



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**YÜKSEK ŞİDDETLİ-ARALIKLI KRONİK
KOŞU EGZERSİZİ UYGULANAN
SIÇANLARDA MOTOR KORTEKS VE
OMURİLİK ÖN BOYNUZ MOTOR
NÖRONLARINDAKİ ULTRASTRÜKTÜREL
VE MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER**

ZELAL KELEŞ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

EYLÜL 2014



**YÜKSEK ŞİDDETLİ-ARALIKLI KRONİK KOŞU EGZERSİZİ
UYGULANAN SIÇANLARDA MOTOR KORTEKS VE OMURİLİK ÖN
BOYNUZ MOTOR NÖRONLARINDAKİ ULTRASTRÜKTÜREL VE
MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER**

Zelal KELEŞ

**DOKTORA TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

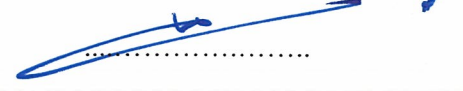
EYLÜL 2014

Zelal Keleş tarafından hazırlanan “Yüksek şiddetli aralıklı kronik koşu egzersizi uygulanan sıçanlarda motor korteks ve omurilik ön boynuz motor nöronlarındaki ultrastrüktürel ve moleküler değişiklikler” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Deniz ERBAŞ

Fizyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Başkan : Prof. Dr. Lamia PINAR

Fizyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Sibel DİNÇER

Fizyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Ali Haydar DEMİREL

Egzersiz ve Spor Fizyolojisi Anabilim Dalı , Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Doç. Dr. Çiğdem ELMAS

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 09/09/2014

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

.....

Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Zelal KELEŞ

09.09.2014

YÜKSEK ŞİDDETLİ-ARALIKLI KRONİK KOŞU EGZERSİZİ UYGULANAN
SIÇANLARDA MOTOR KORTEKS VE OMURİLİK ÖN BOYNUZ MOTOR
NÖRONLARINDAKİ ULTRASTRÜKTÜREL VE MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER
(Doktora Tezi)

Zelal KELEŞ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
EYLÜL 2014

ÖZET

Uzun süreli şiddetli egzersiz veya yoğun fiziksel aktivitenin motor nöron düzeyinde ne tip ultrastrüktürel ve moleküler yanıtlara yol açtığı ile ilgili yeterli bilimsel veri mevcut değildir. Fiziksel aktivite ve motor nöron harabiyeti ilişkisine ilişkin pozitif sonuçlar gösteren birtakım epidemiyolojik çalışmalarla, diğer olası etkenlerin etkilerini ekarte ederek egzersizin saf etkisine yönelik yorum yapmak mümkün değildir. Epidemiyolojik çalışmalarla entegre temel bilim çalışmaları bu ilişki ile ilgili güçlü kanıtlar verebilir. Bu çalışma yüksek şiddetli-aralıklı kronik koşu egzersizi uygulanan sıçanlarda motor korteksteki motor nöronlarla servikal ve lomber omurilikteki ön boynuz motor nöronlarında ultrastrüktürel morfolojik ve moleküler birtakım değişiklikleri incelemek amacıyla yapıldı. 30 adet Wistar albino erkek sıçan 3 gruba ayrıldı; sedanter kontrol grubu, ılımlı şiddette-devamlı egzersiz (İŞDE) uygulanan grup ve yüksek şiddetli-aralıklı egzersiz (YŞAE) uygulanan grup. 13-15 haftalık koşu egzersizini takiben motor nöronlarda ve glial hücrelerde immünohistokimyasal yöntemle erken apoptotik belirteçler sitokrom c ve Bcl-2'ye mitokondriyal disfonksiyonu araştırmak amacıyla bakıldı. Elektron mikroskopik inceleme ile ultrastrüktürel morfolojik değerlendirmeler yapıldı. Diğer gruplardan farklı olarak YŞAE grubunda her 3 anatomik seviyede de antiapoptotik Bcl-2 immünreaktivitesinde azalma ile proapoptotik sitokrom c immünreaktivitesinde artış eğilimleri saptandı, ancak bu değişimler belirgin değildi. Elektron mikroskopik incelemede YŞAE uygulanan grupta tek tük apoptotik hücre değişiklikleri saptandı. Sonuç olarak, yüksek şiddetli-aralıklı kronik koşu egzersizi sıçan motor nöronlarında patolojik apoptotik bir süreç veya dejenerasyona yol açmamış olsa da sitokrom c ve Bcl-2 immünreaktivitesindeki belirgin olmayan değişiklikler kaspazları aktive edememiş mitokondriyal disfonksiyon eğilimi olarak değerlendirilebilir.

Bilim Kodu : 1023

Anahtar Kelimeler : Yüksek şiddetli-aralıklı egzersiz, motor nöron, sitokrom c, Bcl-2

Sayfa Adedi : 85

Danışman : Prof. Dr. Deniz ERBAŞ

THE ULTRASTRUCTURAL AND MOLECULAR CHANGES IN MOTOR CORTEX
AND SPINAL CORD VENTRAL HORN MOTOR NEURONS OF RATS EXPOSED TO
CHRONIC HIGH INTENSITY-INTERMITTENT RUNNING EXERCISE

(Ph. D. Thesis)

Zelal KELEŞ

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES
SEPTEMBER 2014

ABSTRACT

Scientific data on the type of ultrastructural and molecular responses at motor neuron level brought about by long term high intensity exercise or intensive physical activity is scarce. It is not possible to conclude on the pure effect of exercise by excluding the effects of the other probable determinants in the epidemiologic studies which show positive results on the relation of physical activity and motor neuron impairment. Basic science researches integrated with epidemiologic studies may provide strong evidence on this respect. The aim of this study was to evaluate the ultrastructural morphological and molecular changes in the motor neurons at the motor cortex and in ventral horn motor neurons at the cervical and lumbar spinal cord in rats following chronic high intensity-intermittent running exercise. 30 Wistar albino male rats were distributed into three groups as a sedentary control group, a group which received moderate intensity-continuous exercise (MICE) and a group which received high intensity-intermittent exercise (HIIE). Following a 13-15 week period of running exercise, early apoptotic markers cytochrome c and Bcl-2 were evaluated by immunohistochemical method for investigating mitochondrial dysfunction in motor neurons and glial cells. Ultrastructural morphologic evaluations were carried out by electron microscope. Unlike other groups a tendency of reduction in antiapoptotic Bcl-2 immunoreactivity and a tendency of rise of proapoptotic cytochrome c immunoreactivity were observed at all three anatomic levels in the HIIE group, but these changes were not pronounced. Sporadic apoptotic cell changes were observed by electron microscobic evaluation in the HIIE group. As a conclusion although chronic high intensity-intermittent running exercise did not lead to a pathologic apoptotic process or to degeneration in rat motor neurons the non-significant changes in cytochrome c and Bcl-2 immunoreactivities can be considered as a mitochondrial dysfunction trend failing to activate caspases.

Science Code : 1023

Key Words : High intensity-intermittent exercise, motor neuron, cytochrome c, Bcl-2

Page Number : 85

Supervisor : Prof. Dr. Deniz ERBAŞ

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam boyunca büyük katkıları olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Deniz ERBAŞ'a, eğitimim boyunca geniş bilgi birikimleri ve yakın ilgileri ile yetişmemde büyük payları olan Prof. Dr. Aydan BABÜL'e, Prof. Dr. Lamia PINAR'a, Prof. Dr. Sibel DİNÇER'e, Prof. Dr. Gonca AKBULUT'a, Prof. Dr. Çiğdem ÖZER'e, Doç. Dr. Şevin GÜNEY'e, Uzm. Dr. Tayfun GÖKTAŞ'a, çalışmalarında emeği ve dostluğuyla hep destek olan değerli arkadaşım Atilla BAYRAKTAR'a, birlikte çalışmaktan zevk aldığım araştırma görevlisi diğer arkadaşlarıma ve tüm anabilim dalı çalışanlarına, tez çalışması sırasında değerli emeklerini benden esirgemeyen Histoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Çiğdem ELMAS'a, Dr. Güleser GÖKTAŞ'a, GÜDAM'dan veteriner Elif Ergüven KAYA'ya ve diğer GÜDAM çalışanlarına, HÜTF Spor Hekimliği Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ali Haydar DEMİREL'e, beni doktora eğitimine teşvik eden ve manevi desteğini hiç esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Mehmet BEYAZOVA'ya, bu zorlu eğitim sürecinde sabır, sevgi ve emekleriyle destekçim olan sevgili annem Emel KELEŞ'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu doktora tezini tez sürecinde kaybettiğim ve kaybıyla beni büyük kederlere sevkeden, hayata bakışımda, kişisel gelişimimde, karakter yapımın şekillenmesinde, araştırmaya olan merakımda, mesleki idealizmimde ve insanlara sevgiyle bakmamda büyük etkileri olan, zekası, düşün gücü, dik ve onurlu duruşu, okumaya olan merakı ve diğer birçok özelliğiyle örnek insan, baba diye hitap ettiğim sevgili dayım **AZİZ BARAN**'a ithaf ediyorum.

Nurlar içinde yat.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Egzersiz	3
2.1.1. Egzersiz tipleri.....	3
2.1.2. Egzersiz antrenman teknikleri	3
2.2. Yüksek Şiddetli-Aralıklı Egzersiz.....	5
2.2.1. Çoklu depar sporları ve yüksek şiddetli-aralıklı egzersiz.....	5
2.2.2. Yüksek şiddetli-aralıklı egzersiz bileşenleri ve reçeteleme.....	6
2.3. Hormezis ve Egzersiz.....	12
2.4. Mitokondri.....	14
2.4.1. Elektron taşıma zinciri ve reaktif oksijen türleri	14
2.4.2. Oksidan/antioksidan denge ve oksidatif stres.....	16
2.5. Sitokrom c	17
2.6. Bcl-2 Ailesi	18
2.7. Apoptoz.....	20
2.7.1. Mitokondriyal zar geçirgenliğinin artışı	20

	Sayfa
2.7.2. Sitokrom c salınımı sonrası apoptozun regülasyonu	22
2.8. Biyoenerjetik Perspektiften Egzersiz ve Motor Nöron	23
2.8.1. Egzersiz ve oksidatif stres	23
2.8.2. Motor nöron hastalığı (amiyotrofik lateral skleroz)	24
2.8.3. Motor nöron hastalığında risk faktörü olarak fiziksel aktivite	25
2.8.4. Motor nöron hastalığında mitokondri ve oksidatif stres.....	27
2.8.5. Motor nöron hastalığı ve egzersiz ilişkisine yönelik muhtemel patojenik mekanizmalar	30
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	35
3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi	35
3.2. Çalışma Grupları	35
3.3. Egzersiz Protokolü	35
3.3.1. Yürüme bandına uyum uygulaması.....	36
3.3.2. Yüksek şiddetli-aralıklı kronik koşu egzersiz uygulaması	36
3.3.3. Ilımlı şiddette-devamlı kronik koşu egzersizi uygulaması	37
3.4. Cerrahi İşlem.....	37
3.5. Analiz Yöntemleri	38
3.5.1. İmmünohistokimyasal yöntem	38
3.5.2. İmmünohistokimyasal skorlama yöntemi.....	39
3.5.3. Elektron mikroskopik yöntem	39
3.5.4. Sinir doku dejenerasyon belirleme yöntemi	40
3.5.5. Nöron canlılık belirleme yöntemi.....	40
3.5.6. Nöron canlılık indeksi hesaplama yöntemi	40
3.6. İstatistiksel Analizler.....	41
4. BULGULAR	43
4.1. İmmünohistokimyasal Bulgular	43

	Sayfa
4.1.1. Motor korteks bulguları	43
4.1.2. Omurilik ön boynuz bulguları	45
4.2. Elektron Mikroskopik Bulgular	48
4.2.1. Motor korteks bulguları	48
4.2.2. Omurilik ön boynuz bulguları	49
4.3. Sinir Doku Dejenerasyon Skorları	52
4.4. Nöron Canlılık Değerleri.....	54
4.5. Nöron Canlılık İndeks Değerleri	55
4.6. Histolojik Bulguların Yorumu	56
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	69
EKLER.....	81
EK-1: Etik Kurul Onayı.....	82
ÖZGEÇMİŞ	84

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Motor korteks kesitlerinde gruplara göre Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivite skorları.....	43
Çizelge 4.2. Motor kortekste Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivite skorlarının gruplar arasında karşılaştırılması	44
Çizelge 4.3. Omurilik ön boynuz kesitlerinde lomber ve servikal seviyelerde gruplara göre Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivite skorları.....	45
Çizelge 4.4. Servikal omurilik ön boynuz bölgesinde Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivite skorlarının gruplar arasında karşılaştırılması	46
Çizelge 4.5. Lomber omurilik ön boynuz bölgesinde Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivite skorlarının gruplar arasında karşılaştırılması	46
Çizelge 4.6. Motor kortekste dejenerasyon kriterlerine göre belirlenen skorların gruplar arasında karşılaştırılması.....	52
Çizelge 4.7. Servikal omurilik ön boynuz bölgesinde dejenerasyon kriterlerine göre belirlenen skorların gruplar arasında karşılaştırılması.....	53
Çizelge 4.8. Lomber omurilik ön boynuz bölgesinde dejenerasyon kriterlerine göre belirlenen skorların gruplar arasında karşılaştırılması.....	53
Çizelge 4.9. Motor kortekste nöron canlılık değerlendirmesinin her üç grupta karşılaştırılması.....	54
Çizelge 4.10. Servikal omurilik ön boynuz bölgesinde nöron canlılık değerlendirmesinin her üç grupta karşılaştırılması.....	54
Çizelge 4.11. Lomber omurilik ön boynuz bölgesinde nöron canlılık değerlendirmesinin her üç grupta karşılaştırılması.....	55
Çizelge 4.12. Motor korteks, omurilik ön boynuz bölgelerinde nöron canlılık indekslerinin her üç grupta karşılaştırılması.....	55

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Aralıklı egzersiz sınıflandırmasında önerilen model	8
Şekil 2.2. Artışlı egzersiz testi sırasında kullanılan 3 fazlı laktat modeli	9
Şekil 2.3. Tipik hormezis eğrisi ve egzersizin etkileri	14
Şekil 2.4. İç mitokondriyal zar üstünde bulunan elektron taşıma zincirine ait basitleştirilmiş diagram	15
Şekil 2.5. Bcl-2 ailesi	19
Şekil 2.6. Enerji bağlantılı eksitotoksik hipotez	29
Şekil 2.7. Motor nöron hastalığında altta yatan patojenik mekanizmalarla ve fiziksel aktivitenin bunlar üzerindeki etkileriyle ilgili hipotezler	31
Şekil 2.8. Fiziksel aktivitenin motor nöron hastalığında risk faktörü olma ihtimaliyle ilgili önerilen mekanizmaların özeti	34
Şekil 3.1. Uygulanan yüksek şiddetli-aralıklı koşu egzersizi modeli	37

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Motor kortekse ait örneklerde Bcl-2 ve sitokrom c bulguları.....	44
Resim 4.2. Omurilik ön boynuzuna ait örneklerde servikal bölgede Bcl-2 ve sitokrom c bulguları.....	47
Resim 4.3. Omurilik ön boynuzuna ait örneklerde lomber bölgede Bcl-2 ve sitokrom c bulguları.....	47
Resim 4.4. Motor kortekse ait örneklerde elektron mikroskopik inceleme.....	49
Resim 4.5. Omurilik ön boynuzuna ait örneklerde servikal seviyede elektron mikroskopik inceleme	50
Resim 4.6. Omurilik ön boynuzuna ait örneklerde lomber seviyede elektron mikroskopik inceleme	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklama
Ca	Kalsiyum
Cu	Bakır
dk	Dakika
H⁺	Hidrojen iyonu
H₂O	Su molekülü
H₂O₂	Hidrojen peroksit
m	Metre
Na	Sodyum
OH⁻	Hidroksil
O₂	Oksijen molekülü
O₂⁻	Süperoksit
Zn	Çinko
%	Yüzde

Kısaltmalar	Açıklama
Apaf 1	Apopitoz aktifleştirici faktör 1
AİF	Apopitoz indükleyici faktör
ATP	Adenozin trifosfat
AİA	Aerobik interval antrenman
AET	Artışlı egzersiz testi
ALS	Amiyotrofik lateral skleroz
Bax	Bcl-2 associated x protein
Bcl-2	B-cell lymphoma-2
BH	Bcl-2 homoloji
Ca²⁺/Na⁺-ATPaz	Kalsiyum sodyum ATPaz

Kısaltmalar	Açıklama
dATP	Deoksiadenozin trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
ETZ	Elektron taşıma zinciri
GER	Granüllü endoplazmik retikulum
GH	Glial hücre
GSH	Glutasyon
HCl	Hidroklorik asit
İŞDE	İlımlı şiddette-devamlı egzersiz
IAP	İnhibitor of apoptosis
KrP	Kreatin fosfat
La	Laktik asit
LDN1	Birinci laktat dönüm noktası
LDN2	İkinci laktat dönüm noktası
LSS	Lactate steady state
MN	Motor nöron
MNH	Motor nöron hastalığı
MnSOD	Manganez süperoksit dismutaz
MPBG	Mitokondriyal permeabiliteye bağlı geçiş
mRNA	Massenger ribonucleic acid
Na⁺/K⁺-ATPaz	Sodyum/potasyum ATPaz
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NMDA	N-metil-d-aspartat
NO	Nitrik oksit
PGC-1α	Peroxisome proliferator - activated receptor γ coactivator-1 α
P_{LDN1}	Birinci laktat dönüm noktasındaki güç çıktısı
P_{LDN2}	İkinci laktat dönüm noktasındaki güç çıktısı
P_{maks}	Maksimum güç çıktısı
Port	Ortalama yük
P_{pik}	Pik iş yükü şiddeti
P_{top}	Toparlanma yükü
ROT	Reaktif oksijen türleri

Kısaltmalar	Açıklama
RNT	Reaktif nitrojen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
S_{pik}	Pik egzersiz süresi
S_{top}	Toparlanma periyodunun süresi
SSS	Santral sinir sistemi
VDN1	Birinci ventilasyon dönüm noktası
VDN2	İkinci ventilasyon dönüm noktası
VO₂maks	Maksimum oksijen volümü
YŞAE	Yüksek şiddetli-aralıklı egzersiz

1. GİRİŞ

Kronik egzersizin birçok dokuda antioksidan savunma sistemlerini harekete geçirerek olumlu etkiler yaptığı bilinmektedir [1,2,3]. Ancak aşırı şiddet ve süredeki egzersizin birçok organ ve dokuda bozulmuş adaptasyona yol açtığı hayvan ve insan çalışmaları ile gösterilmektedir. Bunda da doku düzeyinde antioksidan savunma sistemi ile dengelenemeyen artmış oksidatif stres, yine göreceli olarak artmış proinflamatuvar moleküller ve dolayısıyla oluşan mitokondriyal disfonksiyonun rolleri üzerinde durulmaktadır [4].

