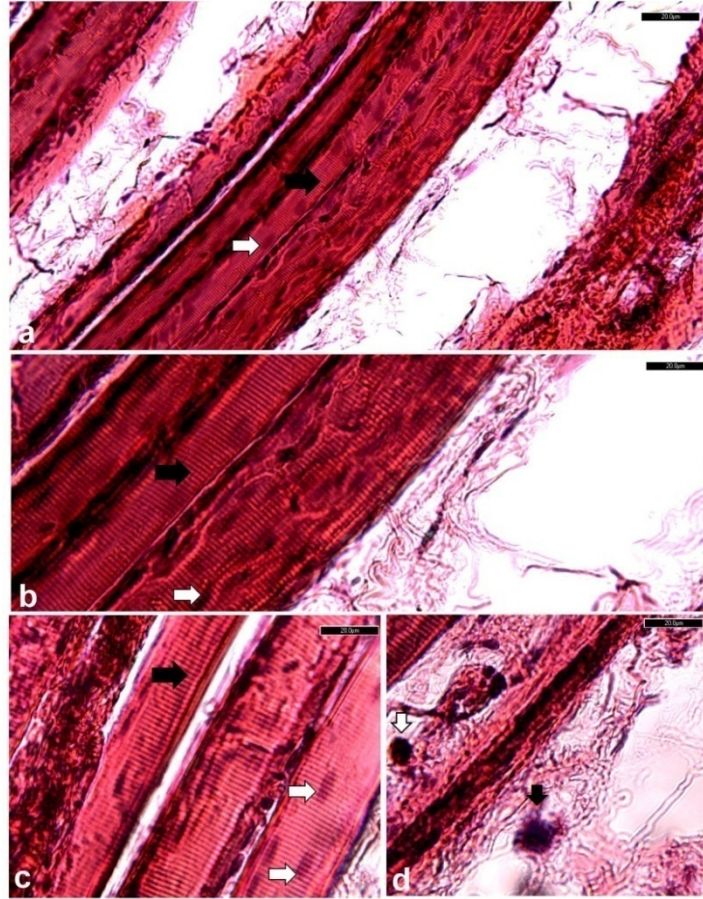
Çalışmamızın tüm istatistiksel analizleri bir istatistik programı olan SPSS® 15.0 for Windows® kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı ve $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Soleus Kası Histopatolojik Bulgular

4.1.1. Kontrol (K) Grubuna Ait Bulgular

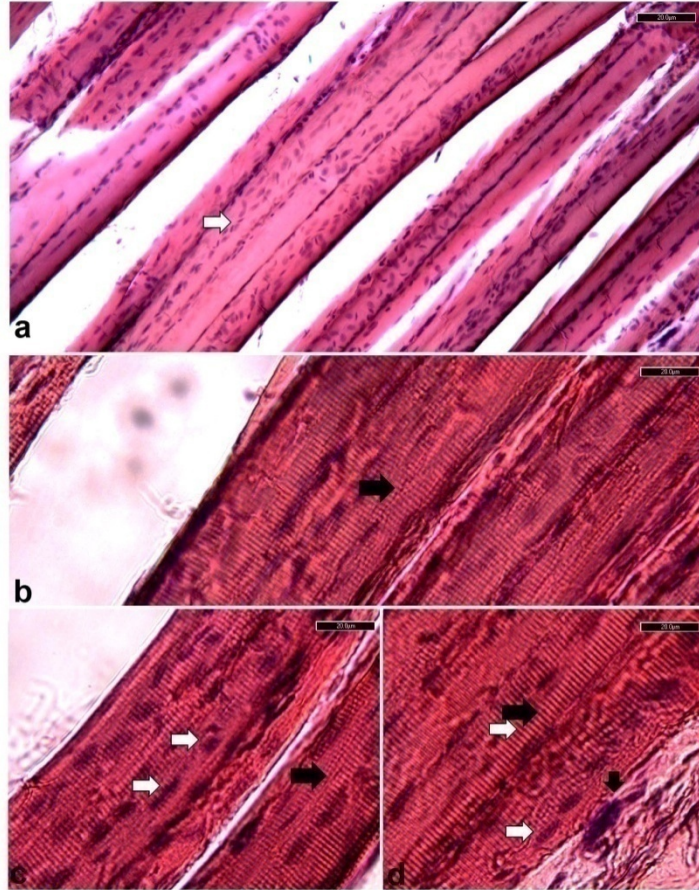
Kontrol (K) grubundan alınan 5 µm kalınlığındaki hemotoksilen eozin ile boyanan kesitlerde, soleus kası normal olarak gözlemlendi (Şekil: 4.1a). Daha büyük büyütmelerde bilinen iskelet kası çizgilenmesi dikkati çekmekteydi (Şekil: 4.1b, 4.1c). Kas hücre çekirdekleri doğal görünümdeydi (Şekil: 4.1b, 4.1c). Tek tük lökosit hücrelere rastlandı (Şekil: 4.1d).



Şekil 4.1 Kontrol (K) grubuna ait bir sıçanın soleus kas preparatları. a. Soleus kası genel görünümü (20X). b. ve c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve düzenli yerleşim gösteren miyosit çekirdekleri (40X). d. Kas lifleri arasında nadir görülen lökosit hücreler (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit, Aşağı beyaz ok: eritrosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E.

4.1.2. Östrojen Verilen ve Egzersiz Yaptırılmayan Gruba Ait Bulgular

Östrojen verilen ve egzersiz yaptırılmayan gruba ait bulgular Ö grubundan alınan 5 µm kalınlığındaki hemotoksilen eozin ile boyanan kesitlerde, soleus kası normal olarak gözlemlendi (Şekil: 4.5a). Daha büyük büyütme ölçeklerinde bilinen iskelet kası çizgilenmesi dikkati çekmekteydi (Şekil: 4.5b, 4.5c). Kas hücre çekirdekleri doğal görünümündeydi (Şekil: 4.5b, 4.5c). Tek tük lökositlere rastlandı (Şekil: 4.5d).

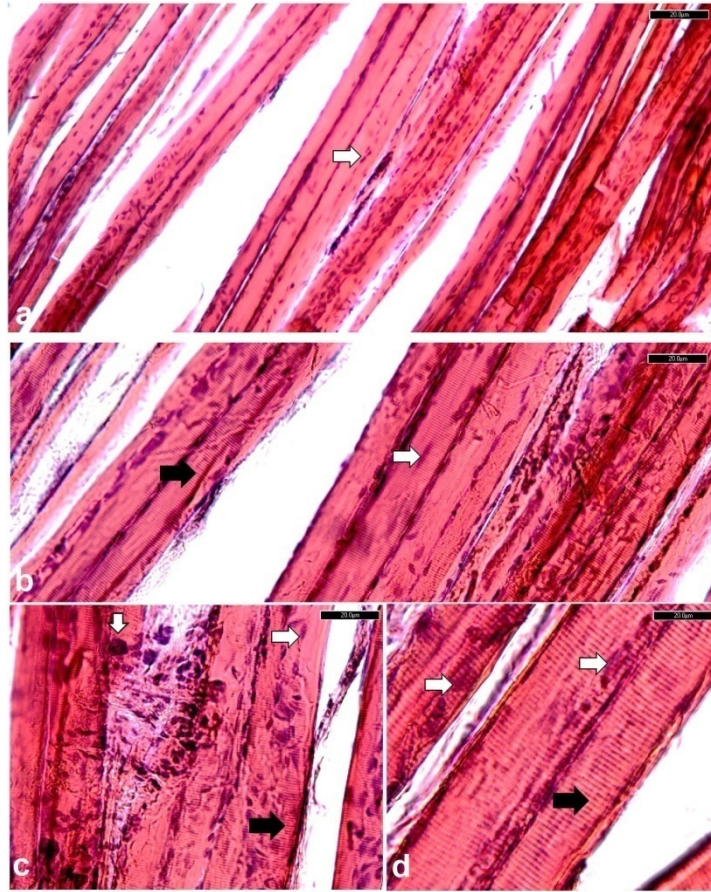


Şekil 4.2 Östrojen verilen ve egzersiz yaptırılmayan Ö grubuna ait bir sıçanın soleus kas preparatları. a. Soleus kası genel görünümü (20X). b. ve c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve düzenli yerleşim gösteren miyosit çekirdekleri (40X). d. Kas lifleri arasında nadir görülen lökosit hücreleri (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit, Aşağı beyaz ok: eritrosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E.

4.1.3. Östrojen Verilmeyen ve Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Gruba

Ait Bulgular

Östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen (E1) gruptan alınan 5 µm kalınlığındaki hemotoksilen eozin ile boyanan kesitlerde, soleus kası normal olarak gözlemlendi (Şekil: 4.3a, 4.3b). Daha büyük büyütmelerde bilinen iskelet kası çizgilenmesi dikkati çekmekteydi (Şekil: 4.3d). Kas hücre çekirdekleri doğal görünümdeydi (Şekil: 4.3b, 4.3c, 4.3d). Tek tük lökosit hücrelere rastlandı (Şekil: 4.3c).

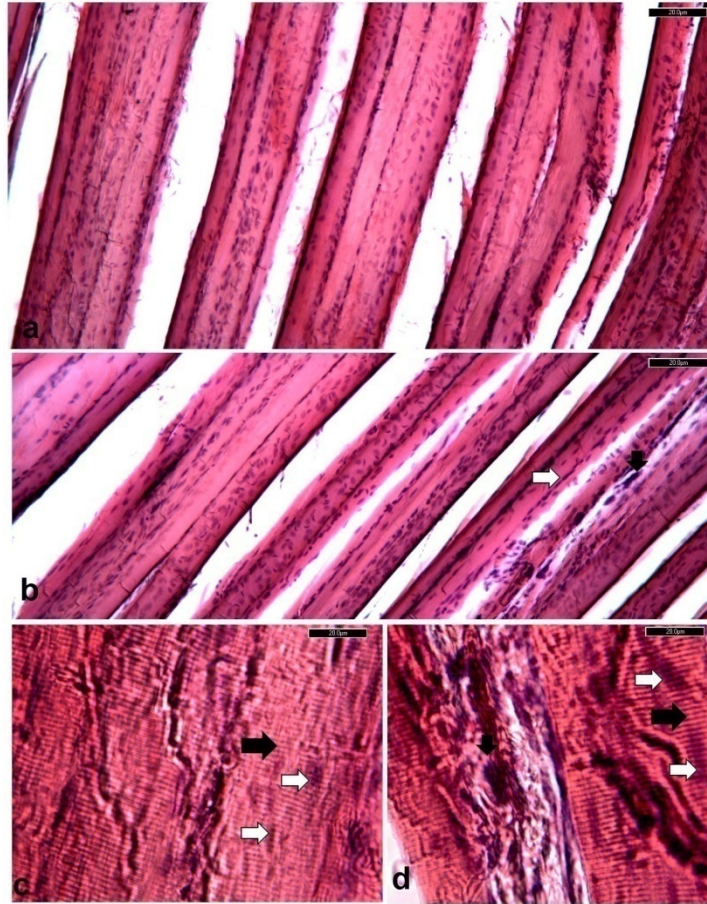


Şekil 4.3 Östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen (E1) gruba ait bir sıçanın soleus kas preparatları. a. ve b. Soleus kası genel görünümü (20X). c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve miyosit çekirdekleri (40X). d. Soleus kası lifleri arasında nadir görülen lökosit hücreleri (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit, Aşağı beyaz ok: eritrosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E.

4.1.4. Östrojen Verilen ve Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Gruba Ait

Bulgular

ÖE1 grubundan alınan 5 µm kalınlığındaki hemotoksilen eozin ile boyanan kesitlerde, soleus kası normal olarak gözlendi (Şekil: 4.2a, 4.2b). Daha büyük büyütmelerde bilinen iskelet kası çizgilenmesi dikkati çekmekteydi. Kas hücre çekirdekleri doğal görünümdeydi (Şekil: 4.2c, 4.2d). Tek tük lökosit hücrelere rastlandı (Şekil: 4.2d).

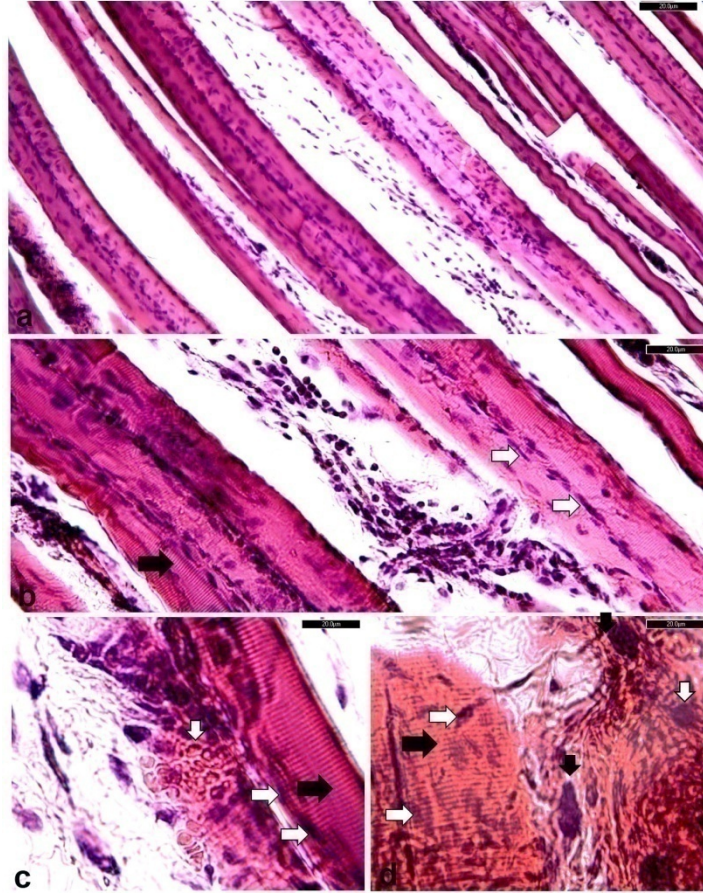


Şekil 4.4 Östrojen verilen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen (ÖE1) gruba ait bir sıçanın soleus kas preparatları. a. ve b. Soleus kası genel görünümü (20X). c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve miyosit çekirdekleri (40X). d. Soleus kası lifleri arasında nadir görülen lökosit hücreleri (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E.

4.1.5. Östrojen Verilmeyen ve Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Gruba

Ait Bulgular

Östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen (E48) gruptan alınan 5 µm kalınlığındaki hemotoksilen eozin ile boyanan kesitlerde, soleus kası anormal olarak gözlemlendi (Şekil: 4.4a, 4.4b). Daha büyük büyütmelerde bilinen iskelet kası çizgilenmesi dikkati çekmekteydi (Şekil: 4.4b, 4.4c). Küçük büyütmede K, ÖE1, E1 ve Ö'ye oranla daha yoğun bir şekilde eritrosit ve lökosit hücre oldukça dikkati çekmekteydi (Şekil: 4.4a, 4.4b). Lökositlere ve eritrositlere rastlandı (Şekil: 4.4d).

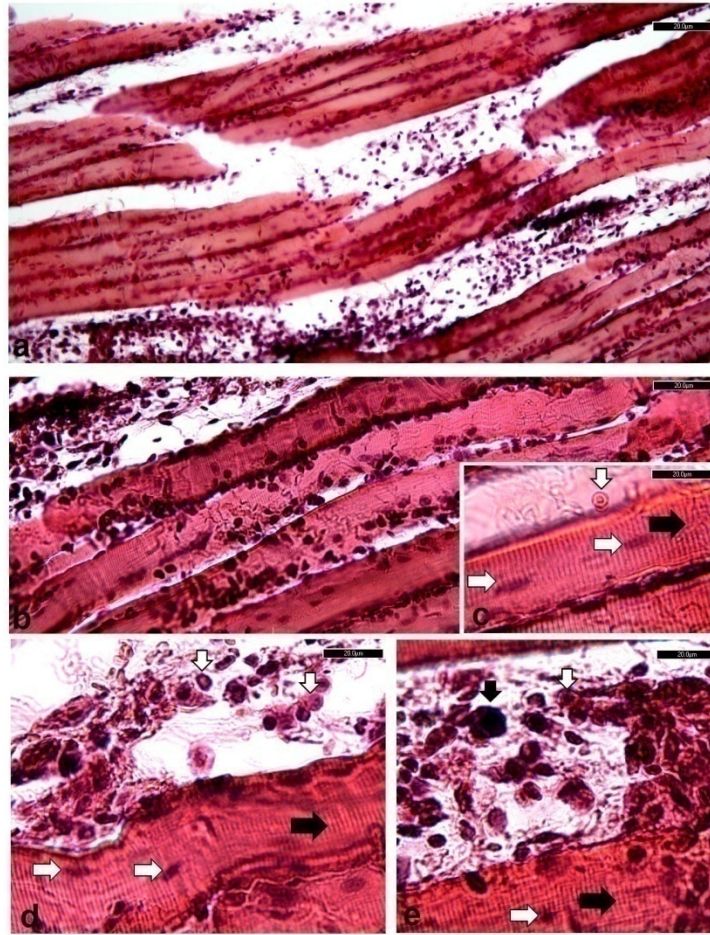


Şekil 4.5 Östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen (E48) gruba ait bir sıçanın soleus kas preparatları. a. Soleus kası genel görünümü (10X). b. İnflamasyonun görünümü (20X). c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve miyosit çekirdekleri ile inflamasyonun görünümü (40X). d. Soleus kası lifleri arasında görülen lökosit hücreleri (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit, Aşağı beyaz ok: eritrosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E.