Yüksek reaktif oksijen türleri (ROT) düzeyleri özellikle radikal üretim alanlarının (beyin gibi yüksek mitokondriyal enerji metabolizmasına sahip ve antioksidan savunması zayıf olan dokular) yakınında oksidatif hasarı indükler. Birtakım hayvan çalışmalarında aralıklı, yüksek şiddetli egzersizin beyin korteksinde mitokondriyal disfonksiyona yol açtığı gösterilmiştir [5].

Egzersiz ve nöronal hasar ilişkisindeki tartışmalı alanlardan birisi de omurilik ön boynuz motor nöronlarının ilerleyici dejenerasyonu ile karakterize olan Amiyotrofik Lateral Skleroz (ALS) hastalığıdır. ALS'nin nedeni tam olarak bilinmemektedir. ALS patogeneziyle ilgili hipotezler arasında eksitotoksisite, oksidatif stres, nörofilament fonksiyonunda bozulma ve inflamasyon sayılabilir [6].

ALS hastalığının hayat boyu aşırı egzersiz yapanlarda ve hatta futbolcularda daha sık görülebildiğine dair bazı epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur. Birinci ve ikinci seride oynayan erkek futbolcuları kapsayan uzun vadeli retrospektif ve prospektif birtakım çalışmalarda profesyonel futbol ile ALS riski arasında sıkı ilişki olduğu sonucuna varılmıştır [7,8]. Profesyonel bisikletçiler ve basketbolcularda ise risk artışı saptanmamıştır. Futbolcularda görülen ALS'ye bağlı artmış ölümleri açıklamak üzere öne sürülen hipotezler arasında futbolculardaki ağır fiziksel egzersiz, futbola özgü travma, yasadışı toksik madde kullanımı veya diet desteklerinin kronik yanlış kullanımı ve sahalarda kullanılan pestisitlere maruziyet sayılabilir [9].

Futbolcuların ma sırasındaki egzersiz paterni daha çok yüksek Şiddetli-aralıklı egzersiz (YŞAE) paternine benzemektedir [10]. Haftada ortalama 3 kez ma yaptıkları hesaba katıldığında ve egzersiz ve toparlanma süreci arasında dengesizlik mevcutsa aşırı (overtrained) egzersiz yapan bir grup olarak kabul edilebilirler.

Egzersiz bilimciler egzersizle ilişkili artan oksidatif stresin ana kaynağının mitokondri olduğu konusunda hemfikirdirler [11]. Mitokondriler ROT'ların da hücredeki ana kaynaklarıdır. YŞAE ılımlı Şiddette-devamlı egzersiz (IŞDE) tipine göre oksidatif metabolizmanın çok daha fazla kullanılmasına yol açmaktadır [12]. YŞAE diğer egzersiz tiplerine göre mitokondriyal hasar oluŐurmaya daha yatkın olabilir. Santral sinir sistemi hücrelerinden motor nöronlar yüksek mitokondriyal enerji metabolizmasına sahiptirler ve oksidan hasara oldukça duyarlıdırlar [13].

Bu bilimsel veriler bizi oksidatif metabolizmayı ciddi Şekilde harekete geçiren YŞAE tipi kronik endurans egzersizinin yine oksidatif metabolizmaya ciddi Şekilde bağımlı olan ve biyoenerjetik dalgalanmalara karşı oldukça hassas olduğu düŐünülen motor nöronlarda özellikle de mitokondri fonksiyonlarında ve ultraŐrktrel yapısındaki etkilerini araştırmaya teşvik etmiŐtir.

Bu proje ile sıçanlarda YŞAE uygulamasının motor korteks ve omurilik ön boynuz motor nöronlarındaki etkilerine bakmayı amaçladık, bu bağlamda kronik yüksek Şiddetli-aralıklı ve ılımlı Şiddette-devamlı koşu egzersizi yaptırılan ve egzersiz yaptırılmayan sedanter gruptan oluşan üç grupta motor nöronlarda immünohistokimyasal yöntemle mitokondriyal erken hasar belirteçleri sitokrom c ve Bcl-2 immnreaktivitelerine bakmayı ve elektron mikroskobik olarak ultraŐrktrel değerlendirme yapmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Egzersiz

Egzersiz fiziksel uygunluğun bir veya daha çok bileşenini korumak veya geliştirmek için yapılan, tekrarlayan bedensel hareket olarak tanımlanan bir fiziksel aktivite alt kümesidir. Dolayısıyla fiziksel aktivite fiziksel egzersizden farklıdır çünkü fiziksel aktiviteyi arttırmak için sarfedilen çabalar fiziksel uygunluğu geliştirmeye yönelik değildir [14].

2.1.1. Egzersiz tipleri

Egzersiz hem mekanik (dinamik, statik) hem de metabolik (aerobik, anaerobik) özelliklere sahip kas aktivitelerini içerir. Ekstremita hareketine yol açan dinamik (izotonik) egzersiz yine konsantrik (en yaygın kas aktivitesi olan kas liflerinin kısalması) veya eksantrik (yerçekimine karşı bir ağırlık indirildiğinde oluşabilen kas liflerinin uzaması) olarak kendi içinde ikiye ayrılır. Statik (izometrik) egzersiz ekstremitelerde harekete neden olmaz [15].

Metabolik sınıflandırma birincil olarak kasılma işlemi için oksijen kullanılabilirliğini yansıtır ve aerobik (oksijen kullanılabilir) veya anaerobik (oksijensiz) işlemleri kapsar. Çoğu egzersiz hem dinamik hem de statik kontraksiyonları bunun yanı sıra aerobik ve anaerobik metabolizmayı içerir ve her birinin katkısına bağlı olarak fizyolojik yanıtlar anlamlı derecede farklı olabilir. Son zamanlardaki klinik egzersiz test prosedürleri belirgin bir dinamik-aerobik (endurans) bileşen göstermektedir [15].

2.1.2. Egzersiz antrenman teknikleri

Antrenman (veya egzersiz eğitimi) spor performansını arttırmak için egzersize sistematik ve düzenli bir şekilde devam etmek olarak tanımlanabilir. Performans ise özellikle lökomosyona (bir noktadan diğerine yer değiştirilen) dayalı sporlarda belli bir mesafeyi almak için harcanan zaman (5 000 m için 14 dk bir performanstır) veya belli bir sürede alınan mesafe (1 saatlik koşuda 21 km) olabilir. Hız-zaman ilişkisi düşünüldüğünde antrenmanın hedefi aynı mesafeyi daha hızlı koşabilmek veya belli bir hızda daha uzun koşabilmek yani eğriyi sağa kaydırmaktır [16].

Her bir egzersiz antrenman devresi endurans veya direnç eğitimini içeren daha yoğun ve uzun süreli egzersiz fazı öncesinde ve sonrasında kısa süreli ısınma ve soğuma (düşük yoğunluklu aerobik ve germe hareketleri) periyodlarını içerecek şekilde olmalıdır. Genellikle endurans egzersizi dirençli egzersizle farklı günlerde uygulanır ancak eğer kişinin sağlık durumu tolere edecek düzeyde ise her iki tip te tek bir seansta uygulanabilir. Germe (fleksibilite) egzersizleri ise genellikle ısınma veya soğuma periyodlarının içinde uygulanabilir [17,18].

Endurans egzersizi

Büyük kas gruplarının ritmik kasılmasına neden olan yürüme, koşma, bisiklet çevirme ve kürek çekme gibi aerobik aktiviteler endurans egzersize örnek olarak gösterilebilir. Endurans antrenmanlarında devamlı artan yükleme (progressive overload) ilkesi uygulanır. Bu sayede fizyolojik adaptasyonlarda ilerleyici artışla birlikte egzersiz kapasitesinin artışı ve bunun sağlıkla ilişkili faydalarına ulaşma da kolaylaşır. Endurans antrenmanının şiddeti kişinin fiziksel uygunluğuna ve hedeflere göre bazal egzersiz kapasitesinin % 40'ı ile % 80' i arasında değişen bir aralıkta olabilir. Düşük yoğunluklu uygulamalar sedanter erişkinler ve yaşlılar ile zayıf bünyeli kişilerde adaptif uyarı doğurmada yeterlidir. Ancak çoğu erişkin % 55-80 arasındaki egzersiz yoğunluklarını iyi tolere ederler ve bu uygulama fit ve sağlıklı olma yolunda daha etkilidir. Egzersiz yoğunluğuna bağlı olarak egzersiz eğitiminde 30-60 dakika arası haftada 5 gün veya üstü sıklıkta egzersiz yapılması idealdir. Ancak başlangıçta özellikle zayıf veya kondüsyonsuz olanlar çok zorlanabilir, bu nedenle gerçekçi hedef, egzersize ılımlı bir süre ve şiddet ile başlamak ve egzersiz yoğunluğu, süresi ve sıklığını yavaş yavaş arttırmaktır [19,20].

Aerobik interval antrenman (AİA) progresif sürekli antrenman modelinin zıddı bir endurans antrenman tipidir. Şiddetli egzersiz periyodlarının arasında nisbeten daha düşük yoğunlukta toparlanma bölümleri olacak şekilde planlanır. Progresif sürekli antrenmana göre egzersiz performansını daha hızlı arttırdığı için AİA çoğunlukla atletler tarafından kullanılmıştır. Ancak 1990'lı yıllardan beri kalp hastalığı olan erişkinler dahil diğer popülasyonlar tarafından da sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır [19,20].

2.2. Yüksek Şiddetli-Aralıklı Egzersiz

Aralıklı egzersiz, tekrarlayıcı kısa veya uzun süreli oldukça yüksek şiddette egzersiz (maksimum laktat steady state -LSS- hızına eşit veya üstünde) atakları ile bunların arasına toparlanma periyodlarının (hafif egzersiz veya istirahat) serpiştirilmesinden oluşur. YŞAE 100 yıldan fazla süredir rekabete dayalı sporlarda uygulanmaktadır. İlk olarak 1959'da yayınlanan bilimsel bir makalede Reindell ve Roskamm tarafından tanımlanmıştır ve 1950'lerde olimpiik şampiyon Emil Zatopek ile popülerite kazanmıştır. O zamandan itibaren orta ve uzun mesafe koşucuları kendi spesifik yarışma hızlarına yakın hızlarda antrenman amaçlı bu tekniği kullanmışlardır [16]. Futbol gibi invaziv saha oyunları aralıklı (intermitan) aktivite profilleri ile karakterizedir [21]. Futbol 15 dk ara ile 45'er dakikalık 2 yarım devreye ayrılan, normalde 90 dk boyunca oynanan bir yüksek şiddetli- aralıklı spordur [22]. Ancak YŞAE son 20 yıl boyunca rekreasyonel olarak aktif bireylerde [23,24], aynı zamanda takım ve raket spor oyuncularında artan bir şekilde uygulanmaktadır [25,26].

YŞAE antrenmanlarında ve testlerinde maksimum eforlara varan daha yüksek pik iş yükleri kullanılmaktadır [23,27,28]. Tekrarlı sprint antrenmanı ifadesiyle de anılan bu tipte maksimum yoğunluktaki kısa egzersiz periyodları (short bouts) egzersiz fizyolojisi araştırmalarının odak noktası haline gelmiştir. Rekreasyonel olarak aktif bireylerde aerobik sistem değişiklikleri, egzersize sistemik adaptif yanıtlar ve sağlık üzerindeki muhtemel yararlar açısından YŞAE geleneksel endurans antrenmanlarına benzer etkiyi çok daha kısa sürede yaratır. YŞAE'nin en tipik özelliklerinden birisi zamanın verimli kullanıldığı bir stratejidir diğer bir deyişle oldukça düşük antrenman volümüne sahiptir (düşük volümlü yüksek şiddetli aralıklı antrenman). Diğer bir önemli ayrıntı da; tükenmeye kadar olan toplam zorlu egzersiz süresi aralıklı egzersiz programında aynı şiddetteki devamlı egzersiz programından daha fazladır [29]. Dolayısıyla egzersiz eğitimi etkileri açısından bakıldığında YŞAE'nin endurans performansında özellikle de yüksek antrenmanlı atletler açısından daha belirgin kazanımlar sağlayacağı düşünülmüştür [30].

2.2.1. Çoklu depar sporları ve yüksek şiddetli-aralıklı egzersiz

“Çoklu depar işi” (multiple sprint work) birçok saha ve kort sporunda yaşanan kompleks aktivite paternleri için genel bir tanımlama sağlayan bir terimdir. Çoklu depar sporları

olarak bilinen badminton, basketbol, futbol ve duvar tenisi (squash) gibi sporların doğasında YŞAE aktivite paternleri mevcuttur. Müsabaka esnasında tekrarlayıcı kısa süreli (≤ 6 sn'lik) maksimum/ maksimuma yakın çalışma (work) atakları relatif olarak kısa (60 sn) ılımlı/ düşük şiddetli toparlanma periyodları arasına serpiştir. Bu hadiselerin süresi çoğu kez 1 saatin üstündedir ve takım oyunları olduğunda (basketbol, futbol, hokey gibi) aktivite paternleri oyuncunun pozisyonundan önemli oranda etkilenir [26,31,32]. Saha sporlarında (futbol, hokey gibi) müsabaka sırasında katedilen mesafe oyuncunun pozisyonu, yetenek düzeyi ve oyunun süresine bağlı olarak 5 000 ile 11 000 m arasında değişen bir değerdedir. Değişik hareket formlarında oyun içi harcanan süre yüzdeleri kantifiye etmek çalışmalarda metodolojik farklılıklardan dolayı zordur. Ancak yüksek şiddetli aktivitelerin ortalama süresi 4-7 sn olarak bildirilmiştir, bunun 2 saniyesi ise tam depardır. Yoğunluk oranlarını saptamakta çalışmalar arasındaki metodolojik farklar sıkıntı yaratsa da yüksek ve düşük şiddetli aktivite oranları 1:6 ile 1:14 arasında değişiyor gibi gözükmektedir.

Saha oyunlarının aksine raket sporlarında (badminton, squash, tenis gibi) oyunun karakterinden dolayı daha çok sabit aktivite paternleri mevcut olup yüksek şiddetli aktiviteler (ralliler) 5-10 sn arasında, iş dinlenme oranları ise 1:1 ile 1:5 arasında değişmektedir [26].

2.2.2. Yüksek şiddetli-aralıklı egzersiz bileşenleri ve reçeteleme

Sadece iş yükü yoğunluğu ve toplam süreyi kapsayan devamlı egzersizin tersine aralıklı egzersiz 5 ana bileşenden oluşur:

- pik iş yükü şiddeti (P_{pik})
- pik iş gücü süresi (s_{pik})
- toparlanma yükü (P_{top})
- toparlanma süresi (s_{top})
- ortalama yük (P_{ort})

İntervallerin sayısı total egzersiz süresini belirler ki bu da YŞAE reçetelemesindeki diğer bir değişkendir. Ayrıca egzersiz modalitesi (örn, koşu veya bisiklete binme) ve serilerin arasındaki toparlanma fazları ve yoğunlukları da diğer belirleyicilerdir [33].

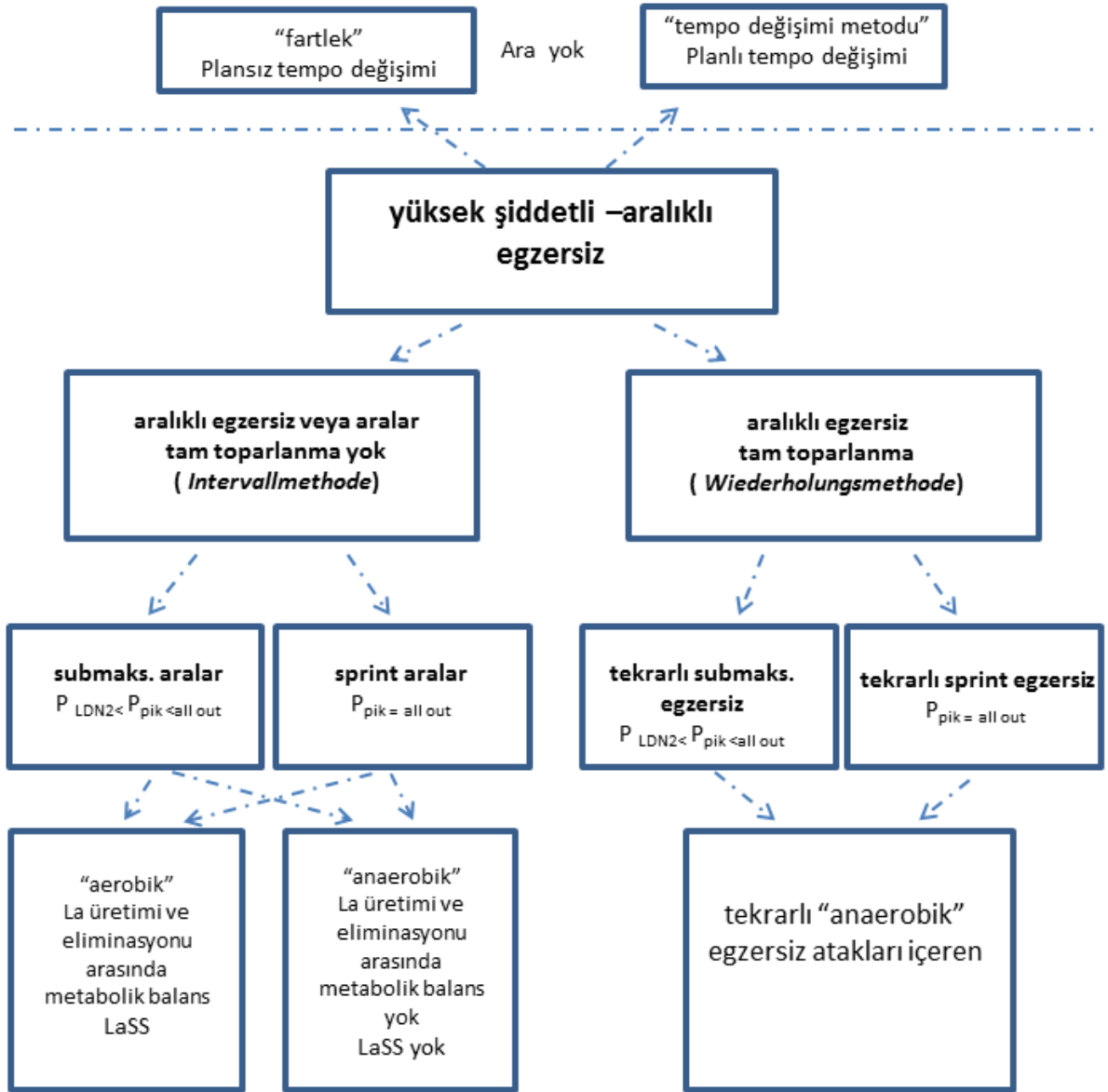
YŞAE reçetelemesi ile ilgili muazzam çeşitlilik mevcutken tiplendirme ve isimlendirmede de literatürde birçok öneri mevcuttur. Yine aynı terimler farklı araştırmacılar tarafından farklı anlamda kullanılabilmektedir. Örneğin düşük volümlü yüksek şiddetli aralıklı antrenman (low-volume high-intensity interval training) Burgomaster ve ark. [28] tarafından 30 sn'lik toplam depar periyodlarını simgelerken Currie ve ark. [34] tarafından 1 dk süreli % 89 P_{pik} çıkışları olan aralıklı egzersiz için kullanılmıştır.