4.1.6. Östrojen Verilen ve Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Gruba Ait

Bulgular

Östrojen verilen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen (ÖE48) gruptan alınan 5 µm kalınlığındaki hemotoksilen eozin ile boyanan kesitlerde, soleus kası anormal olarak gözlemlendi (Şekil: 4.6a, 4.6b). Daha büyük büyütmelelerde bilinen iskelet kası çizgilenmesi dikkati çekmekteydi (Şekil: 4.6b, 4.6c). Küçük büyütmede K, ÖE1, E1 ve Ö'e oranla daha yoğun bir şekilde eritrosit ve lökositler oldukça dikkati çekmekteydi (Şekil: 4.6a, 4.6b). Kan hücrelerine rastlandı (Şekil: 4.6d).



Şekil 4.6 Östrojen verilen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen (ÖE48) gruba ait bir sıçanın kas preparatları. a. Soleus kası genel görünümü (10X). b. İnflamasyonun görünümü(20X). c. Soleus kasındaki çizgilenmeler ve miyosit çekirdekleri ile inflamasyonun görünümü d. Soleus kası lifleri arasında görülen lökosit hücreleri (40X). (Sağa siyah ok: çizgilenme, Sağa beyaz ok: miyosit çekirdekleri, Aşağı siyah ok: lökosit, Aşağı beyaz ok: eritrosit). Barlar 20 µm. Kesit 5 µm, Boya: H-E.

4.2. Soleus Kası Lökosit İnfiltrasyonu

Eksantrik egzersizin iskelet kası nötrofil infiltrasyonunu artırdığını, yani kas hasarı yaptığını, lökosit infiltrasyonunun 48 saat sonunda 1. saate göre iki misline çıkan anlamlı artış gösterdiğini, östrojen suplementasyonunun bu artışı engelleyemediğini söyleyebiliriz. Sıçanların soleus kası lökosit infiltrasyonu istatistik sonuçları Tablo 4.1 ve Şekil 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1 Sıçanların soleus kasındaki lökosit infiltrasyonu (alandaki ortalama lökosit sayıları). Sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak verildi. Gruplar Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı, $p < 0.05$ ise anlamlılık düzeyi kabul edildi.

Gruplar	N	Lökosit infiltrasyonu (Toplam alanda sayılan ortalama lökosit sayıları)		
		ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)
K	6	6,67	1,37	K vs E1 ; $p=0.029$, K vs E48 ; $p=0.004$, K vs ÖE48 ; $p=0.004$
Ö	6	7,83	1,94	Ö vs ÖE48 ; $p=0.004$
E1	5	9,5	2,43	E1 vs E48 ; $p=0.004$, E1 vs ÖE48 ; $p=0.004$
ÖE1	6	9,67	2,66	ÖE1 vs E48 ; $p=0.004$, ÖE1 vs ÖE48 ; $p=0.004$
E48	6	19,17	2,14	E48 vs Ö ; $p=0.004$
ÖE48	6	22,5	1,87	ÖE48 vs E48 ; $p=0.024$

K: Kontrol Grubu

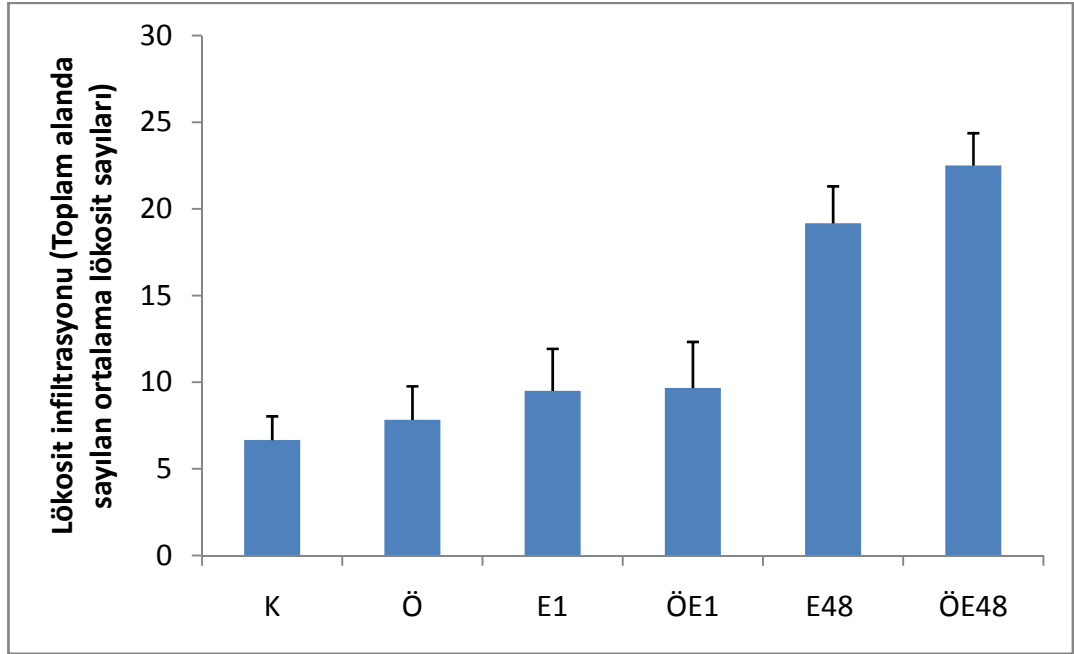
Ö: Östrojen Verilen ve Egzersiz Yapılmayan Grup

E1: Östrojen Verilmeyen ve Eksantrik Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Grup

ÖE1: Östrojen Verilen ve Eksantrik Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Grup

E48: Östrojen Verilmeyen ve Eksantrik Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Grup

ÖE48: Östrojen Verilen ve Eksantrik Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Grup



K ile E1, E48 ve ÖE48 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

Ö ile ÖE48 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

E1 ile E48 ve ÖE48 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

ÖE1 ile E48 ve ÖE48 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

E48 ile Ö ve ÖE48 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

Şekil 4.7 Toplam alanda sayılan ortalama lökosit sayıları

4.3. Biyokimya Bulguları

Çalışmamızda kullanılan tüm gruplardaki deneklerin serum, eritrosit ve doku biyokimya ölçüm sonuçları ve istatistiksel analizi Tablo 4.2 ile Tablo 4.5 arasında bu sonuçların grafikleri ise Şekil 4.8 ile Şekil 4.26’de özetlenmiştir.

Soleus Kası Sonuçları:

Soleus kası glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) ile katalaz (CAT) enzim aktiviteleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Soleus Kası Biyokimya Değerleri

Tablo 4.2 Soleus kası glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) ile katalaz (CAT) aktiviteleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak verildi. Gruplar Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı, $p < 0.05$ ise anlamlılık düzeyi kabul edildi.

Gruplar	N	GST (IU/mg protein)			GSH-Px (IU/mg protein)			SOD (IU/mg protein)			CAT (k/mg-protein)		
		ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)	ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)	ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)	ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)
K	5	1.73	0.97		1785.53	675.32	K vs Ö ; $p=0.014$	10.73	5.96		1590.13	871.42	
Ö	5	1.07	0.54		455.4	66.6	E48 vs Ö ; $p=0.027$	5.37	0.72		752.41	97.24	
E1	4	1.42	0.87		335.28	259.25	K vs E1 ; $p=0.014$	7.76	3.03		1067.96	443.15	
ÖE1	5	1.28	0.99		1050.73	524.51	ÖE1 vs E1 ; $p=0.050$	7.47	5.53		1125.35	907.16	
E48	5	1.48	0.69		886.83	438.1	K vs E48 ; $p=0.028$	10.18	4.13	E48 vs Ö ; $p=0.050$	1401.45	565.5	E48 vs Ö ; $p=0.050$
ÖE48	3	1.66	0.44		928.46	557.26		9.71	3.74		960.98	511.74	

K: Kontrol Grubu

Ö: Östrojen Verilen ve Egzersiz Yaptırılmayan Grup

E1: Östrojen Verilmeyen ve Eksantrik Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Grup

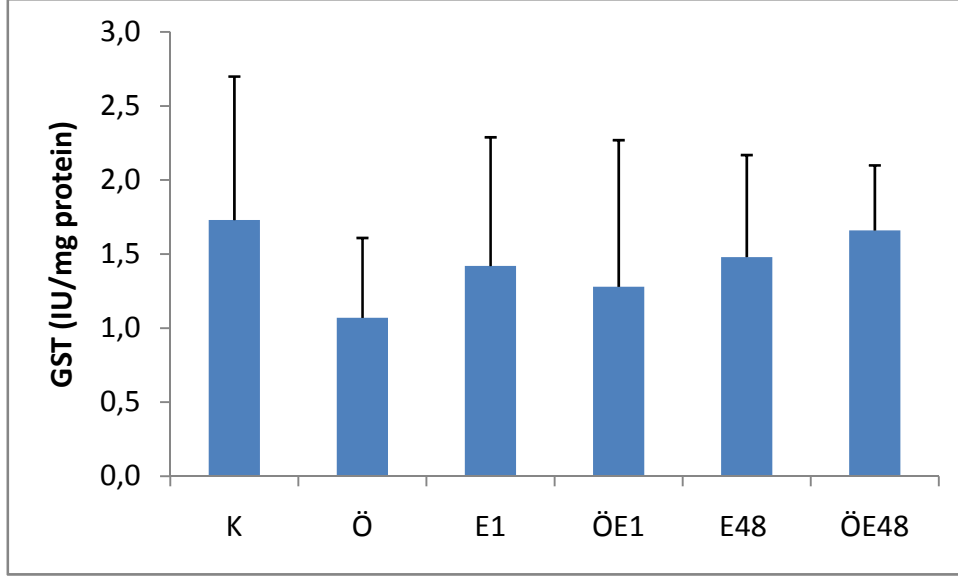
ÖE1: Östrojen Verilen ve Eksantrik Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Grup

E48: Östrojen Verilmeyen ve Eksantrik Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Grup

ÖE48: Östrojen Verilen ve Eksantrik Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Grup

4.3.1. Soleus Kas Dokusu Glutasyon S-Transferaz (GST) Ölçüm Sonucu

Soleus kas dokusunda GST aktivitesine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Soleus kas dokusu GST aktivitesi Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



Şekil 4.8 Soleus kası glutasyon S-transferaz (GST) aktivitesi

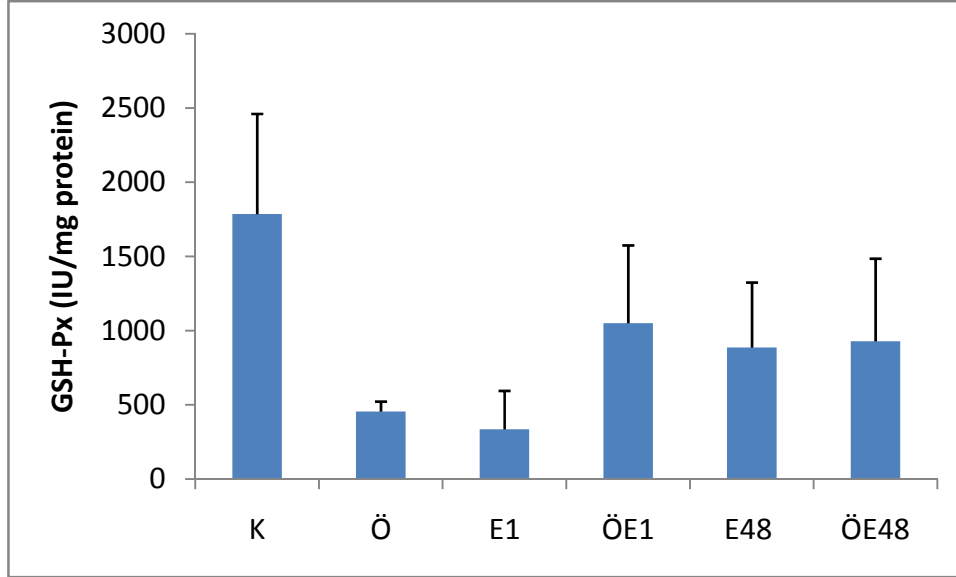
4.3.2. Soleus Kas Dokusu Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Ölçüm Sonucu

Soleus kas dokusunda GSH-Px aktivitesine bakıldığında **K** grubunun (kontrol grubu) GSH-Px aktivitesi **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.014$), **E48** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen, $p= 0.028$) ve **Ö** (östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış, $p= 0.014$) gruplarından daha yüksek olduğu görüldü.

ÖE1 grubunun (östrojen verilmiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen) GSH-Px aktivitesi **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz

yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.050$) grubundan daha yüksek olduğu görüldü.

E48 grubunun (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen) GSH-Px aktivitesi **Ö** grubundan (östrojen verilmiş, egzersiz yaptırılmamış, $p= 0.027$) daha yüksek, ancak **K** grubundan (kontrol, $p= 0.028$) daha düşük olduğu görüldü. Soleus kas dokusu GSH-Px aktivitesi Şekil 4.9’da gösterilmiştir.



K ile **Ö**, **E1** ve **E48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

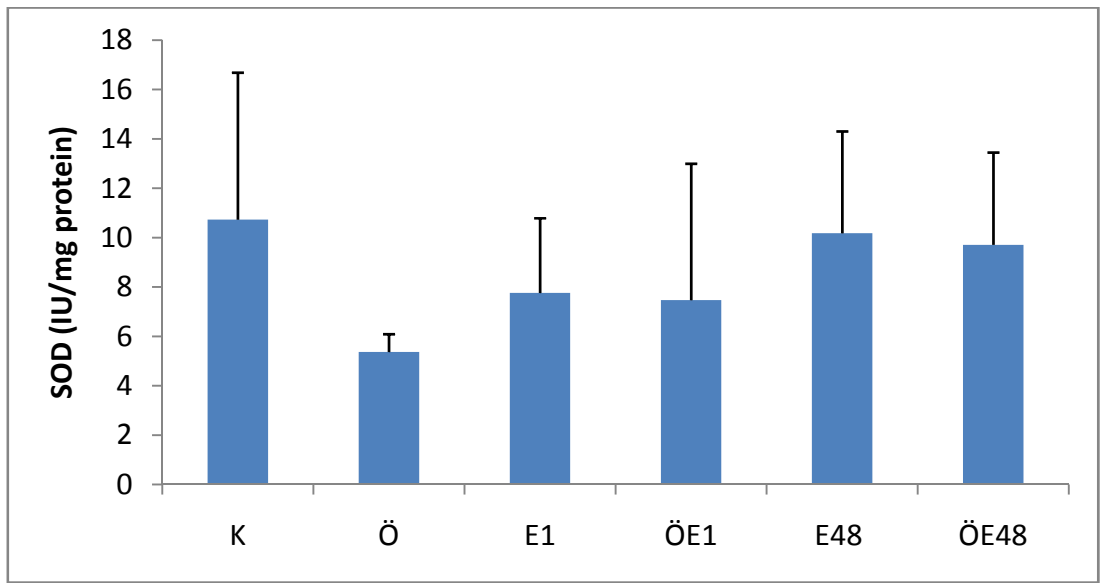
E1 ile **ÖE1** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0.05$).

Ö ile **E48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

Şekil 4.9 Soleus kası glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi

4.3.3. Soleus Kas Dokusu Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçüm Sonucu

Soleus kas dokusunda SOD aktivitesine bakıldığında **E48** grubunun (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen) SOD aktivitesi **Ö** grubundan (östrojen verilmiş, egzersiz yaptırılmamış, $p= 0.050$) daha yüksek olduğu görüldü. Soleus kas dokusu SOD aktivitesi ise Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

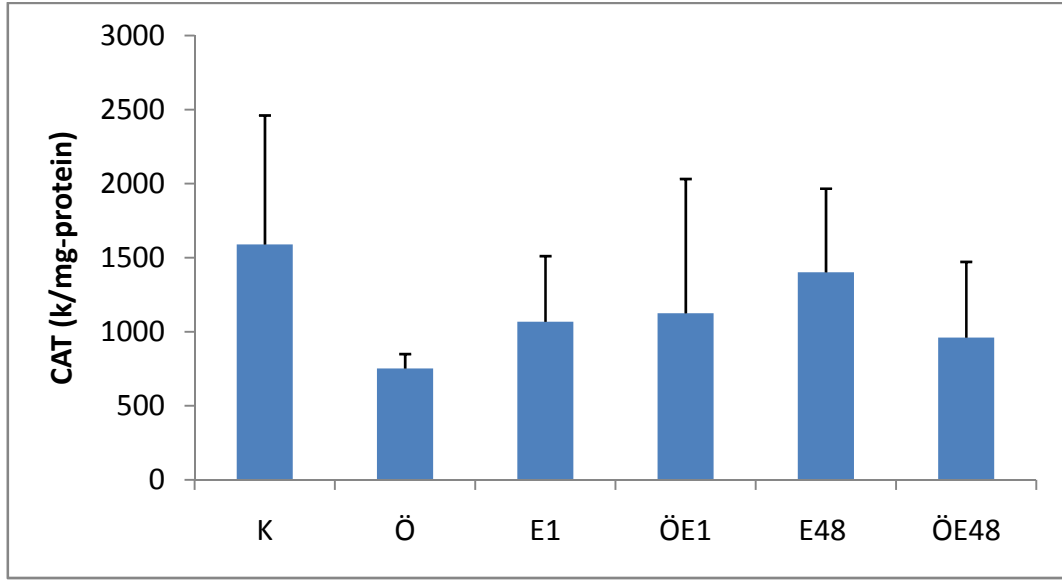


Ö ile **E48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0.05$).

Şekil 4.10 Soleus kası süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

4.3.4. Soleus Kas Dokusu Katalaz (CAT) Ölçüm Sonucu

Soleus kas dokusunda CAT aktivitesine bakıldığında **E48** grubunun (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen) CAT aktivitesi **Ö** grubundan (östrojen verilmiş, egzersiz yaptırılmamış, $p= 0.050$) daha yüksek olduğu görüldü. Soleus kas dokusu CAT aktivitesi Şekil 4.11’de gösterilmiştir.



Ö ile E48 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0.05$).

Şekil 4.11 Soleus kası katalaz (CAT) aktivitesi

Kalp Kası Sonuçları:

Kalp malondialdehit (MDA) düzeyi ile glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri Tablo 4.3’de gösterilmiştir.

Kalp Kası Biyokimya Değerleri

Tablo 4.3 Kalp kası malondialdehit (MDA) düzeyi ile glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak verildi. Gruplar Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı, $p < 0.05$ ise anlamlılık düzeyi kabul edildi.

Gruplar	N	MDA (mmol/mg protein)			GST (IU/mg protein)			GSH-Px (IU/mg protein)			SOD (IU/mg protein)			CAT (k/mg-protein)		
		ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)	ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)	ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)	ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)	ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)
K	6	2.48	1.46		2.56	1.44	K vs ÖE1 ; $p=0.037$	17302.69	8912.36		17.51	8.83	K vs ÖE1 ; $p=0.010$	396.75	198.24	K vs ÖE1 ; $p=0.010$
Ö	6	0.61	0.27	K vs Ö ; $p=0.016$	1.53	0.62		11629.69	5957.56		9.37	3.21		228.94	87.06	
E1	5	0.72	0.72	K vs E1 ; $p=0.018$	1.09	0.39	K vs E1 ; $p=0.028$	6852.75	3123.65	K vs E1 ; $p=0.028$	5.98	2.2	K vs E1 ; $p=0.011$	152.61	53.07	K vs E1 ; $p=0.018$
ÖE1	6	1.25	0.81		1.13	0.27		9098.77	4226.08		6.27	1.75		149.61	36.3	
E48	5	1.33	1.02		1.27	0.41		9322.7	1914.78		8.09	2.56	K vs E48 ; $p=0.028$	183.61	60.28	K vs E48 ; $p=0.028$
ÖE48	6	0.87	0.38		1.23	0.31	K vs ÖE48 ; $p=0.037$	8170.5	1741.55	K vs ÖE48 ; $p=0.037$	7.1	2.1	K vs ÖE48 ; $p=0.010$	170.41	47.69	K vs ÖE48 ; $p=0.025$

K: Kontrol Grubu

Ö: Östrojen Verilen ve Egzersiz Yapıtılmayan Grup

E1: Östrojen Verilmeyen ve Eksantrik Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Grup

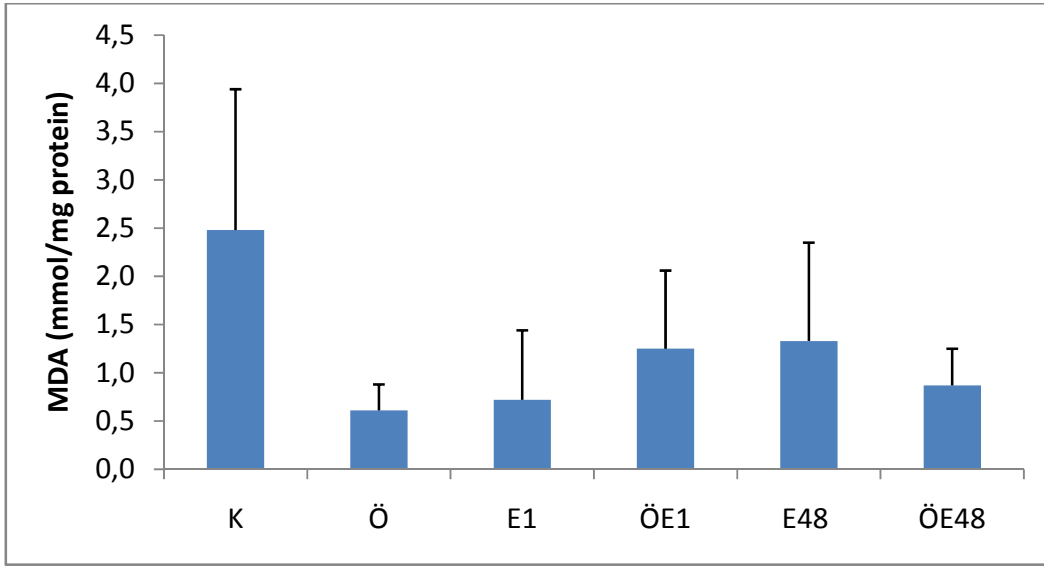
ÖE1: Östrojen Verilen ve Eksantrik Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Grup

E48: Östrojen Verilmeyen ve Eksantrik Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Grup

ÖE48: Östrojen Verilen ve Eksantrik Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Grup

4.3.5. Kalp Kas Dokusu Malondialdehit (MDA) Ölçüm Sonucu

Kalpte MDA düzeylerine bakıldığında **K** grubunun (kontrol grubu) MDA düzeyinin **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p=0.018$) ve **Ö** (östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış olan, $p=0.016$) gruplarından daha yüksek olduğu görüldü. Gruplardaki lipid peroksidasyon göstergesi olarak kabul edilen kalp MDA düzeyleri Şekil 4.12’de gösterilmiştir.

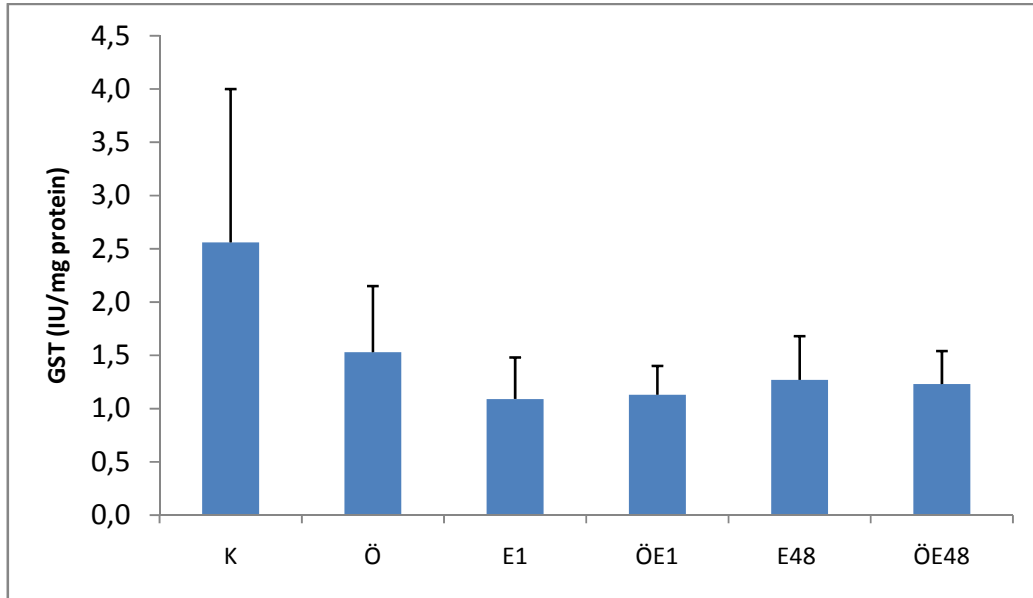


K ile **Ö** ve **E1** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. ($p<0.05$).

Şekil 4.12 Kalp kası malondialdehit (MDA) düzeyi

4.3.6. Kalp Kas Dokusu Glutasyon S-Transferaz (GST) Ölçüm Sonucu

Kalpte GST aktivitesine bakıldığında **K** grubunun (kontrol grubu) GST aktivitesi; **ÖE1** (östrojen verilen, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.037$), **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.028$) ve **ÖE48** (östrojen verilen, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen, $p= 0.037$) gruplarından daha yüksek olduğu görüldü. Kalp kası GST aktivitesi Şekil 4.13’de gösterilmiştir.

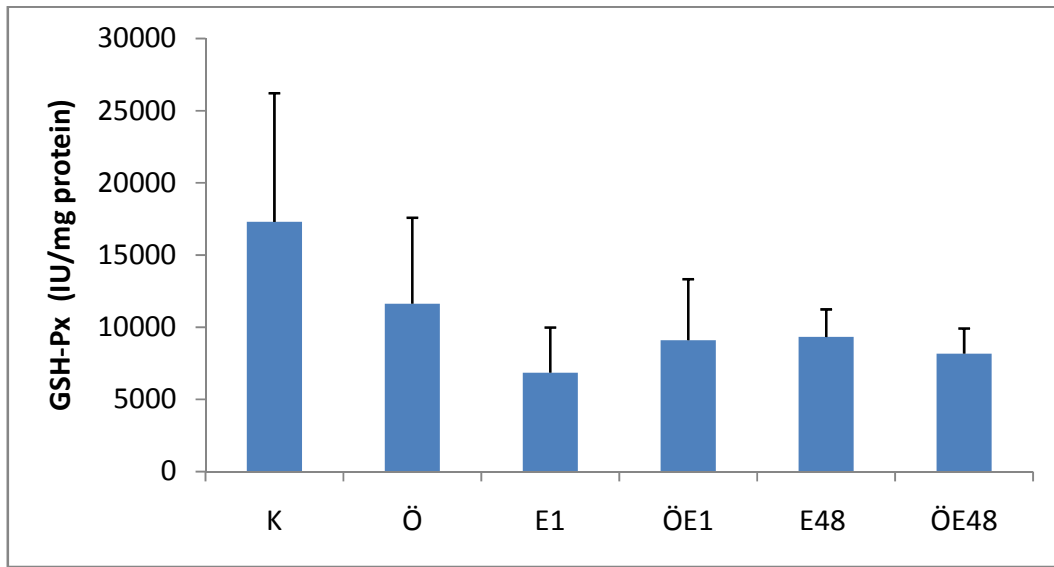


K ile **E1**, **ÖE1** ve **ÖE48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

Şekil 4.13 Kalp kası glutasyon S-transferaz (GST) aktivitesi

4.3.7. Kalp Kas Dokusu Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Ölçüm Sonucu

Kalpde GSH-Px aktivitesine bakıldığında **K** grubunun (kontrol grubu) GSH-Px aktivitesi **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p=0.028$) ve **ÖE48** (östrojen verilen, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen, $p=0.037$) gruplarından daha yüksek olduğu görüldü. Kalp kası GSH-Px aktivitesi Şekil 4.14’de gösterilmiştir.

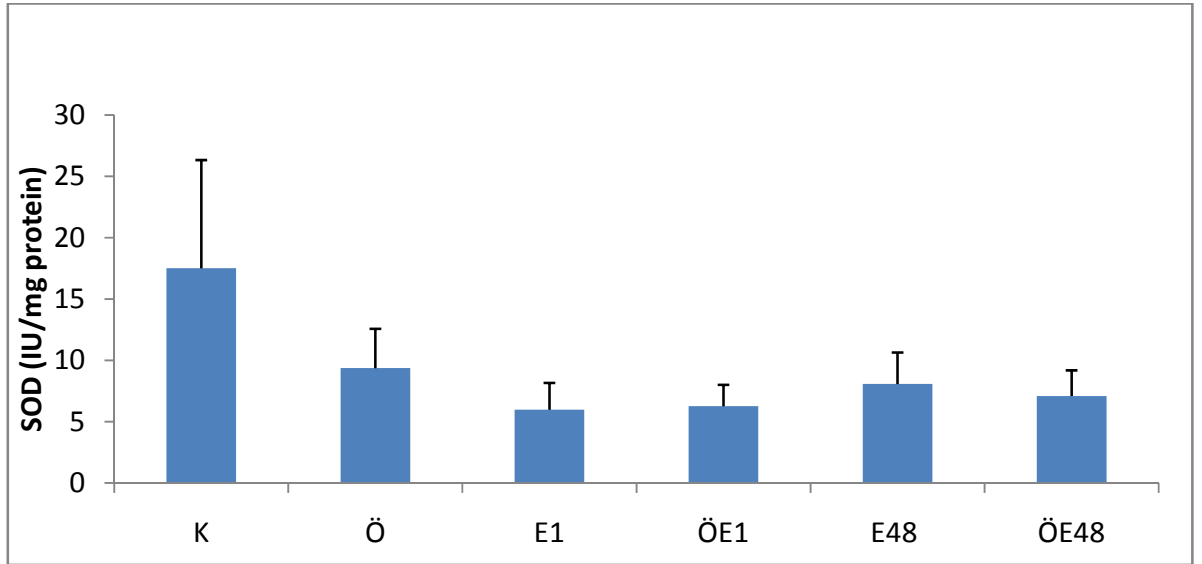


K ile **E1** ve **ÖE48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

Şekil 4.14 Kalp kası glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi

4.3.8. Kalp Kas Dokusu Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçüm Sonucu

Kalpte SOD aktivitesine bakıldığında **K** grubunun (kontrol grubu) SOD aktivitesi; **ÖE1** (östrojen verilen, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.010$), **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.011$), **E48** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen, $p= 0.028$) ve **ÖE48** (östrojen verilen, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen, $p= 0.010$) gruplarından daha yüksek olduğu görüldü. Kalp kası SOD aktivitesi Şekil 4.15’de gösterilmiştir.

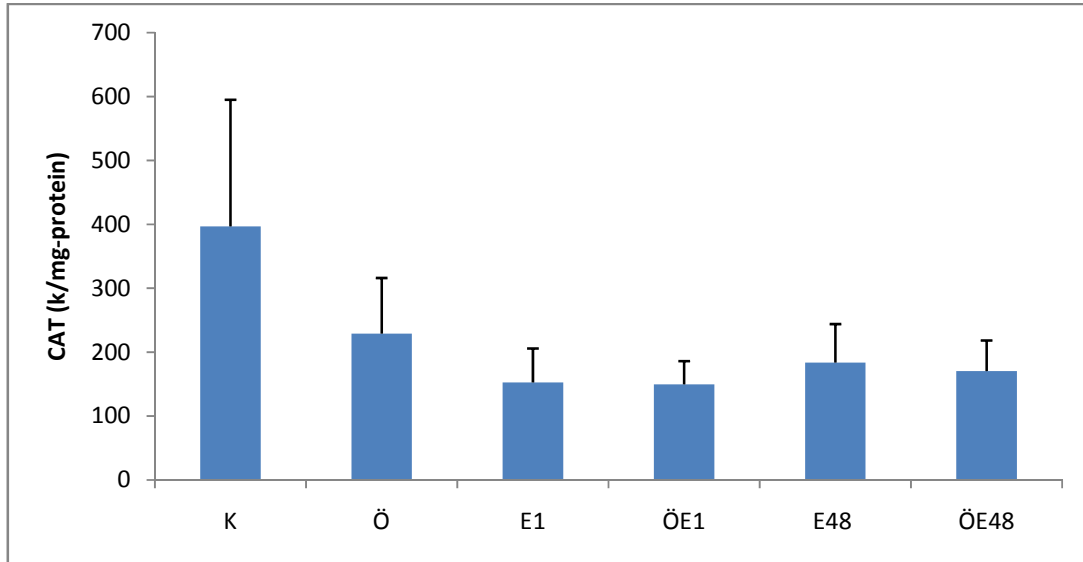


K ile **E1**, **E48**, **ÖE1** ve **ÖE48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0.05$).