Bir tek aerobik YŞAE isimlendirmesinde akut fizyolojik yanıtlar göz önüne alınarak isimlendirme yapılmıştır. Burada da Billat ve ark. [16] bu ifadeyi bu egzersiz tipinde aerobik metabolizmanın anaerobik metabolizmaya göre daha ön planda kullanılmasına bağlamışlardır.

Ancak Tschakert ve Hofmann [33] aerobik ifadesinin laktik asit (La) kararlı hali (steady state-SS) ile sonuçlanan çalışan kasta üretilen La ile bunun çalışan kas ve sistemik (beyin, kalp, karaciğer ve istirahatteki iskelet kası) atılımı arasındaki denge durumu ile alakalı olduğunu belirtmişlerdir.

Yine Tschakert ve Hofmann [33] YŞAE sınıflamasına yönelik daha önce antrenman bilimi ile ilgili alman ders kitaplarında önerilen bir sınıflandırmayı fizyolojik yanıtları da göz önüne alarak modifiye etmişler ve Şekil 2.1'de şematize edilen yeni bir sınıflandırma önermişlerdir. Bu sınıflandırmada 2 model temel olarak mevcuttur:

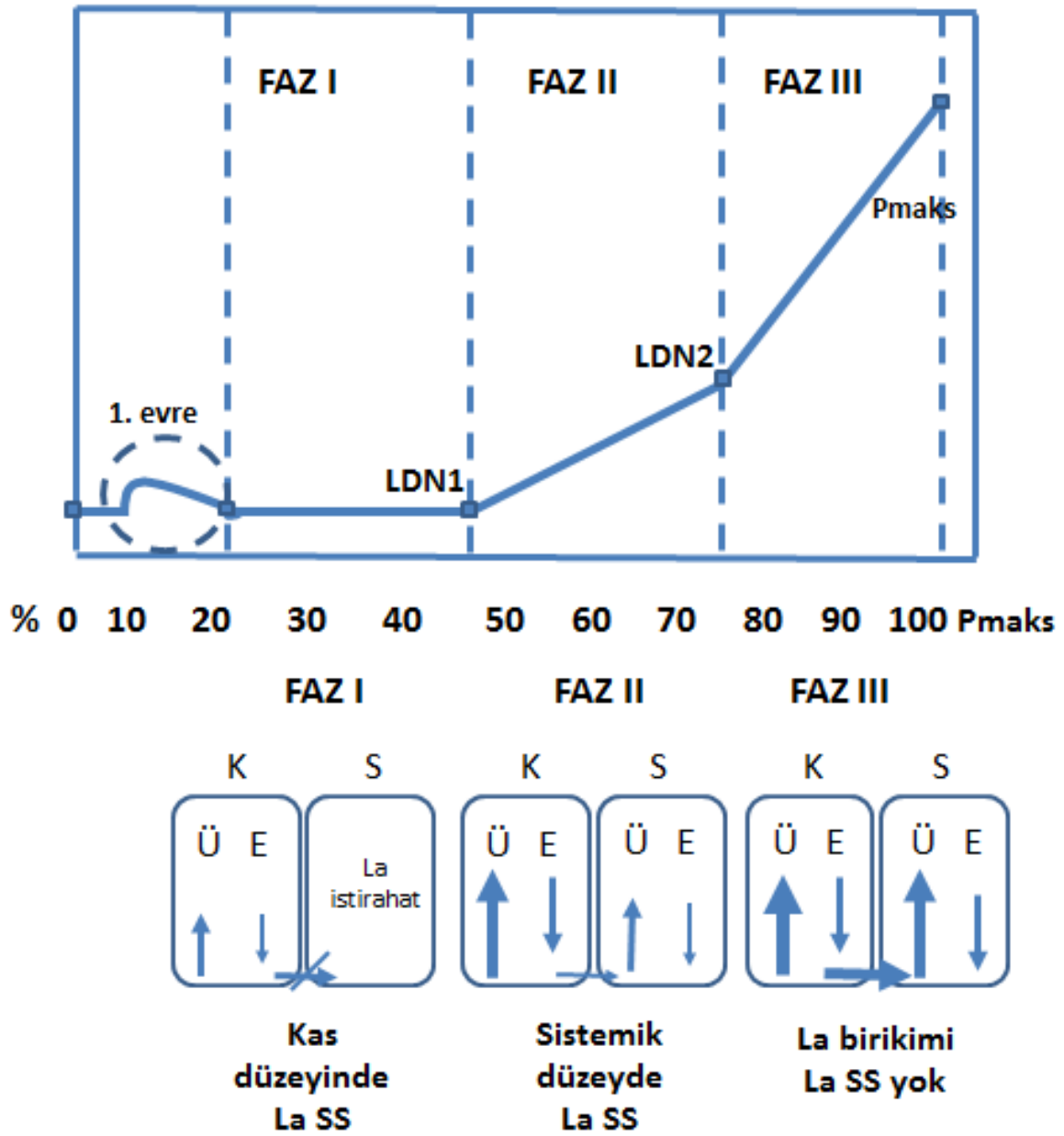
- Modellerden birinde yüksek şiddetli egzersiz atakları arasında prematür olarak sonlandırılan dinlenme periyodları mevcuttur ve burada kısmi düzelmeye imkan sunulmuştur (Almanca'da *Intervallmethode* olarak adlandırılıyor)
- Diğer model ise uzun dinlenme periyodları ile karakterize olup yüksek şiddetli egzersiz atakları arasında tam düzelmeye olanak sağlayacak şekildedir (Almanca'da *Wiederholungsmethod* olarak adlandırılıyor)



Şekil 2.1. Aralıklı egzersiz sınıflandırmasında önerilen model

P_{LDN2} : artışı egzersiz testinde saptanan ikinci laktat dönüm noktası, P_{pik} : aralıklı egzersiz sırasındaki pik iş yükü şiddeti, LaSS: Kan laktik asit steady state (kararlı hali)

Tschakert ve Hofmann [33] YŞAE’de egzersiz yoğunluğunun reçetelemesinde daha önce önerilen yöntemlerin fizyolojik yanıtlar gözetilmeksizin önerildiğini ve geleneksel endurans egzersiz reçetelemesinde kullanılan artışı egzersiz testi (AET)’ndeki (Şekil 2.2) laktat dönüm noktaları (LDN1, LDN2) veya ventilasyon dönüm noktaları (VDN1, VDN2) ve yine maksimum güç çıktısı (P_{maks}) gibi bireyin aerobik egzersiz performansını yansıtan verilerin kullanılabileceğini belirtmişlerdir. 2 eşikli ve 3 fazlı metabolizma sırasıyla devamlı veya aralıklı egzersiz serilerinde ortaya çıkabilir [35].



Şekil 2.2. Artışlı egzersiz testi sırasında kullanılan 3 fazlı laktat modeli

LDN1: AET'de saptanan ilk La dönüm noktası, LDN2: AET'de saptanan ikinci La dönüm noktası, Pmaks: AET'deki maksimum güç çıktısı, K: çalışan kas, S: sistem; Ü: La üretimi, E: La eliminasyonu

Faz I: İstirahat ile LDN1 arasındadır. Çalışan kasta üretilen bütün laktat çalışan kasta aerobik olarak elimine edilir. Dolayısıyla çalışan kasta La üretimi ve atılımı arasında denge (La denge durumu) mevcuttur ve kan La değerleri istirahat düzeyinde kalır.

Faz II: LDN1 ve LDN2 arasındadır. La iskelet kasında tamamiyle okside edilemez ve kısmen kana geçer, ancak diğer organlar tarafından metabolize edilebilir. Yine bu fazda bu kez sistemik düzeyde bir metabolik denge durumu söz konusudur.

Faz III: LDN2'nin üstündedir. Çalışan kasta ne kasın kendisi tarafından ne de sistemik olarak elimine edilebilecek miktarın üstünde L_a üretilir ve bu da L_a birikmesine neden olur (metabolik olarak dengesiz durumlar, L_a denge durumu yok).

Egzersiz şiddetini reçetelerken; % P_{LDN2} P_{ort} , % P_{maks} P_{pik} ve % P_{LDN1} P_{top} olarak ele alınıp aralıklı egzersiz için şu eşitlik önerilebilir: $P_{ort} = (P_{pik} \times s_{pik} + P_{top} \times s_{top}) / (s_{pik} + s_{top})$

Aynı araştırmacıların önerisi P_{ort} belirlenirken diğer 4 parametrenin yanında YŞAE sırasındaki kardiyorespiratuvar zorlanmanın da göz önüne alınması gerektiği şeklindedir. Bu yeni metodolojik yaklaşım L_a taşınma teorisi tarafından önemli olarak desteklenen dönüm noktası kavramına dayanmakta ve egzersiz yoğunluğunun aralıklı egzersizin yarattığı fizyolojik cevaplar ve adaptasyonlarla korelasyonunu 3 özgün enerji destek fazına bağlı olarak sağlamaktadır.

P_{pik} genellikle anaerobik eşik veya üstündeki egzersiz şiddetlerindedir, s_{pik} ise kısa veya orta uzunlukta olabilir ve birkaç saniye ile birkaç dakika arasında değişebilir. P_{pik} fazları düşük veya ılımlı şiddetteki egzersiz veya pasif toparlanma periyodları ile ayrılmıştır. Bu periyodlar kısmi düzelmeye izin verirken genellikle tam bir düzelmeye olanak tanımaz. YŞAE antrenmanının amacı spesifik bir endurans tipi egzersiz sırasında kullanılabilecek şekilde fizyolojik sistemleri tekrarlayıcı olarak stres altına sokmaktır [36].

s_{top} genellikle s_{pik} 'ten kısa, ona eşit veya daha uzun olabilir. Özellikle P_{ort} ayarlanmasıyla ilgili çok nadir veri mevcuttur. YŞAE paterninin kullanıldığı bilimsel araştırmalarda ve egzersiz antrenmanlarında bu bileşenlerin farklı şekillerde önerilmesine bağlı çok sayıda farklı aralıklı egzersiz rejimleri kullanılmaktadır. Ancak buna rağmen elit sporcular, sağlıklı sedanterler, rekreasyonel koşucular ve hatta hasta bireylerin de kullanıldığı çalışmalarda farklı YŞAE paternlerinin olumlu yanıtları da görülebilmektedir [33].

YŞAE reçetelemesiyle ilgili olarak ileride yapılacak çalışmalarda sorun yaratacak bir nokta sağlık açısından maksimum fayda sağlamak için gereken minimum dozun tanımlanmasıdır [27]. Çünkü her bir değişkenin tek başına manipülasyonu egzersiz sırasındaki akut metabolik, kardiyopulmoner ve de nöromüsküler cevaplarda muhtemelen direkt bir etkiye sahiptir [37]. Bu akut adaptasyonlar bir yandan spesifik orta veya uzun süreli antrenman adaptasyonlarına yol açar, diğer yandan ise daha çok ta hasta bireylerde birtakım sağlık

risklerini de barındırabilirler. Dolayısıyla YŞAE protokolleri düzenlenirken sağlıkla ilişkili çeşitli yanıtları alabilmek için optimal süre ve yoğunluk tanımlamaları yapılabilmesi bakımından daha çok araştırmaya ihtiyaç vardır [33].

YŞAE başlangıç fazında ATP resentezi için hücre içi oksijen depoları ve/veya anaerobik yolak kullanılmalıdır, çünkü pik iş gücü fazlarında çalışan kasa kan yoluyla oksijen transportu relatif olarak yetersizdir. Bu durumda ilk saniyelerde hücre içi oksijen kaynağı olarak oksimiyoglobin, enerjiden zengin fosfat olarak ise kreatin fosfat (KrP) rol oynar. Toparlanma periyodunda (P_{pik} eğer çok yüksek değilse veya toparlanma periyodu çok kısa veya yüksek şiddette değilse) oksimiyoglobin ve KrP hızla ve tamamıyla yerine konabilir [37]. Yüksek şiddetteki atakların süresi ve şiddeti arttıkça çalışan kasta ve kanda anaerobik glikoliz ürünleri La ve hidrojen iyonu (H^+) düzeyleri artar. Dolayısıyla aralıklı egzersizde anaerobik metabolizmayla ilişkili olarak metabolik asidoz temel olarak pik iş gücü fazlarında oluşur. La kararlı halinin sağlanmasında üretim ve atılım arasındaki denge önemlidir ve maksimum La kararlı hal düzeyinin üstüne çıkılmamasında pik iş gücü yoğunluğu ve süresi toparlanma periyodundan daha kritiktir. Bu kritik sınırı aşmamak için P_{pik} arttırılırsa s_{pik} kısaltılmalıdır [33].

La kararlı hal egzersizi uzun süre sürdürülebilir. Ancak aktif kasta yüksek düzeyde La üretimine yol açıp kasta La kararlı halinin tüm egzersiz boyunca yakalanamadığı YŞAE'lerde bu durum hücre içi birtakım spesifik cevapları uyabilir. Yakın zamanlı bilimsel bulgular egzersizde dengelenemeyen laktat artışının mitokondriyal düzeyde birtakım taşıyıcı proteinlerin sentezini uyarmak yoluyla mitokondriyal oksidasyon ile laktatın eliminasyonuna yol açtığını desteklemektedir [38]. Yani La kararlı halini bozan YŞAE özellikle de atletlerde La toleransı gibi birtakım faydaları ortaya çıkarmaktadır .

Yüksek hücre içi ve kan La düzeylerinin ardışık pik egzersiz ataklarında fosfofruktokinaz enzimini sınırlandırarak glikolizin azalmasına yol açtığı düşünülmektedir. Bu da La kararlı hal düzeyinin üstündeki egzersiz yoğunluklarına rağmen ATP resentezinde aerobik yolağın kullanılmasına zorlamaktadır. Pik yük şiddeti aynı ama süresi daha uzun olan YŞAE protokollerinin maksimum VO_2 (VO_{2maks})'yi daha çok yükselttiği çalışmalarla gösterilmiştir ki [39] bu durum bahsedilen mekanizmayı destekler niteliktedir.

YŞAE’de egzersiz şiddeti kardiyorespiratuvar ve periferik müsküler adaptasyonun belirlenmesindeki diğ er bir deyişle aerobik performansın artmasındaki en önemli etkendir [40]. Transkripsiyon faktör koaktivatörü PGC-1  (peroxisome proliferator - activated receptor   coactivator-1 ) mitokondriyal biyogenez, hücresel solunum, enerji substrat kullanımında kritik bir düzenleyicidir.  skelet kasındaki akut kontraksiyon PGC-1  mRNA yoğ nluğ n  artırırken egzersiz eğitimi ise yüksek PGC-1  protein i eriğ  ile ilişkilidir. Kasta mitokondriyal biyogenezin baş düzenleyicisi olan bu faktörün aktivasyonunda egzersiz şiddetinin kilit rol oynadığı gösterilmiştir. Dolayısıyla YŞAE’de VO₂maks miktarındaki artışta kastaki oksidatif potansiyelin yani mitokondriyal içerik ve enzimatik aktivitellerdeki artışların etkisi ön plandadır.

Devamlı endurans egzersizi ile kıyasladığında mitokondriyal yağ asidi oksidasyonunun YŞAE programlarında daha belirgin olarak arttığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir [27,41,42]. Düzenli YŞAE hem aerobik hem de anaerobik metabolizmayı belirgin olarak arttırır.  skelet kası düzeyinde yağ asidi oksidasyonu enzimleri ile glikolitik enzim kapasitesinde artışa yol açarak insülin rezistansında da belirgin azalma sağlar. Devamlı endurans egzersizine göre kastaki glikojen azalma oranı ise daha düşüktür.

2.3. Hormezis ve Egzersiz

Hormezis terimi en sık toksikoloji alanındaki araştırmacılar tarafından düşük bir dozun uyarıcı veya faydalı, yüksek bir dozun ise inhibitör veya toksik etkiyi yansıttığı bir bifazik doz-yanıt ilişkisini tanımlamada kullanılmaktadır [43].

Hücre veya organizmanın düşük doz toksine yanıtı homeostazda başlangıçta meydana gelen bozulmayı takiben gelişen bir adaptif kompensatuvar süreç olarak düşünülebilir [44].

Dolayısıyla yüksek dozlarda zarar veren bir kimyasal ajan veya çevresel faktörün düşük dozuna maruziyetin hücre veya organizmada adaptif faydalı bir etkiyi indüklemesi olarak kısaca ifade edilebilir. Hormetik yanıtların spesifik tiplerinden bazıları  n koşullanma ve adaptif stres yanıtı gibi farklı isimlerle yaygın olarak kullanılmaktadır [45].