Şekil 4.15 Kalp kası süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

4.3.9. Kalp Kas Dokusu Katalaz (CAT) Ölçüm Sonucu

Kalpde CAT aktivitesine bakıldığında **K** grubunun (kontrol grubu) CAT aktivitesi; **ÖE1** (östrojen verilen, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.010$), **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.018$), **E48** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen, $p= 0.028$) ve **ÖE48** (östrojen verilen, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen, $p= 0.025$) gruplarından daha yüksek olduğu görüldü. Kalp kası CAT aktivitesi Şekil 4.16’de gösterilmiştir.



K ile **E1**, **E48**, **ÖE1** ve **ÖE48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0.05$).

Şekil 4.16 Kalp kası katalaz (CAT) aktivitesi

Kan Biyokimya Sonuçları:

Serum ve eritrositlerde yapılan ölçümlerde eritrosit malondialdehit (MDA) düzeyi ve süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon S-transferaz (GST) aktiviteleri ile serum kreatin kinaz (CK) aktivitesi ve hemoglobin (Hb) düzeyleri Tablo 4.4’de gösterilmiştir.

Kan Biyokimya Değerleri

Tablo 4.4 Eritrosit malondialdehit (MDA) düzeyi ve süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon S-transferaz (GST) aktiviteleri ile serum kreatin kinaz (CK) aktivitesi ve hemoglobin (Hb) düzeyleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak verildi. Gruplar Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı, $p < 0.05$ ise anlamlılık düzeyi kabul edildi.

Gruplar	N	MDA ($\mu\text{mol/g Hb}$)			GST (U/g Hb)			SOD (U/g Hb)			CK (U/L)			Hb (g/dl)		
		ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)	ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)	ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)	ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)	ORT	SD	İstatistiksel Fark P (2-tailed)
K	6	25.71	5.59	K vs ÖE48 ; $p = 0.037$	5.53	0.85		120.99	29.29	K vs E48 ; $p = 0.025$ K vs ÖE48 ; $p = 0.037$	59.83	34.69		5.28	0.73	K vs E1 ; $p = 0.034$
Ö	6	35.67	10.51		6.63	1.22	Ö vs ÖE48 ; $p = 0.037$	133.82	23.64		41.5	32.84		4.23	0.75	K vs Ö ; $p = 0.030$
E1	5	31.09	4.66	E1 vs E48 ; $p = 0.018$	6.37	0.94	E1 vs E48 ; $p = 0.028$	112.2	20.79	E1 vs E48 ; $p = 0.045$ E1 vs ÖE48 ; $p = 0.018$	79	51.24		4.36	0.44	
ÖE1	6	29.08	7.25		6.27	1.14	ÖE1 vs E48 ; $p = 0.025$	103.98	32.39		65	16.43	ÖE1 vs E48 ; $p = 0.037$	4.77	0.77	
E48	6	23.96	3.18	E48 vs Ö ; $p = 0.016$	4.35	1.28	E48 vs Ö ; $p = 0.016$	74.17	26.33	E48 vs Ö ; $p = 0.010$	37.83	23.4		5.27	1.08	
ÖE48	6	32.11	5.19	E48 vs ÖE48 ; $p = 0.010$	4.98	0.94	E1 vs ÖE48 ; $p = 0.045$	79.82	8.9		54	33.67		4.8	0.56	

K: Kontrol Grubu

Ö: Östrojen Verilen ve Egzersiz Yapılmayan Grup

E1: Östrojen Verilmeyen ve Eksantrik Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Grup

ÖE1: Östrojen Verilen ve Eksantrik Egzersizden 1 Saat Sonra Öldürülen Grup

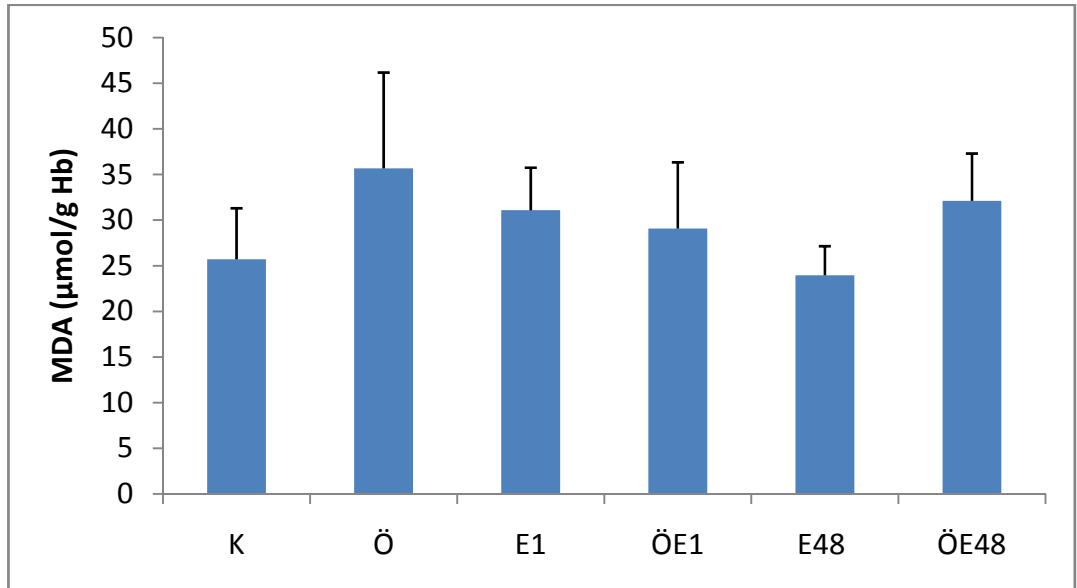
E48: Östrojen Verilmeyen ve Eksantrik Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Grup

ÖE48: Östrojen Verilen ve Eksantrik Egzersizden 48 Saat Sonra Öldürülen Grup

4.3.10. Eritrositlerde Malondialdehit (MDA) Ölçüm Sonucu

Eritrositlerde MDA düzeylerine bakıldığında **E48** grubunun (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen) MDA düzeyinin **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.018$), **Ö** (östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış olan grup, $p= 0.016$) ve **ÖE48** (östrojen verilmiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen, $p= 0.010$) gruplarından daha düşük olduğu görüldü.

ÖE48 (östrojen verilmiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen) MDA düzeyinin **K** (kontrol grubu, $p= 0.037$) ve **E48** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen, $p= 0.010$) gruplarından daha yüksek olduğu görüldü. Lipit peroksidasyon göstergesi olarak kabul edilen MDA düzeyleri Şekil 4.17’de gösterilmiştir.



K ile **ÖE48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

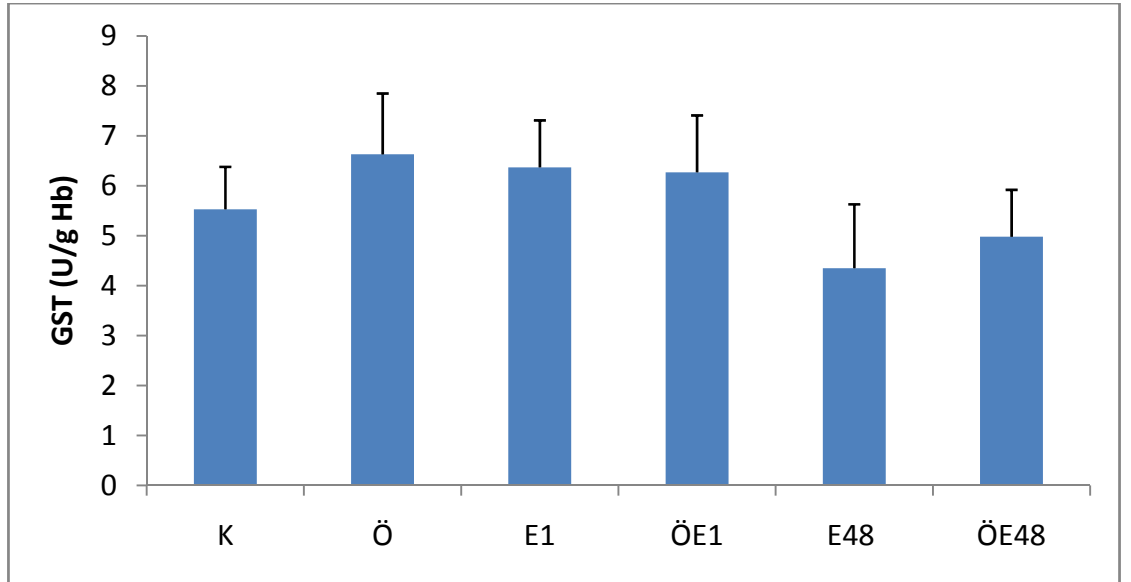
E48 ile **Ö**, **E1** ve **ÖE48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

Şekil 4.17 Kanda eritrosit malondialdehit (MDA) düzeyi

4.3.11. Eritrositlerde Glutasyon S-Transferaz (GST) Ölçüm Sonucu

Eritrositlerde GST aktivitesine bakıldığında **E48** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen) GST aktivitesi; **ÖE1** (östrojen verilen, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.025$), **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.028$) ve **Ö** (östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış, $p= 0.016$) gruplarından daha düşük olduğu görüldü.

ÖE48 grubunun (östrojen verilmiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen) GST aktivitesi; **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.045$) ve **Ö** (östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış, $p= 0.037$) gruplarından daha düşük olduğu görüldü. Eritrositlerde GST aktivitesi Şekil 4.18’de gösterilmiştir.



E48 ile **Ö**, **E1** ve **ÖE1** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

Ö ile **E48** ve **ÖE48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

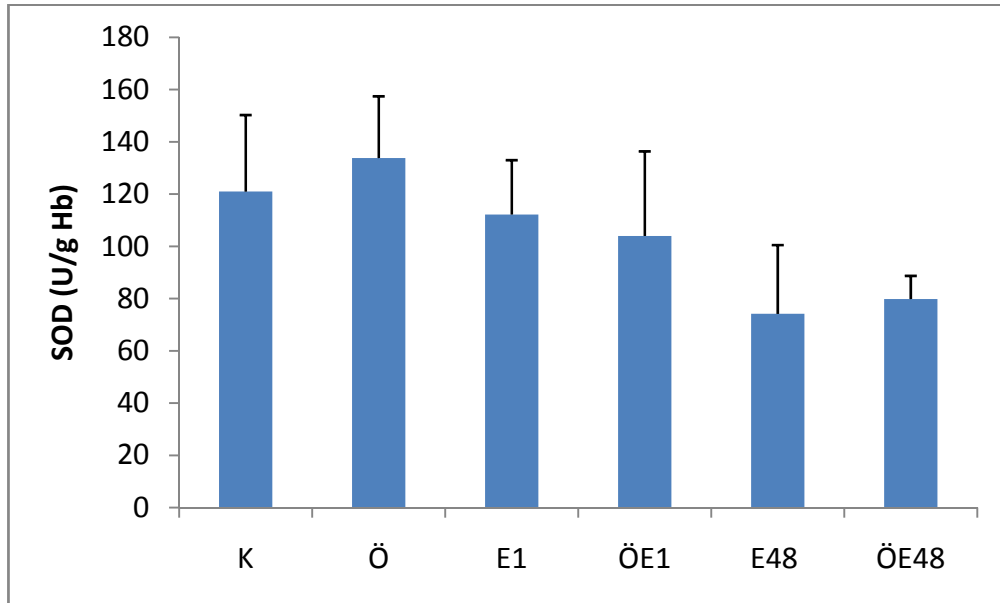
E1 ile **ÖE48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

Şekil 4.18 Kanda eritrosit glutasyon S-transferaz (GST) aktivitesi

4.3.12. Eritrositlerde Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçüm Sonucu

Eritrositlerde SOD aktivitesine bakıldığında **E48** grubunun (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 48 saat sonra öldürülen) SOD aktivitesi; **K** (kontrol, $p=0.025$), **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.045$), **Ö** (östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış, $p= 0.010$) gruplarından daha düşük olduğu görüldü.

ÖE48 grubunun (östrojen verilen ve eksantrik egzersizden 48 sa sonra öldürülen) SOD aktivitesi; **K** (kontrol, $p= 0.037$), **E1**(östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen, $p= 0.018$) gruplarından daha düşüktür. Eritrositlerde SOD aktivitesi Şekil 4.19’de gösterilmiştir.



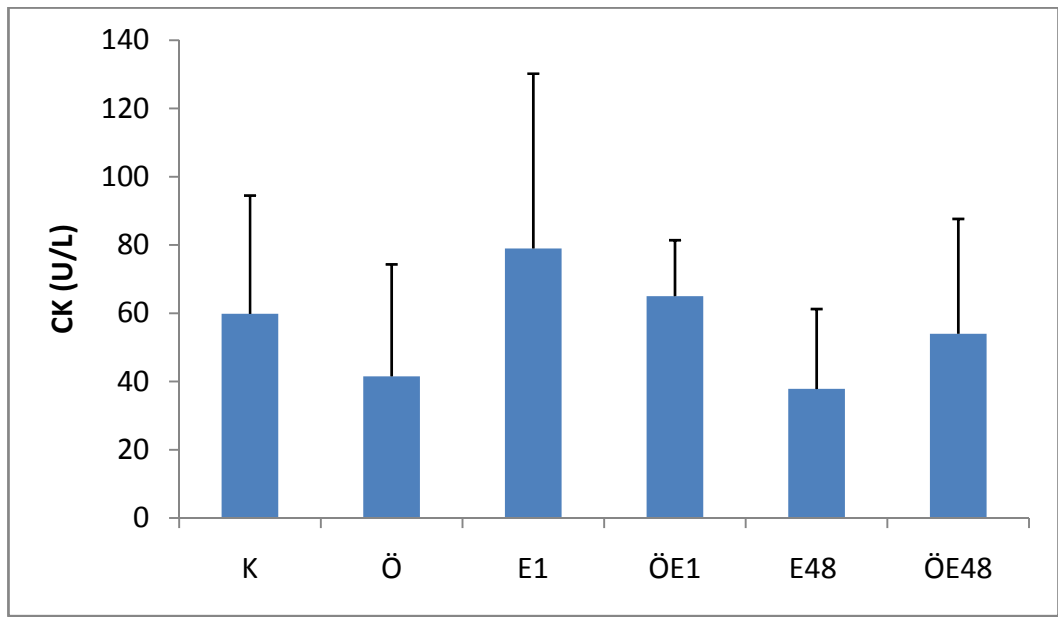
E48 ile **K**, **Ö** ve **E1** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

ÖE48 ile **K** ve **E1** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$).

Şekil 4.19 Kanda eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

4.3.13. Serum Kreatin Kinaz Ölçüm Sonucu

Serum Kreatin Kinaz (CK) aktivitesine bakıldığında **ÖE1** grubunun (östrojen verilen ve eksantrik egzersizden 1 sa sonra öldürülen) CK aktivitesi; **E48** (östrojen verilmemiş ve eksantrik egzersizden 48 sa sonra öldürülen gruptan, $p= 0.037$) grubundan daha yüksektir. Eritrositlerde CK aktivitesi Şekil 4.20’de gösterilmiştir.