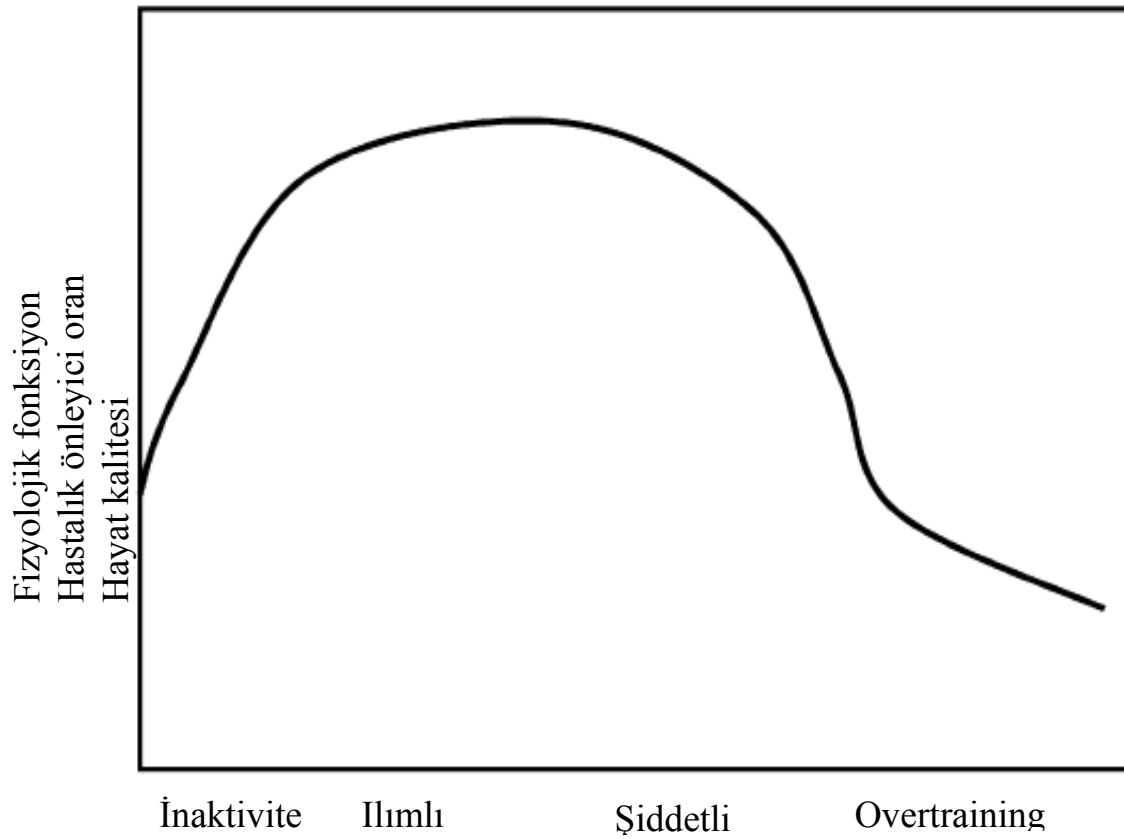
Hormezis sadece eksojen bir ajan veya çevresel faktöre maruziyetle ilişkili olarak düşünülmemelidir. Hücre veya organizmaların normal fizyolojik fonksiyonları ile içiçedir. Örneğin nöronların normal aktiviteleri sırasında uyarıcı nörotransmitter glutamata maruziyetleri oksidatif stres yaratıp hormetik yolları aktifleştirerek nöronların daha şiddetli stresle başa çıkmalarına yol açar. Ancak glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılması ise eksitotoksisite denilen bir süreçle nöronların ölümüne neden olabilir [46].

Çeşitli yaşam tarzı ve çevresel faktörlerin sağlığa katkısından sorumlu mekanizma olarak hormezisin rol oynadığına dair kanıtlar literatürde mevcuttur. Egzersiz kas iskelet ve kardiyovasküler sistemlerin hasar ve hastalığa karşı direncini arttırmakta olup hormetik mekanizmaya en iyi örneklerden biridir [47].

Düzenli yapılan ılımlı şiddetteki egzersiz aynı zamanda sinir sistemi ve sindirim sistemi gibi farklı dokularda da faydalı etkiler gösterir [48,49].

Hormezis teoremine göre biyolojik sistemlerin kimyasal, toksin ve radyasyona maruz kaldıklarındaki yanıtları düşük dozun uyarıcı, yüksek dozun ise inhibisyon yaptığı bir çan eğrisi şeklindedir [50].

Radak ve arkadaşları tarafından hormezis teorisi yaşlanma veya fiziksel egzersiz etkisi ile plato çizen serbest radikal türlerine de uyarlanmıştı [51]. Dolayısı ile egzersizin serbest radikaller üzerindeki modüle edici etkileri hormezis eğrisi ile açıklanabilir. Fiziksel inaktivite çeşitli hastalıkların görülme sıklığında artışa yol açar ve egzersizle ilişkili hormezis eğrisinin (Şekil 2.3) uç noktalarından biri olarak düşünülebilir. İlimli şiddette ve sürede yapılan düzenli egzersiz ise kısmen nitrik oksit (NO) aracılı adaptasyona bağlı olarak kardiyovasküler fonksiyonda olumlu ilerlemeden nörotrofin düzey artışı ve redoks homeostazisi modülasyonu mekanizmaları yoluyla Alzheimer's hastalık insidansında azalmaya kadar geniş bir yelpazede vücut üzerinde faydalı etkiler göstermektedir. Düzenli ılımlı egzersiz vücut üzerindeki oksidatif hasar riskini azaltma ve bağışıklık sistemini güçlendirme gibi mekanizmalarla fizyolojik fonksiyonlarda gelişmeye, hastalık insidansında azalmaya ve artmış hayat kalitesine yol açarak sistemik faydalı etkilerini gösterir. Aşırı egzersiz veya overtraining oksidatif stresin zararlı etkilerini ortaya çıkararak hormetik eğrinin diğer uç noktasını yansıtır [1].



Şekil 2.3. Tipik hormezis eğrisi ve egzersizin etkileri

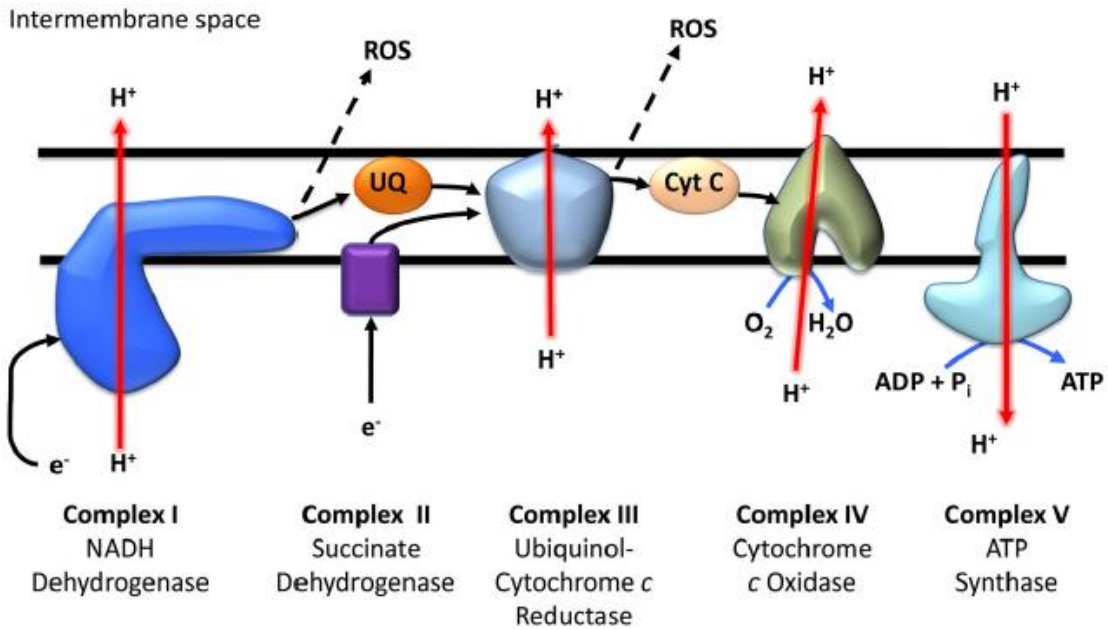
2.4. Mitokondri

Mitokondriler zarla çevrili organeller olup hücrel biyoenerjetik, termogenez, hem biyosentezi, lipid katabolizması, kalsiyum homeostazı ve diğer metabolik aktivitelerde önemli rol oynarlar. Dolayısıyla yapısal ve fonksiyonel olarak bütünlüğünü koruyan mitokondriler hücre sağlığı için kritik öneme sahiptir. Mitokondrilerin bunun ötesinde hücre ölümünde aracı rolleri gittikçe daha çok dikkat çekmeye başlamıştır. Apoptoz ve nekrozda yani iki hücre ölümü tipinin de gerçekleşmesinde bu organellerin aktif katılımı gereklidir [52].

2.4.1. Elektron taşıma zinciri ve reaktif oksijen türleri

Hücre içinde oksidatif fosforilasyonun yapıldığı yer olan mitokondride elektronlar mitokondriyal solunum zinciri içindeki her bir protein kompleksini sırasıyla redükte ettikten sonra en son oksijen tarafından kabul edilip su molekülünü oluştururlar (Şekil 2.4). Bu işleme kompleks V'te ATP üretimi eşlik eder ve hücre tipine bağlı olarak

hücresel enerjinin % 50-95'i bu yolla sağlanmış olur. Mitokondriyal elektron taşıma zinciri (ETZ) redoks potansiyellerine göre uzaysal olarak sıralanmış ve 4 kompleks şeklinde organize olan elektron taşıyıcılarından (flavoproteinler, demir-sülfür proteinleri, ubiquinon ve sitokromlar) oluşur. Elektronlar metabolik indirgeyici eşdeğerlerinden (NADH ve FADH₂) köken alıp ETZ'ye kompleks I veya kompleks II tarafından aktarılırlar ve en son moleküler oksijene geçerek kompleks IV'te su (H₂O) oluştururlar [53,54].



Şekil 2.4. İç mitokondriyal zar üstünde bulunan elektron taşıma zincirine ait basitleştirilmiş diagram

Zincir boyunca elektron (e⁻) akışının yönü (siyah oklar) ve mitokondriyal zardan hidrojen iyonu (H⁺) akışının (kırmızı oklar) yönü görülmektedir. Kesikli oklar elektron sızıntısına bağlı reaktif oksijen türlerinin üretimini göstermektedir. UQ: ubiquinon; cyt c: cytochrome c

Mitokondriyal ETZ süperoksit (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil (OH⁻) serbest radikallerini içeren ROT'un başlıca hücresel üreticilerinden olarak bilinmektedir. Mitokondriyal ETZ'den geçen elektronların az bir kısmının (yaklaşık %1 ile 3'ünün) moleküler oksijene kaçarak O₂⁻ oluşturduğu, bunun da mitokondriyal matrikste bulunan süperoksit dismutaz (Mn-SOD) tarafından hızla H₂O₂'ye dönüştürüldüğü saptanmıştır. ETZ'den O₂⁻ üretiminde kompleks I (NADH dehidrogenaz) ve kompleks III (ubiquinon-sitokrom c redüktaz) ana noktalardır. Mitokondriyal ROT yapımının disregülasyonunun iskemi/reperfüzyon ve sepsis gibi patolojilerin ilerlemesinde de etkili olduğu gösterilmiştir [55].

Bazal koşullarda sitokrom c oksidazın (kompleks IV) distalindeki solunum komplekslerindeki O_2 'nin $O_2^{\cdot-}$ 'e monovalent indirgenmesini katalize edebileceği tahmin edilmektedir. Başlangıçta bunun patolojik bazı durumlarda aktive olan ETZ'den elektronların sızıntısı olabileceği düşünülürken son zamanlarda bunun fizyolojik şartlar altında hücre sinyalleşmesinde ve strese hücrese cevaplarda düzenleyici bir mekanizma olabileceği belirtilmektedir. Yani mitokondriyal ROT üretimi fizyolojik olarak in vivo şartlarda önemli olup mitokondriyal ROT mitokondriden zengin kalp, beyin ve karaciğer gibi organların normal fonksiyonunu sürdürmeleri için gereklidir [53,54].

2.4.2. Oksidan/antioksidan denge ve oksidatif stres

Moleküler oksijen suya indirgenebilir. Ancak normal oksijen metabolizmasında oksijen indirgenmesindeki ara basamaklarda ROT'lar; $O_2^{\cdot-}$ anyon radikali (tek elektron tarafından indirgenme ile), H_2O_2 (2 elektron tarafından indirgenme ile) ve $OH^{\cdot}$ radikali (3 elektron tarafından indirgenme ile) oluşur. Oksijen radikalleri alkil veya peroksi radikaller şeklinde de oluşabilir. Ayrıca NO gaz türündeki radikallerden birisidir. Peroksinitrit radikal olmayan reaktiflerdendir ve NO ile $O_2^{\cdot-}$ anyon radikallerinden oluşur. Antioksidanlar ise enzimatik veya enzimatik olmayan natürde olabilen ve okside edilebilir bir substratın belirgin olarak oksidasyonunu geciktiren veya inhibe eden yapılarıdır. Enzimatik antioksidanların 3 ana sınıfı; süperoksit dismutazlar, katalazlar ve glutatyon peroksidazlardır [56].

Oksidatif stres ilk tanımlamalarında oksidan ve antioksidanlar arasında oksidanlar lehine bir dengesizlik olması ve bunun potansiyel olarak hasara eğilimi arttırması olarak ifade edilmiştir [56]. Bu tanımlama 25 yılın üzerinde kabul görmüş ancak sonrasında modifiye edilmiştir. Tekrar tanımlamada “redoks sinyalizasyonu ve kontrolünde bozulma” ifadesi ön plana çıkmıştır. Çok daha yeni bir tanımlama ise; “oksidan ve antioksidanlar arasında önceki lehine bir dengesizlik olması ve bunun redoks sinyalizasyonunun ve kontrolünün bozulmasına ve/veya moleküler hasara yol açması” şeklindedir [57].

Oksidanlar aerobik metabolizma sırasında az miktarda normal ara ürünler olarak oluşurlar ancak patofizyolojik şartlarda yüksek miktarlarda üretilebilirler. Hücrede iki temel savunma hattı mevcuttur. Birinci savunma hattını antioksidan enzimler ve glutatyon ve askorbat gibi düşük moleköl ağırlıklı antioksidan moleküller oluştururken ikinci hatta

DNA nükleazları veya glikozilazları gibi oksidatif olarak hasarlı makromolekülleri tamir eden veya ortadan kaldıran onarıcı enzimler yer alır. Antioksidan savunma sistemi değişen ihtiyaçlara göre adapte olma yeteneğine sahiptir ve ROT'ların zararlı etkilerini azaltmada önemlidir [56,58]

Birçok çalışmada oksidatif stres ile biyoenerjetik değişimler ilişkilendirilmiştir ve bu durumun birtakım hastalıkların patogeneğinde etkili olduğu düşünülmektedir. Bazal fizyolojik şartlarda hücresel solunum hücrenin maksimum kapasitesinin yaklaşık % 20-50'si oranındadır. Mitokondri rezerv kapasitesi bazal ve maksimum solunum oranları arasındaki fark olarak tanımlanabilir ve bu değerin hücrenin oksidan etkenlere cevabını belirlediğini gösteren birçok veri mevcuttur. Oksidatif ve nitrozatif stresler mitokondriyal rezerv kapasitesini düşürerek hücrenin strese yanıt yeteneğini azaltırlar [59]. Bazal biyoenerjetik durum ve mitokondriyal rezerv kapasitesinin miktarı hücrede ya ROT'a bağlı proliferasyonu veya hücre ölümüne yönelik sinyali belirleyen mekanizmalardır. Yaşlılık ve kronik inflamatuvar durumlarda reaktif oksijen ve nitrojen türlerindeki (ROT/RNT) artışın kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili biyoenerjetik defektlerin oluşmasına katkı sunan faktör olduğu öne sürülmüştür. Kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili biyoenerjetik defektlere katkıda bulunan faktör olarak yaşlılık ve kronik inflamatuvar durumlarda artan ROT ve RNT'nin rezerv kapasitesini azaltmalarının etkili olabileceği öne sürülmüştür.

2.5. Sitokrom c

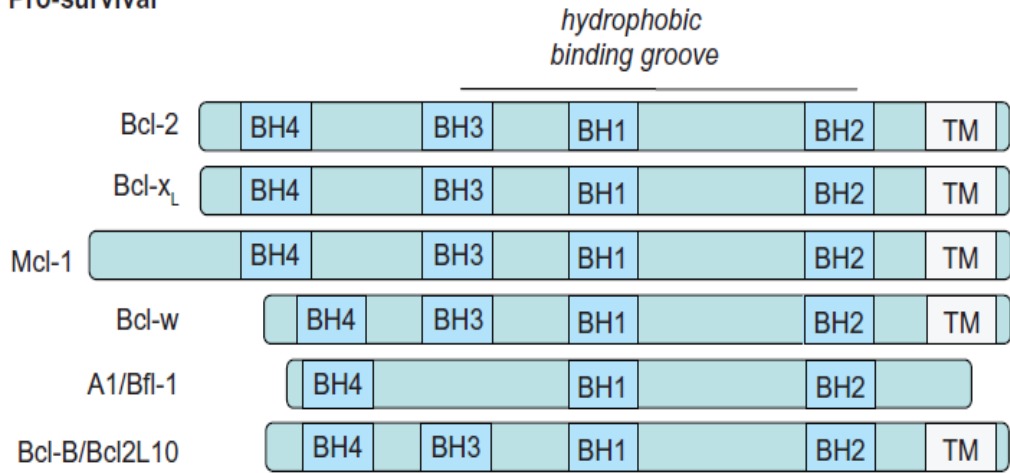
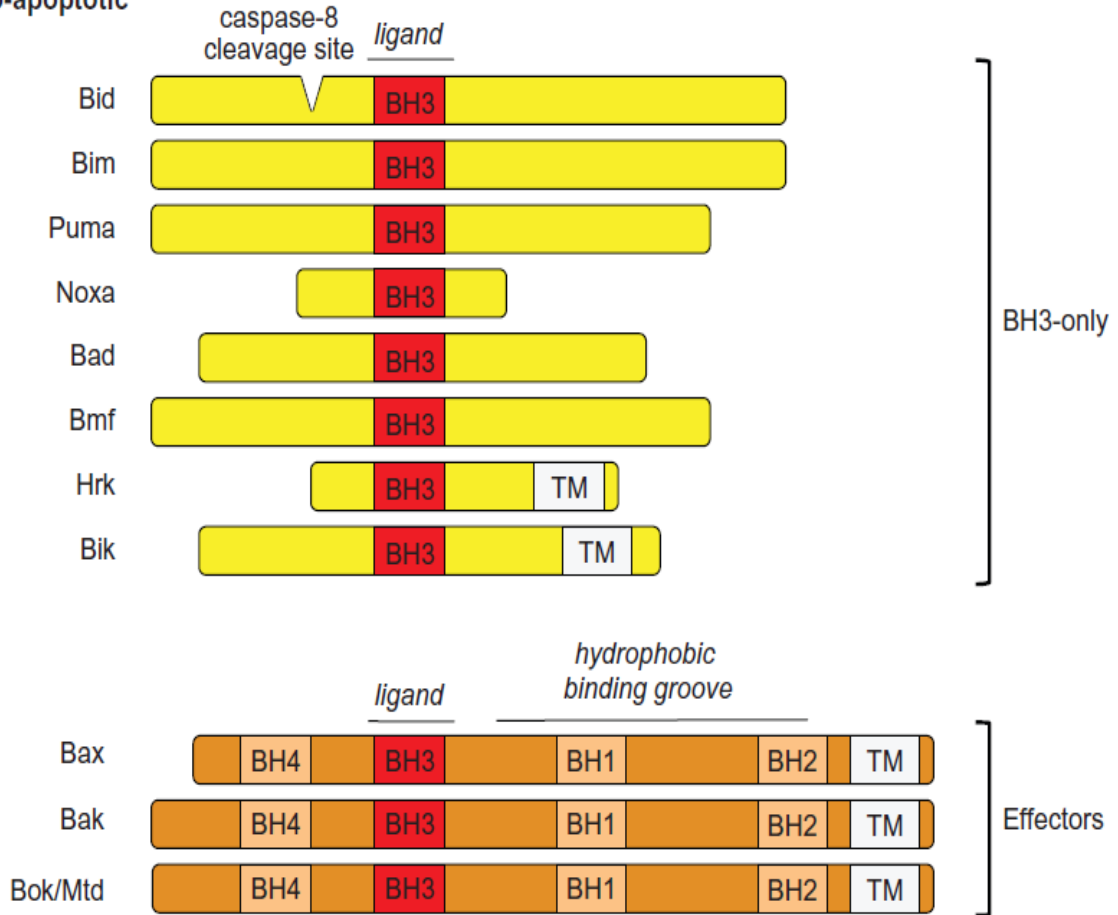
Sitokrom c çekirdekte apo-sito-krom c olarak kodlanır ve mitokondrinin dış zarına boydan boya aktarılır ve burada hem ile birleşerek olgun protein halini alır. İç ve dış mitokondri zarları arasında yerleşerek iç zarda bulunan sitokrom c oksidaz kompleksine sokulur [60].

Sitokrom c'nin en az % 15'i sıkıca, kalan miktar ise kolayca mobilize edilebilecek şekilde gevşek olarak iç zara bağlanmıştır. Fizyolojik olarak mitokondriyal solunum sırasında sitokrom c redüktaz (kompleks III) ve sitokrom c oksidaz (kompleks IV) arasında elektron taşınmasını düzenler. Gevşek bağlı sitokrom c elektron taşınmasında rol oynar, süperoksit atılımına aracılık eder ve oksidatif stresi önler. Sıkı bağlanmış sitokrom c ise peroksidaz aktivitesi gösterir. Mitokondriye has bir fosfolipid olan kardiyolipinle temas ettiğinde sitokrom c yapısal değişikliğe uğrayarak peroksidaz aktivitesi kazanır ve oksidatif stresle

bu özelliği artar. Sitokrom c'nin iç mitokondri zarından sitozole salınımı bir proapoptotik faktördür. Apoptozun erken safhasında sitokrom c solunum zincirindeki redoks fonksiyonundan peroksidaz fonksiyonuna atlar. Sitokrom c'nin artmış peroksidaz aktivitesi Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı ve ALS gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda gösterilmiştir [61].

2.6. Bcl-2 Ailesi

Bcl-2 (B-cell lymphoma-2) ailesinin tanımlanması 20 yılı aşkın bir süre önce B-hücreli lenfomada yüksek düzeylerde saptanması ile olmuştur. Şimdiye kadar en az 17 Bcl-2 proteini tanımlanmıştır ve her biri sekans homolojisi gösteren bölge sayısına (en fazla dört) göre gruplandırılmıştır. Bu proteinler üç fonksiyonel gruba ayrılmıştır (Şekil 2.5). Birinci grup prosurvival veya antiapoptotik Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1, Bcl-w, A1/Bfl-1, ve Bcl-B/Bcl2L10 proteinlerinden oluşur, genellikle dört Bcl-2 homoloji (BH) bölgesini de içerirler ve hücreleri apoptotik uyarılardan korurlar. İkinci grup BH₃-only proteinlerinden; Bid, Bim, Puma, Noxa, Bad, Bmf, Hrk, ve Bik oluşurlar, sekans homolojileri sadece BH₃ bölgesiyle sınırlıdır. Bu grup DNA hasarı, büyüme faktörü azalması ve endoplazmik retikulum stresi gibi çeşitli hücresel streslere cevaben apoptozu başlatmak üzere aktifleştirilirler. Üçüncü grup Bax, Bak, and Bok/Mtd gibi yine çok bölgeli (multidomain) proteinlerdir. Tüm dört BH bölgesini de içerirler ve proapoptotiktirler [62].

Pro-survival**Pro-apoptotic**

Şekil 2.5. Bcl-2 ailesi

Protein sekansları BH bölgelerine göre karakterize edilmiştir. Gösterilen BH₃ ligand ve hidrofobik bağlanma girinti bölgeleri aile üyeleri arasında homo ve heterotipik “BH₃ girinti” temaslarını sağlarlar. Birçok Bcl-2 üyesi aynı zamanda C-uç transmembran (TM) bölgesine sahiptirler.

2.7. Apopitoz

Apopitoz spesifik morfolojik, biyokimyasal ve moleküler hadiselerle karakterize oldukça organize bir hücre ölüm şeklidir. Çok hücreli organizmaların normal gelişimi için gereklidir ve sağlıklı dokuda hücre döngüsü ve yeniden yapılanmasında rol alır. Apopitoz ayrıca tümör hücreleri ve virüsler tarafından enfekte edilmiş hücreler gibi istenmeyen ve potansiyel olarak zararlı hücrelerin atılmasında önemli rol oynar. Kanseri, akkiz immün yetersizlik sendromu, Alzheimer's hastalığı ve romatoid artrit gibi rahatsızlıkların en azından kısmen bozuk apopitoz regülasyonu sonucu geliştiği düşünülmektedir. Mitokondri apopitozun düzenlenmesinde kilit rol üstlenmektedir. ROT'ların üretiminde artış, mitokondriyal indirgeyici ajanların (ATP, NADPH ve GSH) miktarında ve redoks durumunda azalma, artmış sitozolik ve mitokondriyal kalsiyum düzeyleri gibi birçok sinyal yolağı apopitozun aktifleşmesinden sorumlu olabilir [63]. Apopitozun yürütülmesinde ve sonuçlanmasında bir sitoplazmik proteaz ailesi olan kaspazlar çok önemli roller üstlenirler [64].

2.7.1. Mitokondriyal zar geçirgenliğinin artışı

Sitokrom c'nin mitokondriden sitozole serbestleşmesi en erken apoptotik hadiselerden biri olarak gösterilmiştir [65,66].

Sitokrom c'nin mitokondride yeniden dağılması ve/veya mitokondriyi terk etmesi nasıl olabilmektedir? Mitokondriyal sinyalizasyon ve apopitoz kontrolündeki ana hadise mitokondri dış zarının permeabilizasyonu ve proapoptotik proteinlerin sitozolde serbestleşmesidir [52]. Mitokondriyal zar permeabilizasyonu kompleks bir hadise olup bununla ilgili birkaç mekanizma tanımlanmıştır:

- Bcl-2 proteinlerine bağımlı,
- Mitokondriyal permeabilite poru bağımlı,
- Lipid bağımlı geçirgenlik

Bcl-2 proteinlerine bağımlı permeabilite

Fizyolojik şartlarda bu grubun proapoptotik üyelerinden Bak mitokondri dış zarında bulunan bir integral proteindir, Bax ise sitozolde bulunur. Bak ve Bax mitokondriyal dış

zar geçirgenliğinin artışında esas rolü oynarlar. Bir tanesinin dahi açığa çıkması halinde bu hücreler apoptoza karşı hassas hale gelir ve mitokondriyal zar geçirgenliği artar [67]. Apoptotik sinyallerin etkisi ile Bax'ın konformasyonel değişikliğe uğrayıp mitokondri dış zarına yerleştiği belirtilmektedir. Daha sonrasında monomer yapıdan oligomerizasyona uğrayıp zarda gözenekler oluşturarak geçirgenliğini arttırıp mitokondriden proteinlerin salınmasına yol açtığı öne sürülmektedir [68].

Bad, Bim, ve Bid gibi BH₃-only proteinlerinin ise zar geçirgenliğini direk artırmadıkları ancak Bax/Bak gibi diğer proapoptotik proteinleri aktive ettikleri bilinmektedir. Ayrıca çoğu antiapoptotik Bcl-2 proteinlerinin aktivitelerini baskırlar. Antiapoptotik proteinlerin etkileri ise ana olarak proapoptotik BH₃-only proteinlerinin sekestrasyonu veya mitokondri zarlarındaki aktifleşmiş Bax/Bak komplekslerinin nötralizasyonu yoluyla oluyor gibi görünmektedir [69].

Lipidlere bağlı permeabilite

Son zamanlarda ilginin arttığı konulardan biri de apoptoz sırasında mitokondri zarlarının lipid içeriğinin değişmesidir ve en tipik örnek ise mitokondriyal ROT aracılı kardiolipin peroksidasyonudur. Kardiolipin esas olarak iç zarda bulunur ancak dış zarda da Bcl-2 proteinleriyle iletişimde olduğu saptanmıştır. Daha önce de belirtildiği gibi kardiolipin peroksidasyonunda sitokrom c'nin etkisi üzerinde durulmaktadır. Kardiolipin peroksidasyonu mitokondriyal zarlarla Bax ve Bid ilişkisini etkiliyor ve bu yolla dış zar geçirgenliğinin artışında rol oynuyor olabilir [70].

Mitokondriyal Permeabiliteye Bağlı Geçiş (MPBG)

Mitokondri iç zarında nonspesifik kanalların veya porların açılması iyonların ve küçük moleküllerin serbest hareketine neden olur. Mitokondri matriksinde artmış kalsiyum konsantrasyonu indükleyici faktör olup ROT/RNT artışı, adenin nükleotid havuzunda tükenme gibi etkenler ise MPBG aktivatörleri olarak düşünülmektedir. Zamanla zar potansiyeli kaybolur ve oksidatif fosforilasyondan ayrılır, ROT salınımı artar ve ATP tüketilir. Mitokondri iç zarından küçük elektrolitlerin geçişinde artış yanında matrikste proteinlerin yüksek konsantrasyonunun korunması mitokondride ozmotik şişmeye ve zamanla dış zarda rüptürle birlikte zarlar arası boşluktan büyük maddelerin salınımına yol

açar. İç zarın yüzey alanı kristallerle birlikte kendisini çevreleyen dış zara göre belirgin olarak fazla olduğu için MPBG por açılması dış zarda rüptüre yol açar [60].

Zar bütünlüğünün korunması için gerekli enerji glikolitik ATP sentezinden sağlanır. Apoptoz ile sonuçlanabilir ancak ATP sentezlenemezse nekroz ile de sonuçlanabilir [71].

İç zarda bulunan MPBG komponentlerinin Bax gibi proapoptotik Bcl-2 proteinleriyle etkileşim içinde apoptoz regülasyonunda rol oynayabileceği birtakım çalışmalarda öne sürülmüştür [72].

2.7.2. Sitokrom c salınımı sonrası apoptozun regülasyonu

Hücre içi apoptoz aktifleştirici değişikliklere bağlı mitokondri dış zarının permeabilizasyonu zarlar arası boşlukta bulunan sitokrom c, apoptoz-indükleyici faktör (AIF), Smac/DIABLO gibi intermembran proteinlerin salınımına yol açar. Sitozolda sitokrom c apoptoz aktifleştirici faktör 1 (Apaf 1) ve ATP/dATP ile birlikte prokaspaz-9'la bağlanarak kaspaz aktivasyonuna başlarlar. Oluşan multiprotein kompleks apoptozom adını alır [66,73,74] .

Apoptoz sitokrom c'den bağımsız yollarla da gerçekleşebilir ancak birçok hücrede sitokrom c sitozole salındığında apoptozom oluşumu ile kaspaz-9 aktive edilir, bu da kaspaz-3'ü proteolitik olarak aktive eder. Aktif kaspaz-3 ise apoptotik degradasyon fazı ve sonrasında hücre ölümüne giden yolağı başlatır [75].

Sitokrom c mitokondriyal depolarizasyon, kaspaz aktivasyonu ve DNA fragmentasyonu olmadan erken apoptotik dönemde mitokondriden salınır. Mitokondriyal zar depolarizasyonu apoptozun erken hadiselerindendir ancak Bcl-2 aşırı ekspresyonu bunu önler. Yine Bcl-2 aşırı ekspresyonu sitokrom c'nin mitokondriden sitozole salınımını da önler [76,77].

Bcl-2 ve Bax apoptozu bağımsız olarak da regüle edebiliyor gibi görünmektedir. Ancak iki molekül arasında in vivo bir yarış mevcut gibi görünmektedir. Bax homodimerleri (Bax/Bax) mitokondri dış zarında geniş porlar oluşturup sitokrom c serbestleşmesini kolaylaştırırken Bcl-2/Bax heterodimerleri por oluşumunu inhibe edip apoptozu inhibe ederler [78].

Kaspazların endojen inhibitörleri IAP (inhibitor of apoptosis)'lar ilk olarak baculovirüslerde keşfedilmiş, daha sonra 90'lı yılların ortasında insanda da bir grup IAP tanımlanmıştır. Prokaspaz-9'a bağlanarak ileri kaspaz aktivasyonunun önünü kesebilirler, ayrıca kaspaz-3'e direk bağlanarak inhibe edebilirler [79].

2.8. Biyoenerjetik Perspektiften Egzersiz ve Motor Nöron

2.8.1. Egzersiz ve oksidatif stres

Egzersizin insan dokularında oksidatif hasar yaratabildiğine dair ilk kanıt 30 yıl öncesine dayanmaktadır. O zamandan beri egzersize bağlı serbest radikal üretiminin kaynakları ve sonuçları ile ilgili bilgilerimizde belirgin gelişme olmuştur. İskelet kası birçok araştırmacı tarafından egzersizde üretilen serbest radikallerin ana kaynağı olarak gösterilmektedir. Bununla birlikte kalp, akciğerler veya kan gibi diğer dokular da egzersiz sırasında üretilen toplam ROT miktarına katkıda bulunabilir [4,80].

Egzersiz tartışmasız olarak ROT ve RNT'nin üretiminde artışa yol açar ki bu hazırlıksız dokulara zarar verebilir. Ancak aynı zamanda oksidatif strese adaptif yanıtları da aktive edebilir; ilgili gen ekspresyonlarında üst ayarlanım (up-regülasyon) yaparak antioksidan savunma sistemlerini indükleyebilir [3,81].

Egzersizde serbest radikal kaynakları

Egzersiz sırasında ve istirahatte egzersiz bilimciler tarafından genel kabul gören en önemli serbest radikal kaynağı mitokondri iç zarındaki solunum zincirinden kaçaktır. Egzersizle ilişkili oksidatif stres atmış mitokondriyal serbest radikal üretiminin sonucu olabilir [82].

Egzersizdeki artmış serbest radikal üretimi ile ilgili alternatif bir mekanizma iskemi-reperfüzyon hasarında görülene benzerdir. Şiddetli egzersizde aktif iskelet kası ve cildin artmış kan desteğini karşılamak üzere kan akımı yeniden dağıtılırken bazı organlarda (karaciğer, böbrek ve bağırsaklar gibi) geçici doku hipoksisi oluşur. Ek olarak VO_2 maks veya üstündeki egzersiz şiddetlerinde oksijen desteği talebi karşılayamadığından aktif kas liflerinde relatif hipoksi meydana gelir. Egzersizin kesilmesi sonrası hipoksik dokuya kan akımı reoksijenasyona yol açar ve bu da aşırı serbest radikal üretimi ve sonrasında belirgin doku hasarına yol açtığı bilinen iskemi-reperfüzyon hasarını taklit eder [83,84].

İskemi-reperfüzyon hasarında çeşitli ROT üretim kaynağı tanımlanmıştır ancak ksantin oksidaz ve mitokondriyal solunum zincirinin üzerinde daha çok durulmaktadır [85].

İskemik durum ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşmesini tetikler. Egzersiz sonrası hipoksik dokunun reoksijenasyonu sırasında enzim hipoksantini ksantine dönüştürürken süperoksit oluşur [86].

Değişmiş redoks durumu ve hazır ADP elde edilebilirliğinin azalması gibi koşullarda mitokondriyal solunumun uyarılması ile ROT üretimi büyük oranda artıyor olabilir. Bu tip durumlar iskemi sonrası reperfüze olan kalpte oluşana benzerdir. Açıkçası yeniden kanlanma sırasında mitokondriye yeterli oksijenin gelmesi ile oksidatif fosforilasyonun tekrar başlaması ROT oluşumunu belirgin ölçüde arttırabilir. Bu iskemi periyodu sırasında tekrar büyük miktarda indirgeyici eşdeğerlerin birikmesine aynı zamanda da adenin nükleotid içeriklerinin azalmasına yol açacaktır [82].

2.8.2. Motor nöron hastalığı (amiyotrofik lateral skleroz)

ALS nörodejeneratif hastalıkların en yaygın olanlarından biridir ve en yaygın erişkin başlangıçlı motor nöron hastalığı (MNH)'dır. Serebral kortekste üst motor nöronların ve beyin kökü ile omurilikteki alt motor nöronların ciddi dejenerasyonuna bağlı olarak spastisite, jeneralize kas zayıflığı ve atrofi, konuşma ve yutma güçlüğü ile ilerleyici paralizi tipiktir. Omurilik ve neokortekste internöronlarda da dejenerasyon ve kayıp saptanmıştır [87].

ALS vakalarının yaklaşık %90'ı sporadik, %10'u familial olup genellikle otozomal dominant kalıtım gösterir. Her iki form da benzer klinik ve patolojik özellikler göstermektedir ki büyük olasılıkla ortak patofizyolojik mekanizmaları paylaşmaktadırlar. Cu/Zn süperoksit dismutazı kodlayan gene (SOD₁) ait mutasyonun familial ALS olgularının % 20'sinde gösterilmesi ALS'nin anlaşılmasında büyük bir çıkış açmıştır [88]. Şimdiye kadar antioksidan savunma proteinini kodlayan SOD₁ genine ait 100'ün üstünde mutasyon tanımlanmaktadır [89].

2.8.3. Motor nöron hastalığında risk faktörü olarak fiziksel aktivite

MNH gelişmesinde ağır fiziksel aktivitenin rolüne ilişkin ilgi artmaktadır. Bu artan ilginin altında profesyonel sporcularda MNH ile ilgili insidansın beklenen düzeyin üstünde olduğunu gösteren yayınlar etkili olmaktadır. Ancak epidemiyolojik araştırmalardan elde edilen kanıtlar çelişkilidir ve net yorum yapmak için yetersizdir [90,91].

Sporadik MNH için ise genetik baz olduğu muhtemeldir ancak buna ilişkin kanıt azdır. Yeni tanımlanan ve daha önceden bilinen SOD₁ gen mutasyonları sporadik olgularda gösterilmişse de çok daha düşük frekanslardadır [92,93].

MNH’de eksojen risk faktörleri bakımından seyrek coğrafik ve mesleki kümelenmelerin görülmesi potansiyel modifiye edilebilir çevresel ve hayat stili etkenlerine yönelik araştırmaları yoğunlaştırmıştır. Bu faktörlerin genetik olarak eğilimli olan bireylerde hastalığı tetikleyici veya modifiye edici olabileceği düşünülmektedir. Bilinen risk faktörleri arasında erkek cinsiyet, aile hikayesi ve ilerleyen yaş yanında sigara nisbeten daha tartışmalı bir risk faktörüdür [94]. Fiziksel aktivite, kafa travması, meslek, mekanik ve elektriksel hasar, askerlik eğitimi ve toksine maruziyet (özellikle ağır metaller ve pestisitler) ise etkili olduğu düşünülmüş risk faktörleridir [94-102].