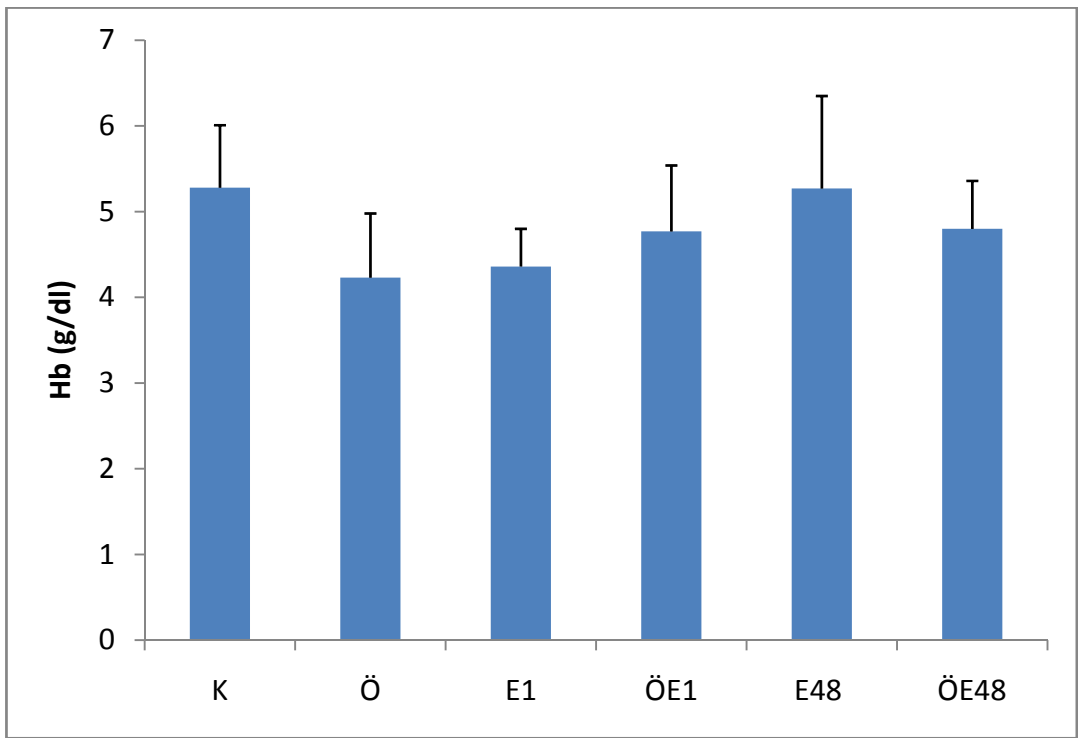


ÖE1 ile **E48** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. ($p<0.05$).

Şekil 4.20 Serum kreatin kinaz (CK) aktivitesi

4.3.14. Hemoglobin Ölçüm Sonucu

K grubunun (kontrol) hemoglobin miktarı; **E1** (östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 1 sa sonra öldürülen grup, $p= 0.034$) ile **Ö** (östrojen verilen ve egzersiz yapmayan grup, $p= 0.030$) gruplarından daha yüksekti. Gruplardaki hemoglobin düzeyleri Şekil 4.21’de gösterilmiştir.



K ile **Ö** ve **E1** arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. ($p<0.05$).

Şekil 4.21 Eritrosit hemoglobin (Hb) düzeyleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Soleus Kası Histopatolojik Bulgularının Tartışılması

Eksantrik egzersiz sonrasında kas hasarının cevabındaki rol alan faktörler arasında mekanik stres, hücre içi kalsiyum homeostazisinin bozulması ve inflamatuvar cevap bulunmaktadır.⁹ Özellikle insanlar üzerinde yapılan çalışmalarında bazı farklılıklar olmasına rağmen, çalışmaların çoğu, östrojenin iskelet kasına hasar sonrası lökosit infiltrasyonu üzerine inhibe edici bir etkisi olduğunu göstermektedir.^{12,13,198,217} Östrojen, aynı zamanda kalp kasına hasar sonrası lökosit infiltrasyonu üzerine benzer inhibe edici etkilere sahip görünmektedir.²¹⁸ Çalışmamızda kas hasarı göstergelerinden olan inflamatuvar cevabı gözlemlemek amacıyla, östrojen verilen ve verilmeyen, eksantrik egzersiz uygulanmış, sıçan iskelet kasında histopatolojik incelemeler yaptık. Yaptığımız çalışmada kontrol grubu (**K**), östrojen verilen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen (**ÖE1**), östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen (**E1**) ve östrojen verilen ve eksantrik egzersiz yaptırılmayan (**Ö**) gruplarda soleus kası genel görünümü, iskelet kası çizgilenmesi ve kas hücre çekirdekleri doğal görünümdeydi. Östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen (**E48**) ve östrojen verilen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen (**ÖE48**) gruplarda ise iskelet kası çizgilenmesi ve kas hücre çekirdekleri doğal görülmekle birlikte çok sayıda eritrosit ve lökosit hücresinin görüldüğü yoğun bir infiltrasyon vardı.

Çalışmamızda soleus kası içine infiltre olmuş olan lökosit sayısı östrojen verilmemiş olan eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen grupta (**E1**), östrojen verilmemiş olan kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (**K** ve **E1**, $p=0.029$). Bu yükseklik egzersizden 48 saat sonra da artarak devam etti (**K** ve **E48**, $p=0.004$).

Çalışmamızda sadece egzersiz yapılmadan östrojen verilmesi soleus kası lökosit infiltrasyonunu etkilememiştir (**K** ve **Ö**). Östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen gruba nazaran, 48 saat sonra öldürülen grupta (**E1** ve **E48**, $p=0.004$) lökosit infiltrasyonunda artış tespit edildi. Bu bulgu bize literatürde de belirtildiği gibi lökosit infiltrasyonu için zamana ihtiyaç olduğunu düşündürdü.^{8,219} Östrojen verilen grupta da aynı durum söz konusudur (**ÖE1** ile **ÖE48**, $p=0.004$). Öte yandan, östrojen verilmesi egzersiz sonrası 1. saatte lökosit infiltrasyonunu etkilemezken (**E1** ve **ÖE1**), 48 saat sonra öldürülen sıçanlarda lökosit infiltrasyonunda azalma yerine, artışa yol açmıştır (**E48** ve **ÖE48**, $p=0.024$). Bu bulgu erkek sıçanlarda 14 gün boyunca östrojen verilmesinin, östrojen verilmeyen erkek sıçanlara göre egzersizden 24 saat sonra iskelet kasına lökosit infiltrasyonunu yavaşlattığı bulgusu ile ters düşmektedir.²¹⁷ Yapılan bir çalışmada overleri çıkarılmış dişi sıçanlarda, 8 günlük hormon replasman tedavisinden sonra egzersiz yaptırılmış ve 24 saat sonra soleus (kırmızı) ve yüzeysel (beyaz) vastus kasları çıkarılmış nötrofil ve makrofaj için immünohistokimyasal boyama yapılmıştır. Östrojen eklenmesinin egzersiz sonrası lökosit infiltrasyonunu her iki kasta da tamamen yavaşlattığı bulundu.²²⁰ Ancak, sağlıklı erkeklerde egzersize sistemik inflamasyonla ilişkili yanıtlar üzerine östrojenin etkileri in vivo olarak çalışılmış; egzersiz sonrasında kanda nötrofil sayılarında artış tespit edilmiş, ancak 8 günlük 17 beta-Estradiol eklenmesi (ES; 2 mg/gün) egzersize bağlı kan nötrofil sayı artışını etkilememiştir.²²¹ Yine benzer şekilde, iskelet kasında egzersiz sonrası bildirilen önceki bulgulara ters bir şekilde, östrojen eklenmesi iskemi sonrası 72 saate kadar olan sürede iskelet kası hasarı veya nötrofil infiltrasyonunu gösteren miyeloperoksidaz gibi belirteçlerde azalmaya yol açmamıştır.²²² Hasar gören kasa erken lökosit (esas olarak nötrofil) infiltrasyonunun östrojen ve cinsiyet tarafından etkilendiği

gösterilmiştir. Tiidus ve Bombardier²¹⁷ 14 gün boyunca östrojen verilmesinin erkek sıçanlarda östrojen verilmeyen erkek sıçanlara göre egzersizden 24 saat sonra iskelet kasına lökosit infiltrasyonunu yavaşlattığını rapor etmişlerdir. O çalışmada dişi sıçanların aynı zamanda erkeklere göre anlamlı olarak daha düşük egzersiz sonrası kas lökosit infiltrasyonuna sahip olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak, östrojen verilen erkeklerin normal dişilere benzer şekilde egzersiz sonrası lökosit düzeylerine sahip oldukları bildirilmiştir. Aynı laboratuarda yapılan daha sonraki çalışmalarda östrojen verilen veya verilmeyen overleri çıkarılmış dişi sıçanlarda östrojenin benzer etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Stupka ve Tiidus¹² overleri çıkarılmış kontrol grubu sıçanlara göre, normal ve overleri çıkarılmış ama östrojen yerine koyma tedavisi almış sıçanlarda 2 saatlik iskeminin indüklediği kas hasarında kas nötrofil infiltrasyonunu (immünohistokimyasal yolla saptanmış) yavaşlattığını bildirmişlerdir. Tiidus ve arkadaşları¹³ aynı zamanda overleri çıkarılmış östrojen verilmiş sıçanlarda, overleri çıkarılmış kontrol sıçanlara göre koşu egzersizinden 1 saat sonra kas nötrofil infiltrasyonunda yavaşlama olduğunu bulmuşlardır. Görüldüğü gibi, genellikle olumlu etki yapsa bile, hasar türü, doku çeşidi veya östrojen düzeyi gibi çeşitli değişkenler nedeniyle, östrojenin nötrofil infiltrasyonunu yavaşlatıcı etki yapmasıyla ilgili tutarsız sonuçlar elde edilmiş olabilir.

Eksantrik egzersizin iskelet kası nötrofil infiltrasyonunu arttırdığını, yani kas hasarı yaptığını, lökosit infiltrasyonunun 48 saat sonunda 1. saate göre iki misline çıkan anlamlı artış gösterdiğini, kullandığımız dozda ve şekilde östrojen suplementasyonunun bu artışı engelleyemediğini söyleyebiliriz.

Eksantrik egzersizden sonra kasların histolojik ve elektron mikroskopik incelenmelerinde hücre iskeleti kas lifleri, T tübülleri, sarkolemma kas ipliklerinin iç

çevresi hasarı direk delillerini olarak düşülmektedir.⁵¹ Egzersiz kas hücre yapılarına zarar verir ve ekstrasellüler matriksi alt üst eden bu hasar kas fonksiyonlarının bozulması eşliğinde olur.^{9,18}

5.2. Soleus Kası Biyokimyasal Sonuçların Tartışılması

Doku miktarındaki yetersizlik nedeniyle soleus kası MDA düzeyi ölçülemedi. Östrojen verilmesi soleus kası GSH-Px aktivitesinde kontrol grubuna göre azalmaya neden oldu (**K** ve **Ö**, $p=0.014$, Tablo 4.2). Östrojen eklenmesi eksantrik egzersiz yaptırılıp 1 saat sonra öldürülen sıçanlarda soleus kasında GSH-Px aktivitesinde artırdığı halde (**ÖE1** ve **E1**, $p=0.050$, Tablo 4.2), bu artış 48 saat sonra öldürülen sıçanlarda gözlenmedi. Öte yandan, soleus kası GST aktivitesi ne eksantrik egzersizden ne de östrojen eklenmesinden etkilendi (Tablo 4.2). Soleus kası SOD ve CAT aktiviteleri incelendiğinde östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen grup (**E48**) ile östrojen verilen ve egzersiz yaptırılmayan grup (**Ö**) arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olsa da, bu parametreler ne eksantrik egzersizden ne de östrojen eklenmesinden etkilenmişlerdir (Tablo 4.2). Bizim bilgilerimize göre soleus kası GSH-Px aktivitesi üzerine östrojen ve eksantrik egzersizin etkileri daha önce rapor edilmemiştir. Sadece östrojen verilmesi kontrol grubuna göre GSH-Px aktivitesini düşürmekte, eksantrik egzersizle birlikte olursa, östrojen GSH-Px aktivitesini anlamlı olarak yükseltmektedir. Bu durum, östrojenin GSH-Px enzim aktivitesi üzerine olumsuz etkisinin eksantrik egzersiz sırasında kaybolduğunu, hatta yükseltici etkiye dönüştüğünü göstermiştir. Egzersiz sırasında oksijen tüketimindeki artış ve buna bağlı olarak artan reaktif oksijen radikallerini uzaklaştırmak amacıyla GSH-Px aktivitesinde oluşan artış östrojen tarafından potansiyalize edilmiş olabilir.¹⁴¹

Postmenopozal kadınlarda hormon yerine koyma tedavisinin iskelet kası hasarı üzerine koruyucu olup olmadığı araştırılmıştır.²²³ Dokuz kadın üzerinde egzersiz öncesi ve egzersizden sonraki 24, 48 ve 72 saat sonra serum kreatin kinaz, hissedilen geç başlayan kas hassasiyeti (delayed onset muscle soreness) ve kuadriseps kası maksimum kasılma gücü östrojen yerine koyma tedavisi ve tedavi kesildikten 28-45 gün sonrasında araştırılmıştır. Egzersizden 24 ve 48 saat sonra serum kreatin kinaz aktivitesi artmıştır, ancak östrojen seviyesi yüksek olduğunda da serum kreatin kinaz aktivitesi östrojen seviyesi düşük olan duruma göre daha yüksek çıkmıştır. Ayrıca östrojenli dönemdeki hissedilen geç başlayan kas hassasiyeti skoru da östrojensiz döneme göre daha yüksek çıkmıştır. Bu sonuçlara göre araştırmacılar östrojenin iskelet kasını korumadığı sonuca varmışlar ve bunun çalışma düzeninden kaynaklanmış olabileceği, daha uzun süreli bir washout dönemine (hormon replasman tedavisi sonrası dönem) ihtiyaç olduğu sonucuna varmışlardır.²²³

5.3. Kalp Kası MDA Düzeyi ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri Sonuçlarının Tartışılması

Kalp MDA düzeylerine bakıldığında **K** grubu (kontrol grubu) MDA düzeyinin **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen) ve **Ö** (östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış olan) gruplarından daha yüksek olduğu görüldü (**Tablo 4.3**).

Östrojenin aralıklı hipoksi yapılan sıçan kalbinde antioksidan ve antiaritmik etkileri araştırılmış ve östradiolün kontrol grubuna göre MDA düzeyini düşürmeye yardımcı olduğu bulunmuştur.²²⁴ Östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış olan **Ö** grubunun MDA düzeyinin kontrol grubuna göre (**K**) daha düşük olması östrojenin antioksidan bir etki yaparak lipid peroksidasyonunu azalttığını gösterebilir. Bu

gruaplarda kalp dokusunda ölçülmüş olan antioksidan enzim düzeyleri arasında bir anlamlı bir fark bulunamadı. Östrojenin bu antioksidan etkisi onun membran stabilize edici etkisine bağlı olabilir.¹⁸

Östrojen verilmeyen ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen grupta (**E1**) kalp MDA düzeyi beklenmedik bir şekilde kontrol grubuna (**K**) göre daha düşük bulundu. Eksantrik egzersizin kalp dokusunda lipid peroksidasyonunu arttırmayıp tam tersine azaltması, bu egzersiz türünün iskelet kasına nazaran kalpte fazla hasar yaratmadığını düşündürdü.

Kalp dokusu antioksidan enzim aktivite değişimlerine bakıldığında, östrojen verilmeyip, eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen sıçan kalbinde GST, GSH-Px, SOD ve CAT enzim aktivitelerinde, kontrol grubuna göre anlamlı bir düşme izlendi (**K** ve **E1**; GST, $p=0.028$; GSH-Px, $p=0.028$; SOD, $p=0.011$; ve CAT, $p=0.018$). Bunlardan SOD ve CAT enzim aktiviteleri 48 saat sonra da kontrol grubuna göre düşük olan değerlerini korudu (**K** ve **E48**; SOD, $p=0.028$; CAT, $p=0.028$).

Östrojen verilen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen sıçan kalbinde GST, SOD ve CAT enzim aktivitelerinde, kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma izlendi (**K** ve **ÖE1**; GST, $p=0.037$; SOD, $p=0.010$; ve CAT, $p=0.010$). Ölçülen antioksidan enzimleri hepsinde egzersizden 48 saat sonra kontrol grubuna göre daha düşük değerler tespit edildi (**K** ve **ÖE48**; GST, $p=0.037$; GSH-Px, $p=0.037$; SOD, $p=0.010$; CAT, $p=0.025$).

Öte yandan, östrojenin kontrol grubuna göre (**K** ve **Ö**) GST, GSH-Px, SOD ve CAT aktivitelerini etkilemediği izlendi. Kalpte eksantrik egzersizin ölçülen antioksidan enzimler üzerine etkisini rapor eden herhangi bir çalışmaya rastlanamadı. Kalp dokusu ile ilgili bulgularımız, östrojenin lipid peroksidasyonu antioksidan enzim aktivitelerini

etkilemeden azaltmış olması, östrojenin bu etkisini membran stabilizasyonunu artırıcı etki yoluyla yaptığı görüşünü desteklemektedir.¹⁸

5.4. Serum Kreatin Kinaz Aktivitesi Değişiklikleri

Eksantrik veya alışılmamış egzersiz, travma, veya iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası kas membranında ve yapısında bozulma olduğu ortaya konulmuştur. Kas membranı bozulmasının ortak özellikleri arasında kasa özgü proteinlerin ve polipeptidlerin kas hücre membranından içeri veya dışarı doğru seçici göçü bulunur. Kas membran hasarının en yaygın ölçülen göstergesi kreatin kinazın dolaşıma geçmesidir.^{225,226} Kadınlarda östrojen düzeyinin eksantrik egzersiz sonrası kas dokusu hasarı göstergesi olan kreatin kinaz (CK) aktivitesi ve geç başlayan kas hassasiyeti üzerine etkileri araştırılmış.²²⁷ Bu çalışmada, 17 oral kontraseptif kullanan ve 10 normal adet gören kadın maksimal oksijen tüketimlerinin yaklaşık % 60 seviyesinde 30 dakika aşağı doğru koşu egzersizini tamamlamışlardır. CK ve geç başlayan kas hassasiyeti egzersiz öncesi ve egzersiz sonrası 24, 48 ve 72 saat sonra değerlendirilmiş. Eksantrik egzersiz sonrası CK aktivitesi artışı olmuş, oral kontraseptif kullanan kadınlarda egzersiz sonrası 72. saatte CK aktivitesi normal adet gören kadınlardan daha aşağı seviyeler inmiş. Öte yandan eksantrik egzersiz her iki grupta da geç başlayan kas hassasiyetini artırmış. Araştırmacılar, bu sonuçlardan östrojenin egzersiz sonrası kas hasarını önlediği çıkarımında bulunmuşlardır.²²⁷ Bizim çalışmamızda ise serum kreatin kinaz aktivitesi östrojen verilen ve eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen grupta (ÖE1), östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen gruba (E48) göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0.037$). Buna rağmen, serum kreatin kinaz aktivite sonuçlarımızın ne östrojen eklenmesinden ne de eksantrik egzersiz egzersizden etkilendiğini söyleyebiliriz. Serum CK aktivitesinin eksantrik egzersize

bağlı kas hasarı sonucunda artmasını beklerdik ancak egzersize bağlı bir artış gözlemlemedik. Bu bize olası kas hasarının kana çok yansımadığını ya da beklenildiği kadar kas hasarı oluşmamış olabileceğini gösterdi.

5.5. Eritrosit MDA Düzeyi ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri Sonuçlarının Tartışılması

Östrojen verilmesi kontrol grubuna oranla eritrosit MDA düzeyini etkilemedi (**K** ve **Ö**). Eksantrik egzersiz egzersizden 1 saat (**K** ve **E1**) ve 48 saat (**K** ve **E48**) sonraki eritrosit MDA düzeylerini etkilemedi.

Östrojen verilmeyip, eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen sıçanların eritrosit MDA değerleri, yine östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen sıçanların eritrosit MDA değerlerinden daha fazlaydı (**E1** ve **E48**, $p=0.018$). Egzersizden sonra geçen süre arttıkça eritrosit MDA düzeyinde azalma olması, egzersiz sonrası oksijen tüketiminde ve dolayısıyla serbest oksijen radikalleri oluşumundaki azalmayla veya bu arada oluşmuş olan radikallerin antioksidan savunma mekanizmaları tarafından bertaraf edilmiş olmasına bağlı olabilir.

Öte yandan, östrojen verilen ve verilmeyen hayvanlar eksantrik egzersize maruz bırakıldıktan 1 saat sonra öldürüldüklerindeki eritrosit MDA düzeyleri arasında bir fark yoktu (**ÖE1** ve **E1**), ancak 48 saat sonra öldürülen gruplar arasında anlamlı bir fark vardı (**E48** ve **ÖE48**, $p=0.010$). Östrojen verilip, eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen sıçanların eritrosit MDA değerleri, östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen sıçanların eritrosit MDA değerlerinden daha yüksekti (**E48** ve **ÖE48**, $p=0.010$). Östrojen verilmesi, yukarıda bahsedilen eksantrik egzersizden sonra geçen süre arttıkça eritrosit MDA düzeyinde oluşan azalmaya ters bir şekilde eritrosit MDA düzeyinde artışa yol açtı. Bu durum östrojenin kanda antioksidan

değil, tam tersine pro-oksidan olarak çalışmış olduğunun bir göstergesi olabilir. Östrojenlerin mitokondriyal aktiviteyi ve östrojen metabolitlerinin redoks siklusunu artırarak reaktif oksijen türleri oluşumunu artırabildikleri bildirilmiştir.¹⁷ Egzersizden 48 saat sonra kaslara nötrofil infiltrasyonunda bir artış olur ve kas hasarının tamiri sırasında oksidatif patlama nedeniyle nötrofillerden kana geçen serbest oksijen radikalleri oluşumu artabilir.⁸

Östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen sıçanların eritrosit GST aktivitesi kontrol grubuna göre daha düşüktü (**K** ve **E48**, $p=0.025$). Östrojen verilmeyip, eksantrik egzersizden 1 saat sonra öldürülen sıçanların eritrosit GST ve SOD enzim aktiviteleri değerleri, yine östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen sıçanların eritrosit GST ve SOD enzim aktiviteleri değerlerinden daha yüksekti (GST: **E1** ve **E48**, $p=0.028$; SOD: **E1** ve **E48**, $p=0.018$). Egzersizden 1 saat sonraki dönemde ölçülen eritrosit antioksidan enzim aktivitelerinin yüksek olması, bu dönemde kendini artmış MDA düzeyi ile belli eden artmış oksidatif stresle mücadele etmek üzere oluşmuş olan kompensatuvar bir artış olarak yorumlanabilir.

Sonuçlar

Eksantrik egzersizin iskelet kası nötrofil infiltrasyonunu arttırdığını, yani kas hasarı yaptığını, lökosit infiltrasyonunun 48 saat sonunda 1. saate göre iki misline çıkan anlamlı artış gösterdiğini, östrojen suplementasyonunun bu artışı engelleyemediğini söyleyebiliriz.

Soleusta sadece östrojen verilmesi kontrol grubuna göre GSH-Px aktivitesini düşürmekte, eksantrik egzersizle birlikte olursa, östrojen GSH-Px aktivitesini anlamlı olarak yükseltmektedir. Bu durum, östrojenin GSH-Px enzim aktivitesi üzerine olumsuz

etkisinin eksantrik egzersiz sırasında kaybolduğunu, hatta yükseltici etkiye dönüştüğünü gösterdi. Egzersiz sırasında oksijen tüketimindeki artış ve buna bağlı olarak artan reaktif oksijen radikallerini uzaklaştırmak amacıyla GSH-Px aktivitesinde oluşan artış östrojen tarafından potansiyalize edilmiş olabilir.

Kalp MDA düzeylerine bakıldığında **K** grubunun (kontrol grubu) MDA düzeyinin **E1** (östrojen verilmemiş, eksantrik egzersiz yaptırılmış ve egzersizden 1 saat sonra öldürülen) ve **Ö** (östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış olan) gruplarından daha yüksek olduğu görüldü. Östrojen verilen, egzersiz yaptırılmamış olan **Ö** grubunun MDA düzeyinin kontrol grubuna göre (**K**) daha düşük olması östrojenin antioksidan bir etki yaparak lipid peroksidasyonunu azalttığını gösterebilir. Bu gruplarda kalp dokusunda ölçülmüş olan antioksidan enzim düzeyleri arasında bir anlamlı bir fark bulunamadı. Östrojenin bu antioksidan etkisi onun membran stabilize edici etkisine bağlı olabilir.

Kas membran hasarının en yaygın ölçülen göstergesi kreatin kinazın dolaşıma geçmesidir. Serum CK aktivitesinin eksantrik egzersize bağlı kas hasarı sonucunda artmasını beklerdik, ancak egzersize bağlı bir artış gözlemlemedik. Bu bize olası kas hasarının kana çok yansımadığını ya da beklenildiği kadar kas hasarı oluşmamış olabileceğini düşündürdü.

Östrojen verilip, eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen sıçanların eritrosit MDA değerleri, östrojen verilmeyen ve eksantrik egzersizden 48 saat sonra öldürülen sıçanların eritrosit MDA değerlerinden daha yüksekti (**E48** ve **ÖE48**, $p=0.010$). Östrojen verilmesi, yukarıda bahsedilen eksantrik egzersizden sonra geçen süre arttıkça eritrosit MDA düzeyinde oluşan azalmaya ters bir şekilde eritrosit MDA düzeyinde artışa yol açtı. Bu durum östrojenin kanda antioksidan değil, tam tersine pro-oksidan olarak çalışmış olduğunun bir göstergesi olabilir.

Sonuç olarak, çalışmamızda erkek sıçanlarda eksantrik egzersizin soleus kasında nötrofil infiltrasyonunu arttırdığı ve bu artışın 48 saat sonunda 1. saate göre iki misline çıkan anlamlı artış gösterdiği, ancak östrojen suplementasyonunun bu artışı engelleyemediği gösterildi. Kas hasarı göstergesi olarak serum kreatin kinaz aktivitesi artışı izlenmedi. Bu bize eksantrik egzersize bağlı kas hasarının kana çok yansımadığını ya da beklenildiği kadar kas hasarı oluşmamış olabileceğini düşündürdü. Östrojen, kalp kasında kontrol grubuna oranla antioksidan enzim düzeylerini etkilemeksizin lipid peroksidasyonunu azalttı. Bu etki östrojenin membran stabilize edici etkisi ile açıklanabilir. Öte yandan, östrojen verilmesi, eksantrik egzersizden sonra geçen süre arttıkça eritrosit MDA düzeyinde artışa yol açmıştır. Bu durum östrojenin kanda antioksidan değil, tam tersine pro-oksidan olarak çalışmış olabileceğinin bir göstergesi olabilir. Literatürde östrojenlerin mitokondriyal aktiviteyi ve östrojen metabolitlerinin redoks siklusunu artırarak reaktif oksijen türleri oluşumunu artırabildikleri de bildirilmiştir.

6. KAYNAKLAR

1. Akgün N. Egzersiz fizyolojisi. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1992.
2. Günay M, Tamer K, Cicioğlu İ. Spor fizyolojisi ve performans ölçümü. Ankara: Gazi Kitabevi, 2006.
3. Haslam D. Obesity and diabetes: the links and common approaches. Prim Care Diabetes 2010; E-pub ahead of print.
4. Mastorakos G, Valsamakis G, Paltoglou G, Creatsas G. Management of obesity in menopause: diet, exercise, pharmacotherapy and bariatric surgery. Maturitas 2010; 65: 219-224.
5. Schneider BS, Tiidus PM. Neutrophil infiltration in exercise-injured skeletal muscle: how do we resolve the controversy? Sports Med 2007; 37: 837-856.
6. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. Philadelphia: Elsevier Saunders Company, 2006.
7. Kavas G. Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri. Türkiye Klinikleri J Med Sci 1989; 9: 1-8.
8. Tiidus PM. Influence of estrogen on skeletal muscle damage, inflammation, and repair. Exerc Sport Sci Rev 2003; 31: 40-44.
9. Clarkson PM, Sayers SP. Etiology of exercise-induced muscle damage. Can J Appl Physiol 1999; 24: 234-248.
10. Wise PM, Dubal DB, Wilson ME, Rau SW, Bottner M. Minireview: neuroprotective effects of estrogen-new insights into mechanisms of action. Endocrinology 2001; 142: 969-973.

11. Komulainen J, Koskinen SO, Kalliokoski R, Takala TE, Vihko V. Gender differences in skeletal muscle fibre damage after eccentrically biased downhill running in rats. *Acta Physiol Scand* 1999; 165: 57-63.
12. Stupka N, Tiidus PM. Effects of ovariectomy and estrogen on ischemia-reperfusion injury in hindlimbs of female rats. *Journal of Applied Physiology* 2001; 91: 1828-1835.
13. Tiidus PM, Holden D, Bombardier E, Zajchowski S, Enns D, Belcastro A. Estrogen effect on post-exercise skeletal muscle neutrophil infiltration and calpain activity. *Can J Physiol Pharmacol* 2001; 79: 400-406.
14. Stupka N, Lowther S, Chorneyko K, Bourgeois JM, Hogben C, Tarnopolsky MA. Gender differences in muscle inflammation after eccentric exercise. *Journal of Applied Physiology* 2000; 89: 2325-2332.
15. MacIntyre DL, Reid WD, Lyster DM, McKenzie DC. Different effects of strenuous eccentric exercise on the accumulation of neutrophils in muscle in women and men. *European Journal of Applied Physiology* 2000; 81: 47-53.
16. Tiidus PM. Estrogen and gender effects on muscle damage, inflammation, and oxidative stress. *Can J Appl Physiol* 2000; 25: 274-287.
17. Kumar S, Lata K, Mukhopadhyay S, Mukherjee TK. Role of estrogen receptors in pro-oxidative and anti-oxidative actions of estrogens: A perspective. *Biochim Biophys Acta* 2010; doi: 10.1016/j.bbagen.2010.04.011.
18. Kendall B, Eston R. Exercise-induced muscle damage and the potential protective role of estrogen. *Sports Med* 2002; 32: 103-123.
19. Kierszenbaum LA. *Histology and Cell Biology*. Tercüme: *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Ankara: Palme Yayıncılık, 2006: 177-198.

20. Vander AJ, Sherman JH, Luciano DS. Human Physiology. Tercüme: Kaymak, 11. Bölüm: İskelet Kası, İnsan Fizyolojisi. 6. Baskı, İstanbul: Bilimsel ve Teknik Yayınları 1997: 300-334.
21. http://www.shoppingtrolley.net/skeletal%20muscle_clip_image003.jpg (Erişim: 16.06.2010).
22. Ganong WF. Textbook of Medical Physiology. Tercüme: Kurtel H, 3. Bölüm, Uyarılabilir Doku: Kas Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Tıbbi Fizyoloji. 17. Baskı I. Cilt, İstanbul: Barış Kitabevi, 1996:76-92.
23. Zeytinoğlu M. Canlılarda Hareket: İskelet ve Kas Sistemi. Ünite 12. Eskişehir: Anadolu Üni AOF Ders Kitabı, 243-259.
24. Demir M, Filiz K. Spor Egzersizlerinin insan organizması üzerindeki etkileri. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi 2004: 5/2; 109–114.
25. Düzova H, Emre MH, Karakoç Y, Karabulut AB, Yılmaz Z, Gürsul C, Yoloğlu S. Orta ve Yüksek Düzeyde Treadmill Egzersizinin Sıçanların Kas ve Eritrosit Oksidan/Antioksidan Sistemine Etkisi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2006; 13(1); 1-5.
26. Atesoğlu UB, Hazar S. Farklı Türdeki Kuvvet Egezersizlerinin Bağışıklık Sistemine Akut Etkisi. Atatürk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi 2004: 6; 45-53.
27. Çetin N, Flock T. Sporda performans kontrolü. Ankara: Setma, 1996.
28. Beyer E. Dictionary of sport science. 1987.
29. Sjogaard G. Exercise-induced muscle fatigue: the significance of potassium. Acta Physiol Scand Suppl 1990; 593: 1-63.

30. Fox LE, Bowers RW, Foss ML. The Physiological Basis of Physical Education and Athletics. Fourth Ed, Iowa: C.Brown Publishers, 1989.
31. <http://www.weightlossforall.com/exercise-types.htm>. (Erişim: 16.06.2010).
32. Ben-Sira D, Ayalon A, Tavi M. The effect of different types of strength training on concentric strength in women. Strength Cond Res 1995; 9:(3): 143-148.
33. Dursun H, Özgöl A. Tedavi edici egzersizler. Oğuz H. Tıbbi rehabilitasyon. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1995: 295-324.
34. Asmussen E. Positive and negative muscular work. Acta Physiol Scand 1953; 28: 364-382.
35. Cureton KJ, Collins MA, Hill DW, McElhannon FM. Muscle hypertrophy in men and women. Med Sci Sports Exerc 1988; 20: 338-344.
36. Duncan PW, Chandler JM, Cavanaugh DK, Johnson KR, Buehler AG. Mode and speed specificity of eccentric and concentric exercise training. J Orthop Sports Phys Ther 1989; 11: 70-75.
37. Hakkinen K, Komi PV. Effect of different combined concentric and eccentric muscle work regimens on maximal strength development. Hum Movt Stud 1981; 7: 33-44.
38. Hakkinen K, Komi PV. Alterations of mechanical characteristics of human skeletal muscle during strength training. Eur J Appl Physiol 1983; 50: 161-171.
39. Hakkinen K, Komi PV, Tesch PA. Effects of combined concentric and eccentric strength training and detraining on force time, muscle fiber and metabolic characteristics of leg extensor muscles. Scand J Sports Sci 1981; 3: 50-58.
40. Johnson BL. Eccentric vs concentric muscle training for strength development. Med Sci Sports 1972; 4: 111-115.