MNH’de risk faktörü olarak fiziksel aktivitenin etkisi uzun yıllardır epidemiyolojik çalışmalarla araştırılmaktadır. Bunlar genellikle toplum bazlı, bir kısmı vaka-kontrollü, bazıları da çok merkezli çalışmalardır. MNH ve fiziksel aktivite arasındaki ilişkiyi araştıran yakın zamanlı epidemiyolojik çalışmalar metodolojik olarak öncekilere nazaran daha gelişmiştir. Çalışmalarda hem pozitif [103, 104] hem de negatif [105, 106,107] ilişki bildirilmiştir. Strickland ve ark. [103] vaka kontrollü araştırmalarında bir üniversite kas hastalıkları kliniğinden seçtikleri ALS hastaları ve 2 kontrol grubunda fiziksel aktivite ve travma öyküsünü sorgulamışlar; şiddetli kafa, boyun ve sırt yaralanması ve işte veya iş dışı zamanlardaki terleme ile ALS arasında kuvvetli ilişki saptamışlardır. Negatif ilişki saptanan vaka kontrollü toplum bazlı bir çalışmada ise Longstreth ve ark. [105] fiziksel aktivite öyküsü ve ALS arasındaki ilişkiyi bir nörolog tarafından yeni tanı almış 174 ALS hastası ile cinsiyet ve yaş bakımından eşleşen 348 sağlıklı kontrolde araştırmışlardır. Çalışma sonunda hasta ve kontrol grubu arasında iş ve boş zamanlardaki veya hayat boyu fiziksel aktivitenin belirgin farklılık göstermediği saptanmıştır. Ancak ALS vakalarında

lise yıllarında düzenli spor yapma oranının kontrollere göre biraz daha sık olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak MNH ve fiziksel aktivite ilişkisinin araştırıldığı yakın zamanlı epidemiyolojik çalışmalarda da araştırma dizaynları ile ilgili hatalar yine mevcuttur ve sonuçlar tartışmalı ve net yorum yapabilmek için yetersizdir. Vaka seçimlerinde yanlılık, fiziksel aktivite kantifikasyon metodlarında yetersizlik, eşlik etme ihtimali olan diğer risk faktörlerine göre düzeltme yapılmadan istatistiksel analiz yapılması gibi metodolojik sorunlar yapılan hatalardan bazılarıdır.

Son yıllarda MNH ile spor dallarından özellikle futbol arasındaki muhtemel ilişki birtakım araştırmacıların ilgi odağı olmuştur. İtalyan profesyonel futbol liglerindeki oyuncularda 90' lı yılların sonuna kadarki mortalite nedenlerini sorgulayan araştırmacıların beklenilenin üstünde MNH oranı saptaması dikkatleri bu alana çekmiştir [108]. Belli ve arkadaşlarının yaptığı bu 24 000 oyuncunun araştırıldığı retrospektif mortalite çalışmasında belirgin olarak artmış hastalık insidansının yanında çoğu vakada erken MNH başlangıç yaşı tipik bir bulgu olarak saptanmıştır. Ancak bu MNH ve fiziksel aktivite ilişkisinin araştırıldığı bir çalışma değildir ve de futbolculardaki ilaç alışkanlığı, diyet desteği, yaralanma öyküsü ve fiziksel aktivite miktarı gibi sonuçları etkileyebilecek ölçümler yapılmamıştır ve bu sonuçlara bakılarak neden sonuç ilişkisi hakkında yorum yapılamaz. Yine İtalyan futbolculara ait bir başka mortalite çalışmasında da benzer şekilde MNH insidansında anlamlı artış ve erken başlangıç yaşı saptanmıştır [109]. 7325 profesyonel İtalyan futbolcuyu kapsayan bir retrospektif kohort çalışmasında ise MNH insidansında önemli artış saptanmıştır [7]. Çalışma sonuçlarında 49 yaşının altındakilerde risk artışının belirgin olduğu, 5 yıldan uzun süreli futbolun ve orta sahada oynamanın hastalık riskiyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Yine bulbar başlangıçlı tip daha yüksek oranda saptanmıştır.

Bu konuyla ilgili futbolcu vakaları da mevcuttur. 2006'da 17 yaşında bulbar başlangıç gösteren ALS'li bir İtalyan futbolcu tanımlanmıştır [110]. Bu futbolcunun yine orta saha oyuncusu olduğu ve öyküsünde yoğun fiziksel aktiviteye maruziyet, futbolla ilişkili belirgin travma ve birçok diyet desteği kullanımı belirtilmiştir. Dolayısıyla bu tip risk faktörleri retrospektif veya prospektif çalışmalarda sorgulanmadan MNH ve futbol arasında belirtilen pozitif ilişkiye yönelik spesifik bir neden sonuç ilişkisi bakımından yorum yapmak mümkün değildir.

İtalyan futbolcularının dışında başka ülkelerden de MNH futbol ilişkisini güçlendiren çalışmalar yayınlanmıştır [111,112]. 2007'de 3 İngiliz amatör lig futbolcusunu içeren bir vaka serisi yayınlanmıştır. Bu vakaların aynı çevrede yaşadığı ve eş zamanlı ALS geliştirdiği belirtilmiştir. Yine öykülerinde benzer olarak sigara, elektrik şokuna maruziyet, futbolla ilişkili travma ve yüksek düzeyde egzersiz gibi ALS risk artışı ile ilişkili detaylara rastlanılmıştır. Burada aynı coğrafik bölgeyle ilişkili tanımlanamamış çevresel risk faktörleri de muhtemel etken olabilir. Amerikan milli futbol ligindeki futbolcularda 1960'tan itibaren MNH sıklığının araştırıldığı yakın zamanlı geniş çaplı bir retrospektif çalışmada ise prevalans oranının normal topluma göre belirgin olarak artmış olduğu saptanmıştır [112]. Ancak çalışmada vakaların belirlenmesi ve diğer değişkenlere göre düzeltme ile ilgili eksiklikler gibi metodolojik problemler nedeniyle çalışma bulgularına bakarak kesin yorumlar yapmak hatalı olabilir.

Sonuç olarak MNH ile futbol arasındaki pozitif ilişkiyi destekleyen çalışma sonuçlarına rağmen bu ilişki tartışmalıdır ve önerilen muhtemel mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır. Futbol oynamayla ilişkili çevresel, diyet desteği veya futbolla ilişkili travma gibi birçok potansiyel riske maruziyet söz konusu olduğundan fiziksel aktivitenin tek başına MNH gelişimindeki rolünün aydınlatılması zor gibi görünmektedir ve henüz anlaşılamamıştır.

2.8.4. Motor nöron hastalığında mitokondri ve oksidatif stres

ALS'de öne sürülen patojenik mekanizmaların başlıcaları arasında oksidatif stres, protein hatalı katlanması ve agregasyonu, glutamat aracılı eksitotoksiste, endoplazmik retikulum ve hücre iskeleti değişiklikleri, anormal aksonal taşıma, nöromusküler bileşke anormallikleri, ubiquitin proteazom yolağı disfonksiyonu, immün sistem defekti ve nöroinflamasyon sayılabilir [113].

ALS'de altta yatan patofizyolojik mekanizma tam olarak netleşmemişse de hastalığın ilerlemesinde serbest radikal homeostazının bozulduğuna yönelik kanıt mevcuttur. Familial ALS'li hastaların bir kısmında ve nadir de olsa bazı sporadik vakalarda SOD₁ enziminde mutasyonlar saptanmıştır. Bu enzim normal hücresel şartlarda süperoksit anyonundan H₂O₂ oluşmasını sağlar yani hücrede serbest radikal hasarının önlenmesinde rol alır [114].

Oksidatif stres belirteçleri (protein karbonil düzeyleri, lipid peroksidasyonu ve protein glikosidasyonu gibi) ALS'li hastalarda birçok kez gösterilmiştir. Santral sinir sistemi (SSS)'nin bazı bölgelerinde (motor korteks, parietal korteks, omurilik) hem sporadik hem de familyal tipte oksidatif hasar artmış ROT üretiminin rolünü göstermektedir. Bu gözlemler mutant SOD₁ aşırı ekspresyonlu transgenik fare modelleriyle de desteklenmiştir. Bu farelerde iskelet kasında da oksidatif stres göstergelerine rastlanmıştır [115,116].

ALS'li SOD₁ transgenik fare modellerinde mitokondriyal patoloji erken bir prelinik özelliktir. Ultrastrüktürel çalışmalarda dejenere mitokondriler etkilenen nöronların hem akson hem dendritlerinde, motor nöronların presinaptik uçlarında motor sinir sonlanmalarında saptanmıştır. Mitokondriyal DNA nükleer DNA'ya göre oksidatif hasara daha duyarlıdır çünkü koruyucu histonları yoktur ve tamir mekanizmaları daha zayıftır. Bu da ALS'de serbest radikal homeostazındaki değişiklik nedeniyle mitokondriyal genomda yüksek düzeylerde oksidatif hasar gelişme riskini arttırıyor gibi görünmektedir. SSS'deki nöronlar postmitotiktir ve oksidatif gereksinimleri yüksektir ve bu özellikleri onları mitokondriyal hasara açık hale getiriyor gibi gözükmektedir [114].

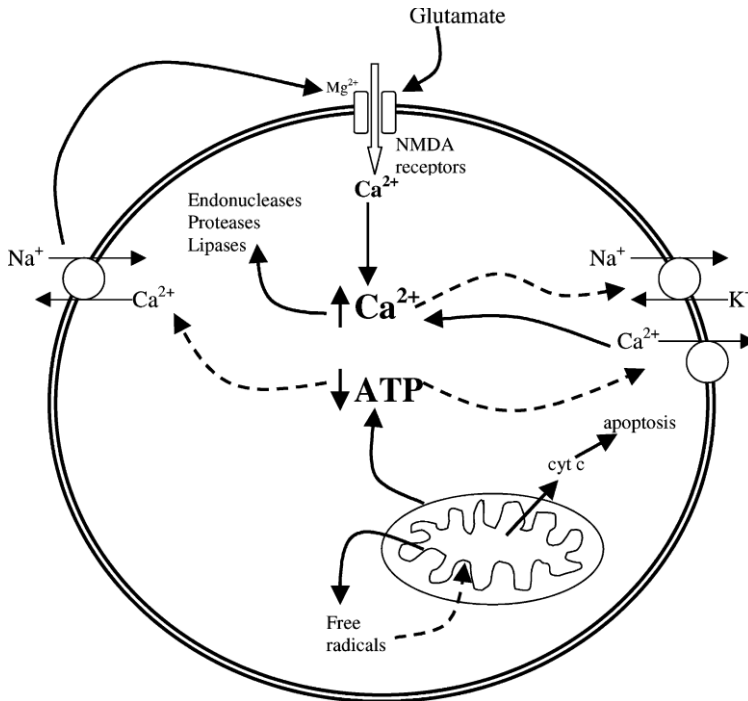
Hastalıkta neden spesifik nöron popülasyonunun seçici olarak etkilendiği ve tam olarak hangi hücre grubunda başlayıp ilerlediği tam olarak netleşmemiştir. ALS'de “dying-forward” hipotezine göre hastalık kortikal motor nöronlarda başlayıp anterograd dejenerasyonla glutamat toksisitesi yoluyla bunların monosinaptik olarak bağlantılı oldukları ön boynuz hücrelerini de etkiler. Yani motor nöron hasarı hastalığın ortaya çıkışını etkileyen temel faktördür ve hasarlı motor nöronla ilişkili nöron olmayan astrosit, mikrogliya, iskelet kası hücreleri, Schwann hücreleri gibi hücreler de hastalığın ilerlemesinde etkilidir. “Dying back” mekanizması da bir başka hipotez olarak öne sürülmüştür. Burda ise ALS kas hücresi veya nöromusküler kavşakta başlamaktadır, normalde postsinaptik hücreler tarafından salınıp retrograd olarak presinaptik aksone ve etki gösterdiği hücre gövdesine kadar taşınan spesifik bir motor nörotrofik hormonda defekt mevcuttur [117,118]. Bunların aksine bazı araştırmacılar üst ve alt motor nöron dejenerasyonunun birbirinden bağımsız olarak oluştuğunu öne sürmüşlerdir.

Mitokondriler ROT ana kaynağıdır ve intrinsik apoptotik yollarda önemli rol oynarlar. Dolayısıyla mitokondriyal disfonksiyon biyoenerjetik yetmezlik, oksidatif stres veya apoptoza yol açarak hücre ölümü ile sonuçlanabilir. Bunun ötesinde mitokondriler birçok

fonksiyonu yerine getirdikleri için özelliklerinde değişiklik olması motor nöron gibi uzun ömürlü postmitotik hücrelerde yaşlanma ve strese intrinsek bir eğilim kazandırabilir [115].

ALS'de mitokondriyal disfonksiyon veya apoptozun etiyolojik faktör olduğuna dair kanıtlar programlı bir hücre ölüm mekanizması yoluyla motor nöronların öldüğünü düşündürmektedir. Hastaların omurilik ve motor kortekslerinde DNA fragmentasyonu ve Bcl-2 ailesinin üyelerine ait subselüler protein dağılımında değişikliklerle birlikte kaspaz-3 aktivasyonu gösterilmiştir [119].

ALS'de motor nöron ölümünün nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Bu hücrelerin dejenerasyona yatkınlığının nedeninin anlaşılması belki de hücre ölüm mekanizmalarının anlaşılmasında önemli bir adım olacaktır. Mitokondriler her hücrede mevcutken nasıl bir bozukluğun seçici motor nöron ölümüne yol açtığı ele alınması gereken bir durumdur. Şekil 2.6'da şematize edilen "enerji bağlantılı eksitotoksik hipotez" ALS'de mitokondriyal tutulum hipoteziyle glutamat toksisitesi ve oksidatif stres hipotezlerini birleştiren teoridir [13].



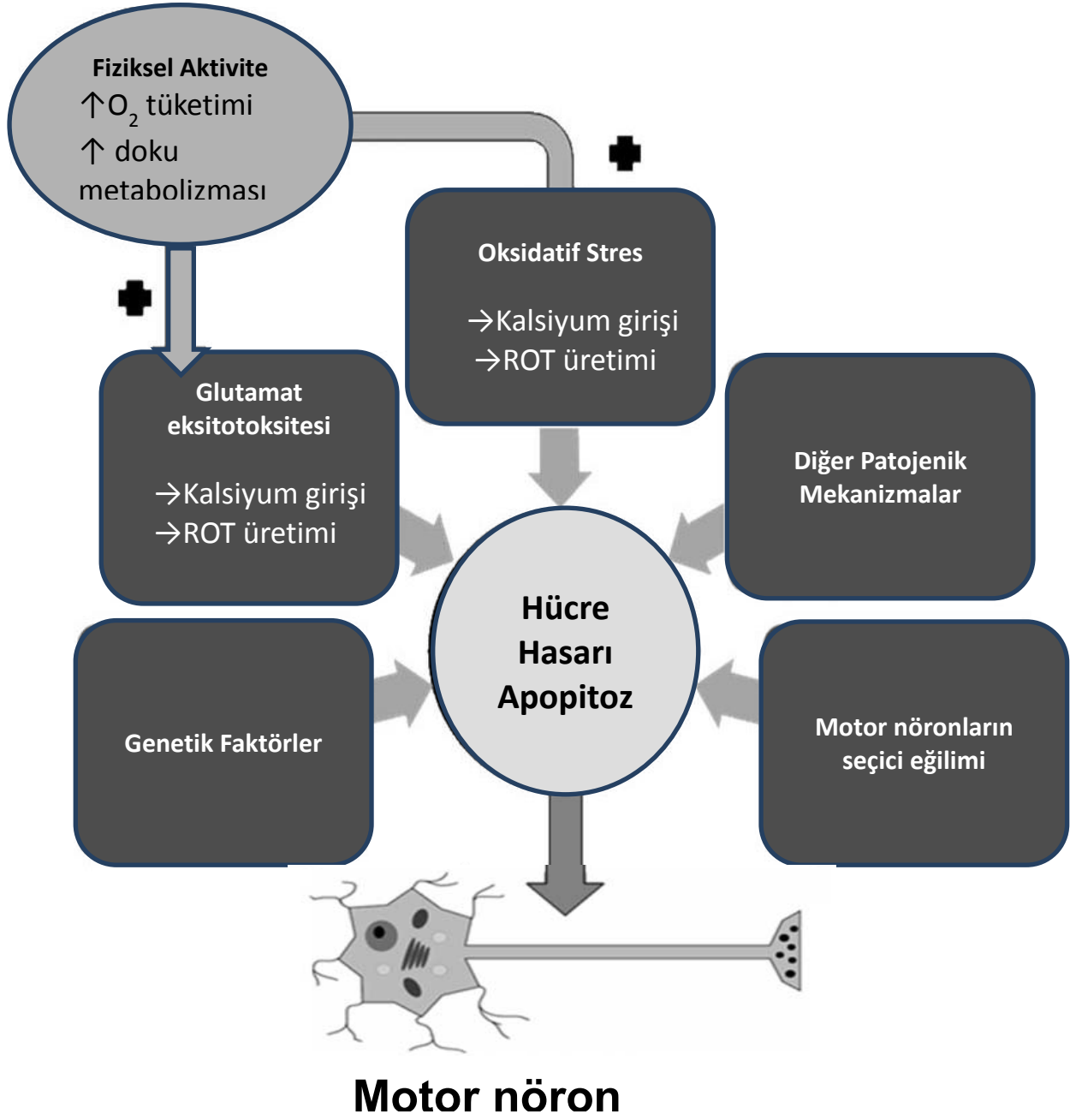
Şekil 2.6. Enerji bağlantılı eksitotoksik hipotez

Kesiksiz oklar nedensel veya aktive edici etkileri temsil etmektedir. Kesikli oklar inhibitör etkileri göstermektedir.