41. Johnson BL, Adamczyk JW. A program of eccentric concentric strength training. *Am Corr Ther* 1975; 29: 13-16.
42. Ellenbecker TS, Davies GJ, Rowinski MJ. Concentric versus eccentric isokinetic strengthening of the rotator cuff. Objective data versus functional test. *Am J Sports Med* 1988; 16: 64-69.
43. Tomberlin JP, Basford JR, Schwen EE, Orte PA, Scott SC, Laughman RK, Ilstrup DM. Comparative study of isokinetic eccentric and concentric quadriceps training. *J Orthop Sports Phys Ther* 1991; 14: 31-36.
44. Konig D, Schumacher YO, Heinrich L, Schmid A, Berg A, Dickhuth HH. Myocardial stress after competitive exercise in professional road cyclists. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35: 1679-1683.
45. Ohba H, Takada H, Musha H, Nagashima J, Mori N, Awaya T, Omiya K, Murayama M. Effects of prolonged strenuous exercise on plasma levels of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in healthy men. *Am Heart J* 2001; 141: 751-758.
46. Rifai N, Douglas PS, O'Toole M, Rimm E, Ginsburg GS. Cardiac troponin T and I, echocardiographic [correction of electrocardiographic] wall motion analyses, and ejection fractions in athletes participating in the Hawaii Ironman Triathlon. *Am J Cardiol* 1999; 83: 1085-1089.
47. Shave RE, Dawson E, Whyte PG, George K, Ball D, Gaze CD, Collinson P. Cardiac troponin T in female athletes during a two-day mountain marathon. *Scott Med J* 2003; 48: 41-42.
48. Shave R, Dawson E, Whyte G, George K, Ball D, Collinson P, Gaze D. The cardiospecificity of the third-generation cTnT assay after exercise-induced muscle damage. *Med Sci Sports Exerc* 2002; 34: 651-654.

49. Hazar S. Egzersize Bağlı İskelet ve Kalp Kası Hasarı. Spormetre Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi, 2004; II: 119-126.
50. Garrett WE, Kirkendall DT. Exercise And Sport Science. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
51. Friden J, Sjöstrom M, Ekblom B. Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. Int J Sports Med 1983; 4: 170-176.
52. Roth SM, Martel GF, Ivey FM, Lemmer JT, Metter EJ, Hurley BF, Rogers MA. High-volume, heavy-resistance strength training and muscle damage in young and older women. J Appl Physiol 2000; 88: 1112-1118.
53. Camus G, Deby-Dupont G, Duchateau J, Deby C, Pincemail J, Lamy M. Are similar inflammatory factors involved in strenuous exercise and sepsis? Intensive Care Med 1994; 20: 602-610.
54. Smith LL. Acute inflammation: the underlying mechanism in delayed onset muscle soreness? Med Sci Sports Exerc 1991; 23: 542-551.
55. Şam CT. Alp Disiplini Kayakçılarda Karbonhidrat ve Protein Karışımı Enerji Suplementinin Kas Hasarı Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 2007.
56. Serrao FV, Foerster B, Spada S, Morales MM, Monteiro-Pedro V, Tannus A, Salvini TF. Functional changes of human quadriceps muscle injured by eccentric exercise. Braz J Med Biol Res 2003; 36: 781-786.
57. Appell HJ, Soares JM, Duarte JA. Exercise, muscle damage and fatigue. Sports Med 1992; 13: 108-115.

58. Sabido F, Milazzo VJ, Hobson RW 2nd, Duran WN. Skeletal muscle ischemia-reperfusion injury: a review of endothelial cell-leukocyte interactions. *J Invest Surg* 1994; 7: 39-47.
59. Cheung K, Hume P, Maxwell L. Delayed onset muscle soreness: treatment strategies and performance factors. *Sports Med* 2003; 33: 145-164.
60. Murray RK Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. Tercüme: Harper'in Biyokimyası. 24. Baskı, İstanbul: Barış Kitabevi, 1998.
61. Cleary MA, Kimura IF, Sitler MR, Kendrick ZV. Temporal Pattern of the Repeated Bout Effect of Eccentric Exercise on Delayed-Onset Muscle Soreness. *J Athl Train* 2002; 37: 32-36.
62. Clarkson PM, Byrnes WC, McCormick KM, Turcotte LP, White JS. Muscle soreness and serum creatine kinase activity following isometric, eccentric, and concentric exercise. *Int J Sports Med* 1986; 7: 152-155.
63. Gillum RF, Fortmann SP, Prineas RJ, Kottke TE. International diagnostic criteria for acute myocardial infarction and acute stroke. *Am Heart J* 1984; 108: 150-158.
64. Schwane JA, Johnson SR, Vandenakker CB, Armstrong RB. Delayed-onset muscular soreness and plasma CPK and LDH activities after downhill running. *Med Sci Sports Exerc* 1983; 15: 51-56.
65. Schwane JA, Buckley RT, Dipaolo DP, Atkinson MA, Shepherd JR. Plasma creatine kinase responses of 18- to 30-yr-old African-American men to eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 32: 370-378.
66. Lott JA, Stang JM. Serum enzymes and isoenzymes in the diagnosis and differential diagnosis of myocardial ischemia and necrosis. *Clin Chem* 1980; 26: 1241-1250.

67. Newham DJ, Jones DA, Edwards RH. Plasma creatine kinase changes after eccentric and concentric contractions. *Muscle Nerve* 1986; 9: 59-63.
68. Schneider CM, Dennehy CA, Rodearmel SJ, Hayward JR. Effects of physical activity on creatine phosphokinase and the isoenzyme creatine kinase-MB. *Ann Emerg Med* 1995; 25: 520-524.
69. Vincent HK, Vincent KR. The effect of training status on the serum creatine kinase response, soreness and muscle function following resistance exercise. *Int J Sports Med* 1997; 18: 431-437.
70. Thorstensson A, Sjodin B, Tesch P, Karlsson J. Actomyosin ATPase, myokinase, CPK and LDH in human fast and slow twitch muscle fibres. *Acta Physiol Scand* 1977; 99: 225-229.
71. Black HR, Quallich H, Gareleck CB. Racial differences in serum creatine kinase levels. *Am J Med* 1986; 81: 479-487.
72. Sherwood RA, Lambert A, Newham DJ, Wassif WS, Peters TJ. The effect of eccentric exercise on serum creatine kinase activity in different ethnic groups. *Ann Clin Biochem* 1996; 33: 324-329.
73. Olerud JE, Homer LD, Carroll HW. Incidence of acute exertional rhabdomyolysis. Serum myoglobin and enzyme levels as indicators of muscle injury. *Arch Intern Med* 1976; 136: 692-697.
74. Amelink GJ, Van Der Wal WA, Wokke JH, Van Asbeck BS, Bar PR. Exercise-induced muscle damage in the rat: the effect of vitamin E deficiency. *Pflugers Arch* 1991; 419: 304-309.
75. Bompa O. *Periodization Theory and Methodology of Training*. Orlando: Champaign Human Kinetics, 1999.

76. Tucker JF, Collins RA, Anderson RA. Value of serial myoglobin levels in the elderly diagnosis of patients admitted for acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 1994; 24:704-708.
77. Armstrong RB. Initial events in exercise-induced muscular injury. *Med Sci Sports Exerc* 1990; 22: 429-435.
78. Wu AH, Gornet TG, Harker CC, Chen HL. Role of rapid immunoassays for urgent ("stat") determinations of creatine kinase isoenzyme MB. *Clin Chem* 1989; 35: 1752-1756.
79. Tsung SH. Creatine kinase isoenzyme patterns in human tissue obtained at surgery. *Clin Chem* 1976; 22: 173-175.
80. Gibler WB, Lewis LM, Erb RE, Makens PK, Kaplan BC, Vaughn RH, Biagini AV, Blanton JD, Campbell WB. Early detection of acute myocardial infarction in patients presenting with chest pain and nondiagnostic ECGs: serial CK-MB sampling in the emergency department. *Ann Emerg Med* 1990; 19: 1359-1366.
81. Apple FS. Acute myocardial infarction and coronary reperfusion. Serum cardiac markers for the 1990s. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 217-226.
82. Apple FS, Rogers MA, Sherman WM, Ivy JL. Comparison of serum creatine kinase and creatine kinase MB activities post marathon race versus post myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 1984; 138: 111-118.
83. Hedges JR, Gibler WB, Young GP, Hoekstra JW, Slovis C, Aghababian R, Smith M, Rubison M. Multicenter study of creatine kinase-MB use: effect on chest pain clinical decision making. *Acad Emerg Med* 1996; 3: 7-15.

84. Özeren A. Akut Miyokart Enfarktüsünde Troponin I, Myoglobin ve CK-MB nin Diagnostik Etkinliğinin ve Akut Faz Reaktanlarının Karşılaştırılması. Konya: Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi. 1999.
85. Green GB, Li DJ, Bessman ES, Cox JL, Kelen GD, Chan DW. The prognostic significance of troponin I and troponin T. *Acad Emerg Med* 1998; 5: 758-767.
86. Chen Y, Serfass RC, Mackey-Bojack SM, Kelly KL, Titus JL, Apple FS. Cardiac troponin T alterations in myocardium and serum of rats after stressful, prolonged intense exercise. *J Appl Physiol* 2000; 88: 1749-1755.
87. Koller A, Summer P, Moser H. Regular exercise and subclinical myocardial injury during prolonged aerobic exercise. *JAMA* 1999; 282: 1816.
88. Brown S, Day S, Donnelly A. Indirect evidence of human skeletal muscle damage and collagen breakdown after eccentric muscle actions. *J Sports Sci* 1999; 17: 397-402.
89. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 1982; 107: 1198-1205.
90. Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil* 2002; 81: S52-69.
91. Newham DJ, Mills KR, Quigley BM, Edwards RH. Pain and fatigue after concentric and eccentric muscle contractions. *Clin Sci* 1983; 64: 55-62.
92. Jones DA, Newham DJ, Torgan C. Mechanical influences on long-lasting human muscle fatigue and delayed-onset pain. *J Physiol* 1989; 412: 415-427.
93. Clarkson PM, Newham DJ. Associations between muscle soreness, damage, and fatigue. *Adv Exp Med Biol* 1995; 384: 457-469.

94. Eston RG, Finney S, Baker S, Baltzopoulos V. Muscle tenderness and peak torque changes after downhill running following a prior bout of isokinetic eccentric exercise. *J Sports Sci* 1996; 14: 291-299.
95. Mizrahi J, Verbitsky O, Isakov E. Fatigue-induced changes in decline running. *Clin Biomech* 2001; 16: 207-212.
96. Newham DJ, Jones DA, Clarkson PM. Repeated high-force eccentric exercise: effects on muscle pain and damage. *J Appl Physiol* 1987; 63: 1381-1386.
97. Saxton JM, Clarkson PM, James R, Miles M, Westerfer M, Clark S, Donnelly AE. Neuromuscular dysfunction following eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1995; 27: 1185-1193.
98. Faulkner JA, Brooks SV, Opiteck JA. Injury to skeletal muscle fibers during contractions: conditions of occurrence and prevention. *Phys Ther* 1993; 73: 911-921.
99. Talbot JA, Morgan DL. The effects of stretch parameters on eccentric exercise-induced damage to toad skeletal muscle. *J Muscle Res Cell Motil.* 1998; 19: 237-245.
100. Wood SA, Morgan DL, Proske U. Effects of repeated eccentric contractions on structure and mechanical properties of toad sartorius muscle. *Am J Physiol.* 1993; 265: C792-800.
101. Newham DJ, Jones DA, Ghosh G, Aurora P. Muscle fatigue and pain after eccentric contractions at long and short length. *Clin Sci (Lond).* 1988; 74: 553-557.
102. Nosaka K, Sakamoto K. Effect of elbow joint angle on the magnitude of muscle damage to the elbow flexors. *Med Sci Sports Exerc.* 2001; 33: 22-29.
103. Morgan DL. New insights into the behavior of muscle during active lengthening. *Biophys J* 1991; 60(1): 290-292.

104. Edwards RH. Human muscle function and fatigue. Ciba Found Symp 1981; 82: 1-18.
105. Jones DA. High-and low-frequency fatigue revisited. Acta Physiol Scand 1996; 156: 265-270.
106. Hill CA, Thompson MW, Ruell PA, Thom JM, White MJ. Sarcoplasmic reticulum function and muscle contractile character following fatiguing exercise in humans. J Physiol 2001; 531: 871-878.
107. Evans RK, Knight KL, Draper DO, Parcell AC. Effects of warm-up before eccentric exercise on indirect markers of muscle damage. Med Sci Sports Exerc 2002; 34: 1892-1899.
108. Westerblad H, Duty S, Allen DG. Intracellular calcium concentration during low-frequency fatigue in isolated single fibers of mouse skeletal muscle. J Appl Physiol 1993; 75: 382-388.
109. Nosaka K, Clarkson PM. Influence of previous concentric exercise on eccentric exercise-induced muscle damage. J Sports Sci 1997; 15: 477-483.
110. Hazar S. Farklı Türdeki Kuvvet Antrenmanlarının İskelet ve Kalp Kası Enzim Aktivitelerine Akut Etkisi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara, 2004.
111. McHugh MP, Connolly DA, Eston RG, Gleim GW. Electromyographic analysis of exercise resulting in symptoms of muscle damage. J Sports Sci. 2000; 18: 163-172.
112. Fridén J, Sjöström M, Ekblom B. A morphological study of delayed muscle soreness. Experientia 1981; 15;37(5):506-507.
113. Demirel H. Egzersizle oluşan kas hasarı. 7. Uluslar Arası Spor Bilimleri Kongresi, 2002: ss. 291-293.

114. Saxton JM, Donnelly AE. Light concentric exercise during recovery from exercise-induced muscle damage. *Int J Sports Med* 1995; 16: 347-351.
115. Howatson G, Van Someren KA. Ice massage. Effects on exercise-induced muscle damage. *J Sports Med Phys Fitness* 2003; 43: 500-505.
116. Smith LL, Keating MN, Holbert D, Spratt DJ, McCammon MR, Smith SS, Israel RG. The effects of athletic massage on delayed onset muscle soreness, creatine kinase, and neutrophil count: a preliminary report. *J Orthop Sports Phys Ther* 1994; 19: 93-99.
117. Gumustekin K, Altinkaynak K, Timur H, Taysi S, Oztasan N, Polat MF, Akcay F, Suleyman H, Dane S, Gul M. Vitamin E but not Hippophea rhamnoides L. prevented nicotine-induced oxidative stress in rat brain. *Hum Exp Toxicol* 2003; 22: 425-431.
118. Gumustekin K, Ciftci M, Coban A, Altikat S, Aktas O, Gul M, Timur H, Dane S. Effects of nicotine and vitamin E on glucose 6-phosphate dehydrogenase activity in some rat tissues in vivo and in vitro. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2005; 20: 497-502.
119. Gumustekin K, Taysi S, Alp HH, Aktas O, Oztasan N, Akcay F, Suleyman H, Akar S, Dane S, Gul M. Vitamin E and Hippophea rhamnoides L. extract reduce nicotine-induced oxidative stress in rat heart. *Cell Biochem Funct* 2010; 28: 329-333.
120. Koot RW, Amelink GJ, Blankenstein MA, Bar PR. Tamoxifen and oestrogen both protect the rat muscle against physiological damage. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 40: 689-695.
121. Petrone WF, English DK, Wong K, McCord JM. Free radicals and inflammation: superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. *Proc Natl Acad Sci* 1980; 77: 1159-1163.
122. Torunoğlu M. *Fizyopatoloji*. Ankara: Palme Yayınları, 1990.