Bu hipoteze göre başlangıçta enerji metabolizmasındaki kayıp nöronların glutamata olan hassasiyetinde artışla sonuçlanabilir. Bu hassasiyet artık normal glutamat düzeylerinin eksitotoksik olacağı bir seviyeye kadar ulaşabilir. Mitokondriyal enerji üretimindeki azalma kalıtsal olabilir veya hücrede artmış serbest radikaller gibi nedenlerle mitokondrilerdeki akkiz hasar sonucu olabilir. Mitokondriyal ATP üretiminde yaşla ilişkili azalmalar bu durumu alevlendirebilir. Hücresel ATP düzeylerindeki azalma öyle bir seviyeye ulaşır ki nöron kendi zar potansiyelini koruyamaz çünkü bunun için gerekli iyon taşıyıcıları ATP bağımlıdır. Bu depolarizasyon hücre yüzeyindeki voltaj bağımlı, magnezyum ile bloke N-metil-d-aspartat (NMDA) reseptörlerinde serbestleşme ile kalsiyum (Ca^{2+}) ve sodyum (Na^+)'un hücre içine akışına neden olabilir. Bu içeri akışın birçok sonucu olacaktır. İyon akışı hücreyi daha fazla depolarize edecektir. Sodyumun hücre içine göçü $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ taşıyıcısının fonksiyonunda bozulma yaratarak hücrenin kalsiyumu uzaklaştırma kabiliyeti azalacaktır. Kalsiyum sadece ATP bağımlı taşıyıcılarla atılabileceği için hücredeki ATP daha da çok kullanılacaktır. Artmış kalsiyum düzeyleri hücresel proteazlar, lipazlar ve endonükleazları aktifleştirebilecektir. Artan kalsiyumun mitokondri tarafından serbest radikal üretimini arttırdığı gösterilmiştir ve bu serbest radikaller mitokondri tarafından daha çok ROT üretimini tetikleyecektir. Bu durum hücrede oksidatif hasara yol açacaktır. Bu hipotezde bahsedilen artmış hücre içi kalsiyum düzeyleri, oksidatif hasar, azalmış mitokondriyal zar potansiyeli gibi bulgular hem ALS'li hastalarda hem de mutant SOD_1 'li transgenik fare modellerinde gösterilmiştir. Mutant SOD_1 'li motor nöronların mutant SOD_1 eksprese etmeyen motor nöronlara göre glutamata daha hassas oldukları saptanmıştır. Bütün bu çalışma sonuçlarından elde edilen veriler enerji bağlantılı eksitotoksik hipotezle uyumludur.

2.8.5. Motor nöron hastalığı ve egzersiz ilişkisine yönelik muhtemel patojenik mekanizmalar

MNH'nin altında yatan patofizyolojik mekanizmalara yönelik yoğun araştırmalar mevcuttur ve bu konuda ilerleme söz konusudur. MNH hastalığının gelişmesini tetiklediği varsayılan mekanizmaların bir kısmının aynı zamanda fiziksel aktivite tarafından da modifiye edildiği bilinmektedir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Motor nöron hastalığında altta yatan patojenik mekanizmalarla ve fiziksel aktivitenin bunlar üzerindeki etkileriyle ilgili hipotezler

Oksidatif stres

Serbest radikal üretimi hücrelerin antioksidan kapasitelerini aştığında oksidatif stres ortaya çıkar ve bu redoks sinyalizasyonunu bozup moleküler hasara yol açar. Oksidatif stres patolojik bir hadisedir ve normal metabolizmayı olumsuz etkiler [120].

Fiziksel aktivite ROT'larda artışı tetikler ancak düzenli yapıldığında antioksidan savunma sistemini de aktifleştirir ve adaptif yanıtlar gelişir. Egzersizin insan dokularında oksidatif hasar yaptığı ilk olarak 30 yıl önce kas ve karaciğer dokularında gösterilmiştir. Yoğun fiziksel aktivite belirgin olarak artmış oksidatif metabolizma ile birliktedir ve antioksidan savunma mekanizmalarıyla karşılanamayan ROT artışı yaratabilir [4,121]

Egzersizle ilişkili artmış serbest radikal üretiminde en çok mitokondri metabolizmasıyla ilgili değişiklikler ve solunum zincirinden olan kaçak üzerinde durulmaktadır [82].

MNH'de de oksidatif hasara ait bulgular hem sporadik hem de familyal tipte SSS'nin farklı seviyelerinde gösterilmiştir. Hastalıkta mitokondriyal enerji dengesiyle ilgili bozukluklar ve oksidatif stresin etkisine yönelik birçok kanıt mevcuttur ve en çok üstünde durulan patogenetik mekanizma gibi görünmektedir [115,116].

Şiddetli fiziksel aktivitede oksidatif strese bağlı doku bazında olumsuz etkiler gelişebilir. Bu olumsuz etkiler özellikle egzersize normal fizyolojik yanıt geliştirememesi konusunda kalıtsal eğilimi olan bireylerde çok daha belirgin olabilir.

Glutamat eksitotoksitesisi

Fizyolojik şartlarda glutamat ana eksitatör nörotransmitter olmasına rağmen yüksek konsantrasyonlarda reseptör aşırı stimülasyonuna, nöral hücrelere anormal kalsiyum iyon akışına ve sonuç olarak nöronal hücre ölümüne yol açar. Bu durum glutamat eksitotoksitesisi olarak bilinmektedir. MNH'de SSS'nin farklı bölgelerinde glutamat düzeyleri, geri alımıyla ve taşınmasıyla ilgili değişiklikler saptanmıştır [13,122].

Bir hipoteze göre şiddetli fiziksel aktivite yapıldığında motor nöronlarda yoğun ateşlenme olmalıdır, bu da aşırı glutamat uyarısına neden olarak meyilli bireylerde toksik sonuçlar doğurabilir. Bunun ötesinde motor nörona zararlı çevresel, diyet veya tıbbi yolla alınan

toksik maddelere maruziyet ve bunlara karşı hassasiyet fiziksel aktivitenin fizyolojik mekanizmaları yoluyla değiştirilebilir [123,124]. Futbolcularda oksidatif stresin yüksek fiziksel aktivite, diyet destekleri, reçeteli veya yasadışı aşırı ilaç kullanımı, egzersize bağlı iskemi ve sporla ilişkili yaralanmaların eşzamanlı etkisi ile oluştuğu düşünülmektedir. MNH ile futbol arasında diğer patojenik mekanizmanın nöroinflamasyon olabileceğini de belirten araştırmacılar mevcuttur.

Muhtemel genetik etkenler

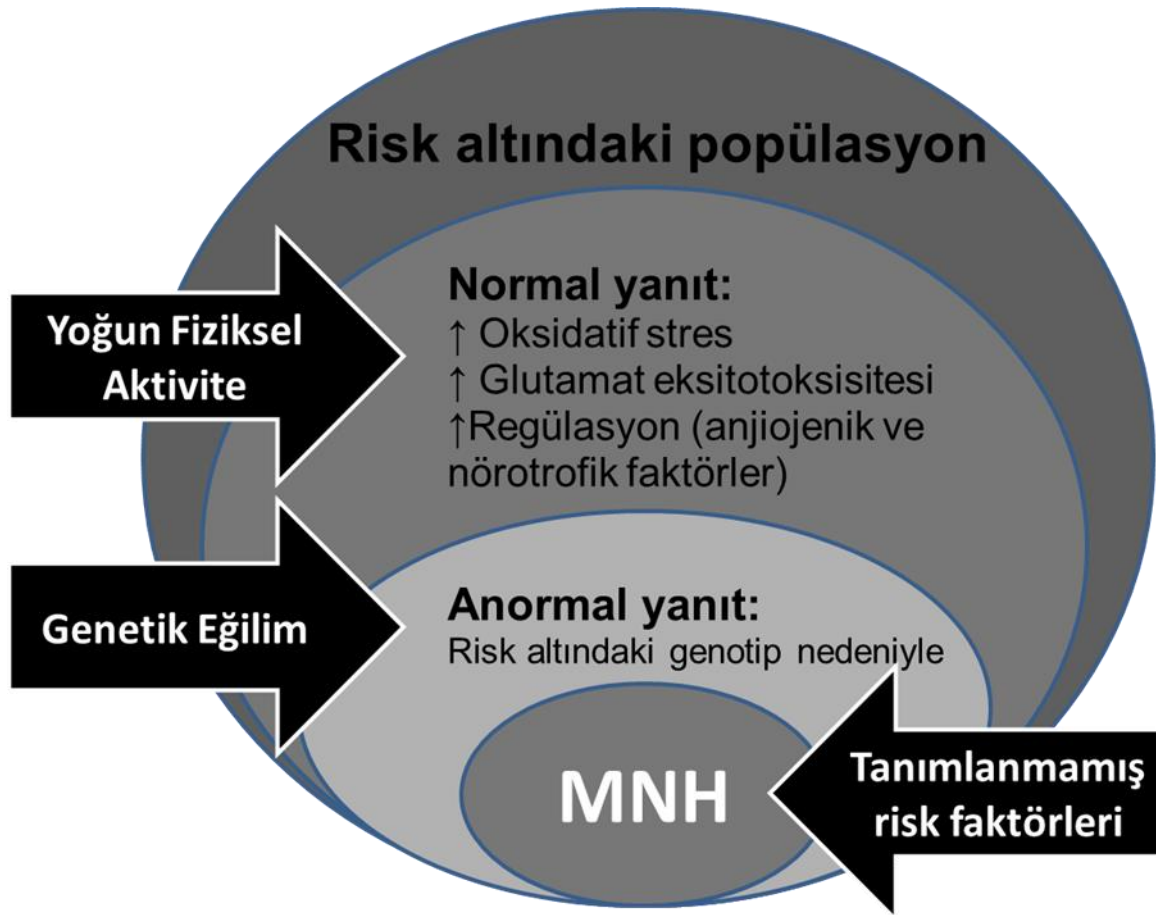
Fiziksel aktiviteye yanıtta fizyolojik gen regülasyonu ve genotipik varyasyonlar sportif yetenek ve fiziksel uygunluğu belirler. Dolayısıyla egzersizin sağlık üzerindeki etkisi bireyler arasında farklılık gösterebilir ki bunda genetik faktörlerin etkisi muhtemeldir [125].

MNH gelişiminde etkili olduğu saptanan birtakım genlerin ekspresyonunun da egzersizle arttığı saptanmıştır. Bu bulgular MNH ve fiziksel aktivite bağlantısında potansiyel bir genetik izah olabilir. En çok anjiojenik ve nörotrofik özellik taşıyan genler üzerinde durulmaktadır [126].

Son yıllarda hipoksinin indüklediği genlerde mutasyonlar saptandığı için MNH patogenezinde hipoperfüzyonun rolü gündeme gelmiştir. Eğer hipoksiye yanıtta sorun varsa diğer motor nöronlardaki yüksek oksijen ihtiyacı diğer dokulardan önce bu hücrelerin dejenere olmasına yol açabilir. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEBF)'nin motor nöron üzerinde nörotrofik etkisi gösterilmiştir. Ayrıca VEBF geni veya protein düzeyleri ile ilgili sorunlar MNH hastalarında saptanmıştır. MNH hastalarında yine bir başka hipoksi cevap geni anjiojeninle ilgili mutasyonlara ve polimorfizmlere rastlanmıştır. İlginç olarak yoğun egzersizin bu iki hipoksi ile ilişkili gen cevabında artışa yol açtığını gösteren araştırmalar mevcuttur. Dolayısıyla bu genlerle ilgili defekti olan bireylerde fiziksel aktiviteye normal fizyolojik yanıt vermede sorun olabileceği ve bunların motor nöron dejenerasyonu geliştirme açısından risk altında olduklarını düşünmek akla yatkındır. Nörotrofik faktörlerden motor nöron üzerindeki koruyucu etkisi hücre kültürü ve hayvan modellerinde gösterilmiş siliyer nörotrofik faktör, glial kökenli nörotrofik faktör, beyin kökenli nörotrofik faktör gibi nörotrofik faktör gen ekspresyonu veya protein

düzeylerinde fiziksel aktivite ve MNH hastalığında değişiklikler çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir [124].

Fiziksel aktivite veya egzersizin MNH’de risk faktörü olduğuna dair son kanıtlar sınırlı ve çelişkilidir, kesin yorumlar yapmak için yeterli değildir. Epidemiyolojik çalışmalara daha çok dayanılması, hastalığın doğası ve relatif olarak düşük prevalansı bu konuyla ilgili başlıca problemlerdir. Ancak fiziksel aktivite ve MNH arasında pozitif ilişkinin gösterildiği birtakım durumlar şüphe uyandırmaktadır ve çürütülememiştir. Şekil 2.8’de de şematize edildiği gibi bu çalışma sonuçları genetik olarak eğilimli olan bireylerde eksojen bir faktöre anormal bir fizyolojik yanıtı yansıtırıyor olabilir [124]. Bu konuyla ilgili özellikle temel bilim alanında ileri çalışmalar gereklidir.



Şekil 2.8. Fiziksel aktivitenin motor nöron hastalığında risk faktörü olma ihtimaliyle ilgili önerilen mekanizmaların özeti

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 22.06.2011 tarih ve G.Ü.ET-11.074 kod numarası ile onay alınmıştır. Grupları oluşturmak amacıyla Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (GÜDAM)'nden temin edilen 30 adet 250-300 gram arası Wistar Albino erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar GÜDAM deney hayvanı yetiştirme laboratuvarlarında normal sıcaklık (22-25 °C), 12 saat aydınlık-12 saat karanlık döngüsü, % 40±5 nem ile normal yem ve su sağlanan ortamda standart kafeslerde barındırılmıştır. Araştırma süresince deneklerin her hafta başında ağırlıkları ölçülmüştür. Her sıçan numaralandırılarak çalışmaya alınmıştır. Araştırma boyunca tüm deneyler sabah 09.00 'da başlatılmıştır.

3.2. Çalışma Grupları

Denekler 3 gruba ayrıldı.

1. Kontrol Grubu (Sedanterler) (n=10)

Herhangi bir egzersiz protokolüne tabi tutulmayan sedanter hayvanlardan oluşturulmuştur.

2. Deney Grupları (n=20) : 13-15 hafta süreyle haftada 5 gün koşu egzersizine tabi tutulan hayvanlardan oluşturulmuştur.

a. Yüksek şiddetli-aralıklı kronik koşu egzersizi yaptırılan grup (n=10)

b. Ilımlı şiddette-devamlı kronik koşu egzersizi yaptırılan grup (n=10)

3.3. Egzersiz Protokolü

GÜDAM laboratuvarında bulunan 2 adet motorize yürüme bandından (treadmill) faydalanılmıştır.

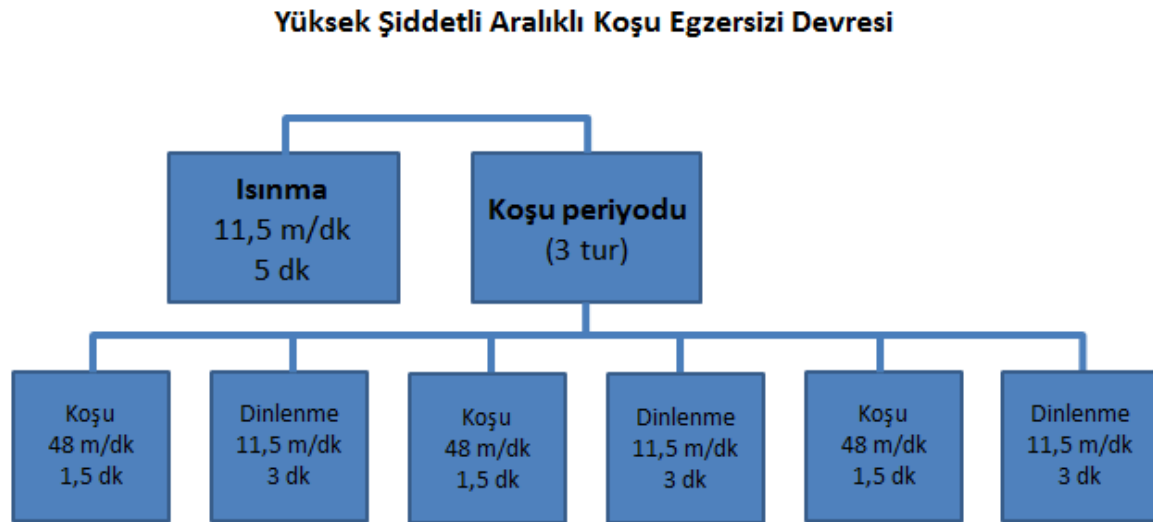
3.3.1. Yürüme bandına uyum uygulaması

Kronik koşu egzersizi yaptırılacak gruplar 1 haftalık laboratuvar adaptasyonundan sonra, 5 gün boyunca 10 dk süreyle 10m/dk hızda ve 0° eğimde koşturularak, koşu bandına adapte olmaları sağlanmıştır.

3.3.2. Yüksek şiddetli-aralıklı kronik koşu egzersiz uygulaması

Bu gruptaki 10 sıçana her gün aynı saatlerde aynı sıçan yürüme bandının 4 kanalında 13-15 hafta süreyle 0° eğimde koşu yaptırılmıştır. Koşu programının ilk 5 dakikası ısınma niteliğinde olup denekler 11,5 m/dk hızda koşturulmuştur. Bir maksimal ve bir minimal şiddetteki koşu bir tur olarak kabul edilmiştir. Isınma koşusu sonrasında 1,5 dakikalık yüksek hızda (48 m/dk) koşu yaptırılmıştır. Ancak minimal hızdan maksimal hıza, maksimal hızdan da minimal hıza geçiş 0,5 er dakika olacak şekilde geçiş süresi toplam 1 dk tutulmuştur. 11,5 m/dk lık düşük hızda ise sıçanlar 3 dk (maksimal hızdaki koşu süresinin 2 katı) koşturulmuştur (Şekil 3.1).

Koşu programının ilk 2 haftasında deneklere hazırlık koşusu sonrası daha düşük maksimal ve minimal hızlarda tek tur koşu yaptırılmıştır. 2 hafta boyunca kademeli olarak hızlar arttırılmış ve 11,5-48 m/dk minimal ve maksimal hızlara ulaşılmıştır. Bu programın % 100'ün üstünde VO_{2maks} 'a tekabül ettiği belirtilmiştir [127]. İkinci haftadan itibaren ise 2-3 haftada bir tur sayısı kademeli olarak arttırılmıştır. Son haftalar 6 tura çıkmıştır. Her bir koşu egzersizinin son turunda 11,5 m/dk hızda 5 dakikalık soğuma periyodu uygulanmıştır.



Şekil 3.1. Uygulanan yüksek şiddetli-aralıklı koşu egzersizi modeli

3.3.3. İlmli şiddette-devamlı kronik koşu egzersizi uygulaması

Bu gruptaki 10 sıçana her gün aynı saatlerde aynı sıçan yürüme bandının 4 kanalında 13-15 hafta süreyle 0° eğimde koşu yaptırılmıştır. Diğer koşu grubu ile süre değişkeni aynı tutulmuştur. Koşu hızı ise ilk gün 10 m/dk son haftalarda ise 22 m/dk olacak şekilde kademeli olarak arttırılmıştır. Her bir koşu egzersizi uygulamasında maksimum hıza kademeli olarak çıkılmış (hazırlık) ve denekler belli bir süre bu hızda koşturulduktan sonra hız kademeli olarak düşürülmüştür (toparlanma).

Denekleri koşturmayla motive etmek amacıyla ara ara elektrik şok yöntemi kullanılmıştır. Deney grupları son koşu egzersizi bitiminden 48 saat sonra feda edilmişlerdir.