123. Johnson EO, Kamilaris TC, Chrousos GP, Gold PW. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neurosci Biobehav Rev* 1992; 16: 115-130.
124. Nielsen HB, Secher NH, Kappel M, Hanel B, Pedersen BK. Lymphocyte, NK and LAK cell responses to maximal exercise. *Int J Sports Med* 1996; 17: 60-65.
125. Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev* 2000; 80: 1055-1081.
126. Gabriel H, Schmitt B, Urhausen A, Kindermann W. Increased CD45RA+CD45RO+ cells indicate activated T cells after endurance exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25: 1352-1357.
127. Brines R, Hoffman-Goetz L, Pedersen BK. Can you exercise to make your immune system fitter? *Immunol Today* 1996; 17: 252-254.
128. Ortega E, Collazos ME, Maynar M, Barriga C, De la Fuente M. Stimulation of the phagocytic function of neutrophils in sedentary men after acute moderate exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1993; 66: 60-64.
129. Pyne DB. Regulation of neutrophil function during exercise. *Sports Med* 1994; 17: 245-258.
130. Pyne DB. Exercise-induced muscle damage and inflammation: a review. *Aust J Sci Med Sport* 1994; 26: 49-58.
131. Round JM, Jones DA, Cambridge G. Cellular infiltrates in human skeletal muscle: exercise induced damage as a model for inflammatory muscle disease? *J Neurol Sci* 1987; 82: 1-11.

132. Green KJ, Rowbottom DG, Mackinnon LT. Acute exercise and T-lymphocyte expression of the early activation marker CD69. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35: 582-588.
133. İnce E. Farklı Dokularda Oksidan Etkinin Hasarları ve Antioksidan Savunma Sistemleri. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD, Doktora Tezi, İstanbul, 1995.
134. Sözmen EY. Doku Hasarında Antioksidan Enzim Değişiklikleri. Ege Üniversitesi Biyokimya ABD, Doktora Tezi, İzmir, 1994.
135. Yavaş ID, Zengin M, Kaklıkaya İ, Uzun Z, Değer O, Özcan F, Elşin MD, Ören A. Serbest Oksijen Radikal Temizleyici Olarak Aprotinin'in Rolü (Deneyisel Çalışma). *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi* 1994; Temmuz; 2 (3): 208-215.
136. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi 2004; 15 (1-2) 91-96.
137. Gutteridge JM, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 899: 136-147.
138. Erden M. Serbest Radikaller. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 1992; 12: 201-207.
139. Kurt H, Başaran A, Aral E. Sıçanlarda Karbon Tetraklorit'in Oluşturduğu Oksidatif Stresin Likopen ile Önlenmesi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005; 25: 167-173.
140. Ernster L. Oxygen as an environmental poison. *Chemical Scripta* 1986; 26: 525-534.
141. Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* 1995; 79: 675-686.
142. Ji LL, Stratman FW, Lardy HA. Enzymatic down regulation with exercise in rat skeletal muscle. *Arch Biochem Biophys* 1988; 263: 137-149.

143. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Condorelli E, Raddino R. Role of oxygen in myocardial ischaemic and reperfusion damage: effect of alpha-tocopherol. *Acta Vitaminol Enzymol* 1985; 7 Suppl: 61-70.
144. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.
145. Garrett IR, Boyce BF, Oreffo RO, Bonewald L, Poser J, Mundy GR. Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 1990; 85: 632-639.
146. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 1993; 23: 21-48.
147. Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Durak D, Acikgoz F. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology* 2004; 202: 227-235.
148. Niki E. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem Phys Lipids* 1987; 44: 227-253.
149. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
150. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969; 244: 6049-6055.
151. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Turk J Bioch* 2006; 31(2): 51-56.
152. Kavas G. Reaktif Oksijen Metabolitlerine Fizyopatolojik Yaklaşım. *Ankara Tıp Mecmuası (The Journal of The Faculty of Medicine)* 1994; 47: 579-592

153. Karakuş AB. Deneysel Olarak Ülser Oluşturulan Ratlarda Lobaria Pulmonaria (L.) Hoffm. İsimli Likenlerden Elde Edilen Metanol Ekstrelerinin Anti Oksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 2007.
154. Halıcı MB. Bazı Likenlerden İzole Edilen Maddelerin Sıçanlarda İndometazin ile Oluşturulan Ülser Modelinde Antiülserojen Mekanizmalarının Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum, 2008.
155. Reiter RJ, Acuna-Castroviejo D, Tan DX, Burkhardt S. Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 939: 200-215.
156. Mahadik SP, Evans D, Lal H. Oxidative stress and role of antioxidant and omega-3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2001; 25: 463-493.
157. Day BJ. Catalase and glutathione peroxidase mimics. *Biochem Pharmacol* 2009; 77: 285-296.
158. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
159. Mallo T, Matrov D, Koiv K, Harro J. Effect of chronic stress on behavior and cerebral oxidative metabolism in rats with high or low positive affect. *Neuroscience* 2009; 164: 963-974.
160. White WB, Schnitzer TJ, Fleming R, Duquesroix B, Beekman M. Effects of the cyclooxygenase inhibiting nitric oxide donator naproxcinod versus naproxen on systemic blood pressure in patients with osteoarthritis. *Am J Cardiol* 2009; 104: 840-845.

161. Faut M, Rodriguez de Castro C, Bietto FM, Castro JA, Castro GD. Metabolism of ethanol to acetaldehyde and increased susceptibility to oxidative stress could play a role in the ovarian tissue cell injury promoted by alcohol drinking. *Toxicol Ind Health* 2009; 25: 525-538.
162. Whittle BJ. Mechanisms underlying gastric mucosal damage induced by indomethacin and bile-salts, and the actions of prostaglandins. *Br J Pharmacol* 1977; 60: 455-460.
163. Burton GW, Foster DO, Perly B, Slater TF, Smith IC, Ingold KU. Biological antioxidants. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1985; 311: 565-578.
164. Traber MG, Packer L. Vitamin E: beyond antioxidant function. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1501-1509.
165. Durmuş AS ÜE. Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Kırık İyileşmesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi* 2005; 3(3): 20- 27.
166. Örnek Z. Pamuk İplik Fabrikası Çalışanlarında Solunum Sistemi Belirtileri, Cilt Testi Serbest Radikal, Antioksidan ve Serum Prolidaz Aktivite Düzeylerinin Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Isparta, 2004.
167. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya: Mimoza Yayınları, 1995.
168. Takenaka Y, Miki M, Yasuda H, Mino M. The effect of alpha-tocopherol as an antioxidant on the oxidation of membrane protein thiols induced by free radicals generated in different sites. *Arch Biochem Biophys* 1991; 285: 344-350.

169. Akıl M. Akut Yüzme Egzersizi Yaptırılan Ratlarda Selenyum Uygulamasının Lipit Perokdizasyonu ve Laktak Düzeylerine Etkisi. Selçuk Üniversitesi, Doktora Tezi, Konya, 2009.
170. Armstrong D. Free radical and antioxidant protocols. Introduction. Methods Mol Biol 1998; 108: 5-8.
171. Şimşek F. Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Lipit Peroksidasyonu. Türkiye Klinikleri J Pediatr 1999; 8: 42-47.
172. Flohe L, Otting F. Superoxide dismutase assays. Methods Enzymol 1984; 105: 93-104.
173. Siems WG, Van Kuijk FJ, Maass R, Brenke R. Uric acid and glutathione levels during short-term whole body cold exposure. Free Radic Biol Med 1994; 16: 299-305.
174. Gul M, Kutay FZ, Temocin S, Hanninen O. Cellular and clinical implications of glutathione. Indian J Exp Biol 2000; 38: 625-634.
175. Meister A, Anderson ME. Glutathione. Annu Rev Biochem 1983; 52: 711-760.
176. Ji LL, Fu R, Mitchell EW. Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. J Appl Physiol 1992; 73: 1854-1859.
177. Lew H, Pyke S, Quintanilha A. Changes in the glutathione status of plasma, liver and muscle following exhaustive exercise in rats. FEBS Lett 1985; 185: 262-266.
178. Sen CK, Marin E, Kretzschmar M, Hanninen O. Skeletal muscle and liver glutathione homeostasis in response to training, exercise, and immobilization. J Appl Physiol 1992; 73: 1265-1272.
179. Duthie GG, Robertson JD, Maughan RJ, Morrice PC. Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. Arch Biochem Biophys 1990; 282: 78-83.

180. Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hosp Med* 1990; 43: 334-344.
181. Lunec J. Free radicals: their involvement in disease processes. *Ann Clin Biochem* 1990; 27: 173-182.
182. Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology* 1981; 81: 22-29.
183. http://www.turkcebilgi.net/kimya/organik-kimya/serbest-radikal-tepkimeleri-46650_5.html (Erişim: 16.06.2010).
184. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Hipertermi>. (Erişim: 16.06.2010).
185. Deaton CM, Marlin DJ, Smith NC, Roberts CA, Harris PA, Kelly FJ, Schroter RC. Pulmonary bioavailability of ascorbic acid in an ascorbate-synthesising species, the horse. *Free Radic Res* 2003; 37: 461-467.
186. Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25: 225-231.
187. Radak Z, Asano K, Inoue M, Kizaki T, Oh-Ishi S, Suzuki K, Taniguchi N, Ohno H. Superoxide dismutase derivative reduces oxidative damage in skeletal muscle of rats during exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 1995; 79: 129-135.
188. Oh-ishi S, Kizaki T, Nagasawa J, Izawa T, Komabayashi T, Nagata N, Suzuki K, Taniguchi N, Ohno H. Effects of endurance training on superoxide dismutase activity, content and mRNA expression in rat muscle. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1997; 24: 326-332.
189. Bejma J, Ji LL. Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1999; 87: 465-470.

190. Greathouse KL, Samuels M, DiMarco NM, Criswell DS. Effects of increased dietary fat and exercise on skeletal muscle lipid peroxidation and antioxidant capacity in male rats. *Eur J Nutr* 2005; 44: 429-435.
191. Koesterer TJ, Dodd SL, Powers S. Increased antioxidant capacity does not attenuate muscle atrophy caused by unweighting. *J Appl Physiol* 2002; 93: 1959-1965.
192. Powers SK, Sen CK. Physiological antioxidants and exercise training. In: *Handbook of oxidants and antioxidants in exercise*. Eds: Sen CK, Packer L, Hänninen O. Elsevier Science. 2000: 221-242.
193. Ji LL, Wu E, Thomas DP. Effect of exercise training on antioxidant and metabolic functions in senescent rat skeletal muscle. *Gerontology* 1991; 37: 317-325.
194. Ji LL, Stratman FW, Lardy HA. Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise. *Arch Biochem Biophys* 1988; 263: 150-160.
195. Remacle J, Lambert D, Raes M, Pigeolet E, Michiels C, Toussaint O. Importance of various antioxidant enzymes for cell stability. Confrontation between theoretical and experimental data. *Biochem J* 1992; 286: 41-46.
196. Leeuwenburgh C, Fiebig R, Chandwaney R, Ji LL. Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems. *Am J Physiol* 1994; 267: R439-445.
197. Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M, Ji LL. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *Am J Physiol* 1997; 272: R363-369.
198. St Pierre Schneider B, Correia LA, Cannon JG. Sex differences in leukocyte invasion in injured murine skeletal muscle. *Res Nurs Health* 1999; 22: 243-250.

199. Nadal A, Diaz M, Valverde MA. The estrogen trinity: membrane, cytosolic, and nuclear effects. *News Physiol Sci* 2001; 16: 251-255.
200. Belcastro AN, Shewchuk LD, Raj DA. Exercise-induced muscle injury: a calpain hypothesis. *Mol Cell Biochem* 1998; 179: 135-145.
201. Paroo Z, Dipchand ES, Noble EG. Estrogen attenuates postexercise HSP70 expression in skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 282: C245-C251.
202. Paroo Z, Tiidus PM, Noble EG. Estrogen attenuates HSP 72 expression in acutely exercised male rodents. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1999; 80: 180-184.
203. <http://web.jhu.edu/animalcare/procedures/rat.html> (19 MAYIS 2010 erişim yapıldı).
204. Kendrick ZV, Steffen CA, Rumsey WL, Goldberg DI. Effect of estradiol on tissue glycogen metabolism in exercised oophorectomized rats. *J Appl Physiol* 1987; 63: 492-496.
205. Kenagy R, Weinstein I, Heimberg M. The effects of 17 beta-estradiol and progesterone on the metabolism of free fatty acid by perfused livers from normal female and ovariectomized rats. *Endocrinology* 1981; 108: 1613-1621.
206. Rooney TP, Kendrick ZV, Carlson J, Ellis GS, Matakevich B, Lorusso SM, McCall JA. Effect of estradiol on the temporal pattern of exercise-induced tissue glycogen depletion in male rats. *J Appl Physiol* 1993; 75: 1502-1506.
207. Warren GL, Lowe DA, Inman CL, Orr OM, Hogan HA, Bloomfield SA, Armstrong RB. Estradiol effect on anterior crural muscles-tibial bone relationship and susceptibility to injury. *J Appl Physiol* 1996; 80: 1660-1665.

208. Tsivitse SK, McLoughlin TJ, Peterson JM, Mylona E, McGregor SJ, Pizza FX. Downhill running in rats: influence on neutrophils, macrophages, and MyoD⁺ cells in skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2003; 90: 633-638.
209. Gul M, Demircan B, Taysi S, Oztasan N, Gumustekin K, Siktar E, Polat MF, Akar S, Akcay F, Dane S. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2006; 143: 239-245.
210. Hara M, Abe M, Suzuki T, Reiter RJ. Tissue changes in glutathione metabolism and lipid peroxidation induced by swimming are partially prevented by melatonin. *Pharmacol Toxicol* 1996; 78: 308-312.
211. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
212. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249: 7130-7139.
213. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-169.
214. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
215. Rowe PB, Wyngaarden JB. The mechanism of dietary alterations in rat hepatic xanthine oxidase levels. *J Biol Chem* 1966; 241: 5571-5576.
216. Walden DL, McCutchan HJ, Enquist EG, Schwappach JR, Shanley PF, Reiss OK, Terada LS, Leff JA, Repine JE. Neutrophils accumulate and contribute to skeletal muscle dysfunction after ischemia-reperfusion. *Am J Physiol* 1990; 259: H1809-1812.

217. Tiidus PM, Bombardier E. Oestrogen attenuates post-exercise myeloperoxidase activity in skeletal muscle of male rats. *Acta Physiol Scand* 1999; 166: 85-90.
218. Squadrito F, Altavilla D, Squadrito G, Campo GM, Arlotta M, Arcoraci V, Minutoli L, Serrano M, Saitta A, Caputi AP. 17Beta-oestradiol reduces cardiac leukocyte accumulation in myocardial ischaemia reperfusion injury in rat. *Eur J Pharmacol* 1997; 335: 185-192.
219. Enns DL, Tiidus PM. The influence of estrogen on skeletal muscle: sex matters. *Sports Med* 2010; 40: 41-58.
220. Iqbal S, Thomas A, Bunyan K, Tiidus PM. Progesterone and estrogen influence postexercise leukocyte infiltration in ovariectomized female rats. *Appl Physiol Nutr Metab* 2008; 33: 1207-1212.
221. Timmons BW, Hamadeh MJ, Tarnopolsky MA. No effect of short-term 17beta-estradiol supplementation in healthy men on systemic inflammatory responses to exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 291: R285-290.
222. Tiidus PM, Deller M, Bombardier E, Gul M, Liu XL. Estrogen supplementation failed to attenuate biochemical indices of neutrophil infiltration or damage in rat skeletal muscles following ischemia. *Biol Res* 2005; 38: 213-223.
223. Dobridge JD, Hackney AC. The effects of estrogen on indices of skeletal muscle tissue damage after eccentric exercise in postmenopausal women. *Fiziol Cheloveka* 2004; 30: 98-102.
224. Zhang Y, Zhong N, Zhou ZN. Estradiol potentiates antiarrhythmic and antioxidative effects of intermittent hypoxic rat heart. *Acta Pharmacologica Sinica* 2000; 21: 609-612.

225. Brenner IK, Natale VM, Vasiliou P, Moldoveanu AI, Shek PN, Shephard RJ. Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1999; 80: 452-460.
226. Clarkson PM, Sayers SP. Gender differences in exercise-induced muscle damage. In: Tarnopolsky M, editor. *Gender Differences in Metabolism*. Boca Raton FL: CRC Press, 1999: 283-299.
227. Carter A, Dobridge J, Hackney AC. Influence of estrogen on markers of muscle tissue damage following eccentric exercise. *Fiziol Cheloveka* 2001; 27: 133-137.