3.4. Cerrahi İşlem

Kontrol grubuna ve kronik koşu egzersizi yaptırılan gruplara, intraperitoneal 45mg/kg Ketamin HCl (Alfamine 100 mg/ml, Ege Vet Hayvancılık San. ve Tic. Ltd. Şti. Bornova, İzmir, Türkiye) ve 5 mg/kg Ksilazin HCL (Alfazyne, 20 mg/ml, Ege Vet Hayvancılık San. ve Tic. Ltd. Şti. Bornova, İzmir, Türkiye) verilerek anestezi sağlanmıştır. Her bir denekten intrakardiyak yaklaşık 10 cc kan alınarak ötenazi yapılmıştır. Arkasından hızlı bir şekilde her bir deneğin motor korteksi, servikal ve lomber omurilik dokuları hassas şekilde izole edilip serum izotonik ile yıkanarak ileri histolojik incelemeler için uygun solüsyonlarda

paketlenmiştir. Omurilikte servikal ve lomber genişlemeler seviyesinde omurilik dokuları izole edilmiştir [128].

3.5. Analiz Yöntemleri

Kronik YŞAE sonrası motor korteks ve omurilik ön boynuz alanlarındaki motor nöronlarda hücre aerobik enerji metabolizmasında bozulmayla ilişkili mitokondri yapısal proteinleri Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivitesinin belirlenmesi, motor nöronların yapısal, ultrastrüktürel incelemesini yapmak üzere dokular, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarlarında immünohistokimyasal inceleme ve elektron mikroskopik değerlendirme ile incelenmiştir.

3.5.1. İmmünohistokimyasal yöntem

%10' luk nötral formaline alınarak 72 saat süreyle tespit edilen motor korteks, servikal ve lomber omurilik dokuları, alışılmış histolojik ışık mikroskop takip yönteminden geçirilerek parafin bloklar elde edilmiştir. Tüm gruplar için hazırlanan bloklardan mikrotomla (Leica SM 2000, Germany) polizinli lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alınarak deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemleri uygulanmıştır. İmmünohistokimyasal incelemeler için Bcl-2 (Code: sc-7382, Lot: A2413, SantaCruz, Dallas, USA) ile sitokrom c (Code: sc-13156, Lot: K0812, SantaCruz, Dallas, USA), primer antikorları için Histostain Plus Broad Spectrum (HRP) Kit (Ref: 859043, Lot: 1153386A, Invitrogen, Frederick, USA) sekonder kiti kullanılmıştır.

Her iki antikor için kesitlere %3' lük hazırlanan hidrojen peroksit uygulanmış ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edilmiştir. Daha sonra, camlar 3 kez 3'er dakika Phosphate Buffered Saline (PBS, pH=7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 10 dakika Ultra V Block (Ref:859043, Lot: 1153386A, Invitrogen, Frederick, USA) uygulanmıştır. Bloklama aşamasının ardından kesitler Bcl-2 ve sitokrom c primer antikorlarında bir gece buzdolabında bekletilmiştir. Bu aşamada negatif kontroller için primer antikor uygulanmamıştır. Camlar süreler sonunda 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan 10 dakika sonra biyotinli sekonder antikor (Ref:859043, Lot: 1153386A,,Invitrogen, Frederick, USA) uygulanmıştır. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra

dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Ref:859043, Lot: 1153386A, Invitrogen, Frederick, USA) etkin bırakılmıştır.

Camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olarak DAB (3,3'iaminobenzidine Tatrahydrochloride, Ref: 00-20, Lot: 1228699A, Invitrogen, Frederick, USA) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlanmıştır. Zemin boyamasında Hematoksilen (Cat:008011, Lot: 73232285B, Invitrogen, Frederick, USA) kullanılmıştır. Tüm preparatlar Leica DM 4000 (Leica, Weetlar, Germany) mikroskobunda kamera ataçmanlı (DFC280 Plus Camera, Leica, Weetlar, Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında fotoğraflanarak kalitatif olarak değerlendirilmiştir.

3.5.2. İmmünohistokimyasal skorlama yöntemi

Her bir antikor için, tüm gruplara ait immünreaktivite skor çizelgeleri motor kortekste ve omurilik ön boynuz kesitlerinde lomber ve servikal olmak üzere farklı bölgeler için hazırlanmıştır. Her bir grupta her bir denek için 1 merkez 5 perifer toplam 6 alanda, X400 büyütmede immünreaktivite yoğunlukları 0: tutulum yok, 1: zayıf immünreaktivite, 2: zayıftan ortaya değişen immünreaktivite, 3: orta düzeyde immünreaktivite, 4: ortadan kuvvetliye değişen immünreaktivite, 5: kuvvetli immünreaktivite olarak belirlenmiştir. Her grup için incelenen 3 farklı dokuda ortalama değerlere ulaşılmıştır.

3.5.3. Elektron mikroskobik yöntem

Alınan doku örnekleri transmission elektron mikroskobu (TEM) ile incelemenin yapılabilmesi amacıyla, fosfat tamponlu %2,5' luk gluteraldehit solüsyonuna (Code: R1010, Lot: 110205-79910 Agar Scientific, United Kingdom) alınarak tespit edilmiştir. Sonrasında %1' lik osmiyum tetroksite (OsO₄, 0.1g, Code: R1015, Lot: 123705, Agar Scientific, United Kingdom) 1 saat etkin bırakılan dokuların ikinci tespitleri ve boyanmaları sağlandıktan sonra alkol serilerinden geçirilmiştir. 30 dakika propilen oksitte (Code: R1080, Lot: 081903, AgarScientific, United Kingdom) bekletilen dokular, propilen oksit ve gömme materyali (Code: R1042, Lot: 65900, Agar Scientific, United Kingdom) içinde 30 dakika daha bekletilerek gömme materyalinin doku içine geçişi sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra gömme materyali içine alınan dokular 2 saat rotatorda oda ısısında, 2 saat

ise 40 °C’de etüvde bekletilmiştir. Son olarak dokular aynı karışım ile yatay gömme bloğuna gömülmüştür. Hazırlanan bloklardan ultramikrotom (EM UC7, Leica, Germany) ile 1µ’ luk kesitler alınarak toluidin mavisi (Code: T3260, Lot: 97H3617, Sigma, USA) ile boyanmıştır. Bilgisayar donanımlı foto-ışık mikroskobu (DCM 4000, Leica, Germany) ile incelenen kalın kesitlerden belirlenen bölgeler işaretlenerek formvar kaplı bakır gridler üzerine 0,2–0,5µ’ luk ince kesitleri alınmıştır. Alınan kesitler kontrast sağlamak amacıyla, uranil asetat (Code: U997, TAAB Laboratories, England) ve kurşun sitrat (Code: AGR1210, AgarScientific, United Kingdom) ile boyanarak Carl Zeiss EVO LS10 TEM-SEM elektron mikroskobunun TEM bölümünde incelenerek fotoğraflandırılmış ve kalitatif olarak değerlendirilmiştir.

3.5.4. Sinir doku dejenerasyon belirleme yöntemi

Hem motor korteks hem de omurilik ön boynuz dokularında her grup için dejenerasyon skor çizelgesi oluşturulmuştur. Bu çizelge oluşturulurken nöronlarda şişme, Nissl cisimcik kaybı, çekirdekcik kaybı, damarlardaki ödem, mitokondriyal kristolizis ve lenfosit infiltrasyonu değerlendirilerek skorlandırılmıştır. 1: normal, 2: hafif dejenerasyon, 3: orta dejenerasyon, 4: ortadan kuvvetliye değişen dejenerasyon, 5: kuvvetli dejenerasyon olarak kabul edilmiştir.

3.5.5. Nöron canlılık belirleme yöntemi

Canlı görünümdeki nöronların varlığı ise nöron gövdelerinde Nissl cisimciklerinin bulunması, ökromatik çekirdekleri ve belirgin çekirdekçiklerinin izlenmesiyle tespit edilmiştir. Bulgular her bölge için elektron mikroskopta değerlendirilmiştir [129].

3.5.6. Nöron canlılık indeksi hesaplama yöntemi

Nöron canlılık indeksi ise, ışık mikroskopta X400 büyütmede her gruptaki her bir deneğin omurilik için ön boynuzunda, beyin dokuları için ise motor kortekste canlı görünümdeki nöron sayısının toplam nöron sayısına bölünmesiyle bulunmuştur.

3.6. İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve tabloların oluşturulması amacıyla bilgisayarda “SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 15” kullanılmıştır. Verilerin sunumu için ortalama ve standart sapma değerler kullanılmıştır. Ele alınan her bir özelliğe (değişken) göre YŞAE, İŞDE ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı Kruskal Wallis H testi ile araştırılmıştır. Yapılan Kruskal-Wallis H testinin anlamlı bulunması durumunda farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Bütün istatistiksel analizlerde önemlilik seviyesi olarak $p < 0,05$ değeri kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya 30 denekle başlanmıştır. YŞAE grubundaki deneklerden birisi kronik koşu sürecinin son haftası kilo kaybı göstermiş ve randımanında hafif bir düşme gözlenmiştir. Aynı denekte sakrifikasyon işlemi sırasında akciğer kitlesi saptanması üzerine çalışma dışı bırakılmıştır.

4.1. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.1.1. Motor korteks bulguları

Motor kortekste motor nöronlarda ve gliyalarda Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivitesi ile ilişkili her 3 gruba ait immünohistokimyasal skorlar Çizelge 4.1’de verilmiştir. Buna göre her bir grupta her bir denek için 1 merkez 5 perifer toplam 6 alanda, X400 büyütmede immünreaktivite yoğunlukları yansıtılmıştır.

Çizelge 4.1. Motor korteks kesitlerinde gruplara göre Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivite skorları

Grup	Bcl-2		sitokrom c	
	MN	GH	MN	GH
K	4,3,4,4,4,4	3,3,3,3,3,3	2,1,2,2,2,2	1,0,1,0,1,1
İŞDE	4,3,4,3,4,4	2,1,2,1,2,2	2,2,2,1,1,2	1,0,0,1,1,1
YŞAE	2,1,2,2,2,1	2,1,1,2,2,2	2,2,1,1,2,2	1,1,1,1,0,0

0: tutulum yok, 1: zayıf immünreaktivite, 2: zayıftan ortaya değişen immünreaktivite, 3: orta düzeyde immünreaktivite, 4: ortadan kuvvetliye değişen immünreaktivite, 5: kuvvetli immünreaktivite olarak belirlenmiştir. K: Kontrol, MN: Motor nöron, GH: Glia hücresi

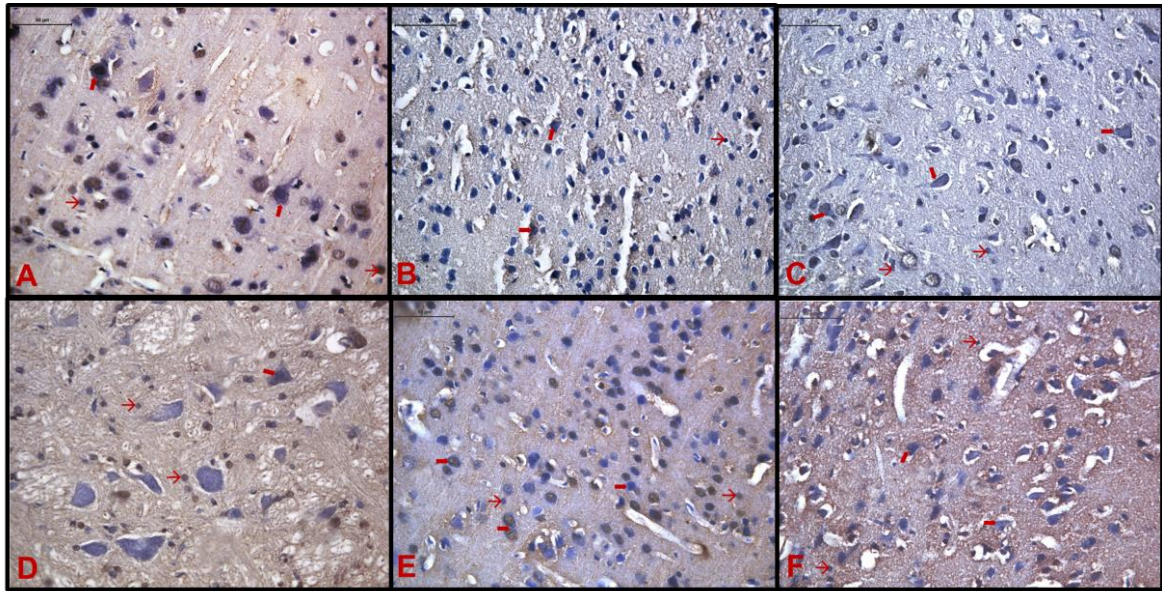
İmmünohistokimyasal skorların gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırması sonrası Bcl-2 immünreaktivitesinin motor nöronlarda YŞAE grubunda diğer gruplara göre önemli oranda azaldığı ($p<0,05$), glia hücrelerinde ise egzersiz gruplarında kontrol grubuna göre immünreaktivitenin anlamlı olarak zayıfladığı saptanmıştır ($p<0,05$).

Çizelge 4.2. Motor kortekste Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivite skorlarının gruplar arasında karşılaştırılması

	YŞAE (n=6)	İŞDE (n=6)	K (n=6)	p
MN Bcl-2	1,67 ± 0,52 ^a	3,67 ± 0,52 ^b	3,83 ± 0,41 ^b	0,001
GH Bcl-2	1,67 ± 0,52 ^a	1,67 ± 0,52 ^a	3,00 ± 0,00 ^b	0,001
MN sitokrom c	1,67 ± 0,52	1,67 ± 0,52	1,83 ± 0,41	0,770
GH sitokrom c	0,67 ± 0,52	0,67 ± 0,52	0,67 ± 0,52	1,000

K: Kontrol, MN: Motor nöron, GH: Glia hücresi. Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur.

Motor korteks dokusunda Bcl-2 immün boyamalarıyla yapılan kalitatif değerlendirmede ise doku genelinde, kontrol ve İŞDE gruplarında immünreaktivite yoğunluğu açısından belirgin bir fark gözlenmedi. Tutulumun tüm gruplarda motor nöronlar genelinde yaygın, orta dereceli ve benzer olduğu saptanmakla birlikte YŞAE grubunda yer yer bazı bölgelerde immünreaktivitenin azaldığı dikkat çekti (Resim 4.1.A, 4.1.B, 4.1.C).



Resim 4.1. Motor kortekse ait örneklerde Bcl-2 ve sitokrom c bulguları

Kontrol (A), İŞDE (B) ve YŞAE (C) gruplarına ait kesitlerde Bcl-2 ve kontrol (D), İŞDE (E) ve YŞAE (F) gruplarına ait kesitlerde ise sitokrom c immünohistokimyasal boyamalarında motor nöron (➔) ve gliya hücreleri (➔) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen A,B,C,D,E,FX400).

Motor korteks dokusunda sitokrom c immün boyamalarıyla yapılan kalitatif değerlendirmelerde sitokrom c immünreaktivitesinin, Bcl-2 ile zıt olarak kontrol ve IŞDE gruplarında zayıf olduğu ayırt edildi. YŞAE grubunda ise yer yer zayıftan ortaya değişen tutulum ilgiyi çekti (Resim 4.1.D, 4.1.E, 4.1.F).

4.1.2. Omurilik ön boynuz bulguları

Servikal ve lomber omurilik ön boynuz motor nöronlarında ve glia hücrelerinde Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivitesi ile ilişkili her 3 gruba ait immünohistokimyasal skorlar Çizelge 4.3'te verilmiştir. Buna göre her bir grupta her bir denek için 1 merkez 5 perifer toplam 6 alanda, X400 büyütmede immünreaktivite yoğunlukları yansıtılmıştır.

Çizelge 4.3. Omurilik ön boynuz kesitlerinde lomber ve servikal seviyelerde gruplara göre Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivite skorları

Grup	Servikal				Lomber			
	Bcl-2		sitokrom c		Bcl-2		sitokrom c	
	MN	GH	MN	GH	MN	GH	MN	GH
K	5,5,5,5,5,4	5,5,5,5,5,5	2,2,2,1,1,1	2,2,2,1,2,2	5,5,5,5,4,5	5,5,5,5,4,5	1,1,1,10,1	1,1,1,1,0,1
IŞDE	3,3,3,2,3,2	3,3,3,3,3,3	3,3,3,3,2,3	3,2,3,3,2,3	3,3,3,3,2,3	3,2,3,3,3,3	2,2,2,2,1,2	2,1,2,2,2,2
YŞAE	2,2,2,1,1,2	2,1,1,2,2,2	4,4,4,3,3,4	5,5,5,5,5,4	3,3,3,3,3,3	3,3,3,3,3,3	2,1,2,2,2,2	2,2,2,1,2,2

0: tutulum yok, 1: zayıf immünreaktivite, 2: zayıftan ortaya değişen immünreaktivite, 3: orta düzeyde immünreaktivite, 4: ortadan kuvvetliye değişen immünreaktivite, 5: kuvvetli immünreaktivite olarak belirlenmiştir. K: Kontrol, MN: Motor nöron, GH: Glia hücresi

Bcl-2 immünohistokimyasal tutulumu bakımından servikal omurilik düzeyinde hem motor nöronlarda hem de glia hücrelerinde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). YŞAE grubunda Bcl-2 immünreaktivitesi en düşük düzeyde iken, kontrol grubunda bu değer en yüksek düzeydedir (Çizelge 4.4). Sitokrom c immünohistokimyasal tutulumları ise Bcl-2 nin tersine her iki hücre tipinde de YŞAE grubunda en yüksek değerlerde iken sırasıyla IŞDE ve kontrol gruplarında anlamlı derecede azalmaktaydı ($p<0,05$).

Çizelge 4.4. Servikal omurilik ön boynuz bölgesinde Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivite skorlarının gruplar arasında karşılaştırılması

	YŞAE (n=6)	İŞDE (n=6)	K (n=6)	p
MN Bcl-2	1,67 ± 0,52 ^a	2,67 ± 0,52 ^b	4,83 ± 0,41 ^c	0,001
GH Bcl-2	1,67 ± 0,52 ^a	3,00 ± 0,00 ^b	5,00 ± 0,00 ^c	< 0,001
MN sitokrom c	3,67 ± 0,52 ^a	2,83 ± 0,41 ^b	1,50 ± 0,55 ^c	0,001
GH sitokrom c	4,83 ± 0,41 ^a	2,67 ± 0,52 ^b	1,67 ± 0,52 ^c	0,001

K: Kontrol, MN: Motor nöron, GH: Glia hücresi. Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur.

Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi lomber omurilik düzeyinde Bcl-2 tutulum düzeyleri hem motor nöron hem de glial hücrelerde kontrol grubuna göre her iki egzersiz grubunda anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$) ancak iki egzersiz grubu arasında fark saptanmamıştır. Sitokrom c tutulumları ise tüm hücrelerde iki egzersiz grubunda benzer olup kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p<0,05$).

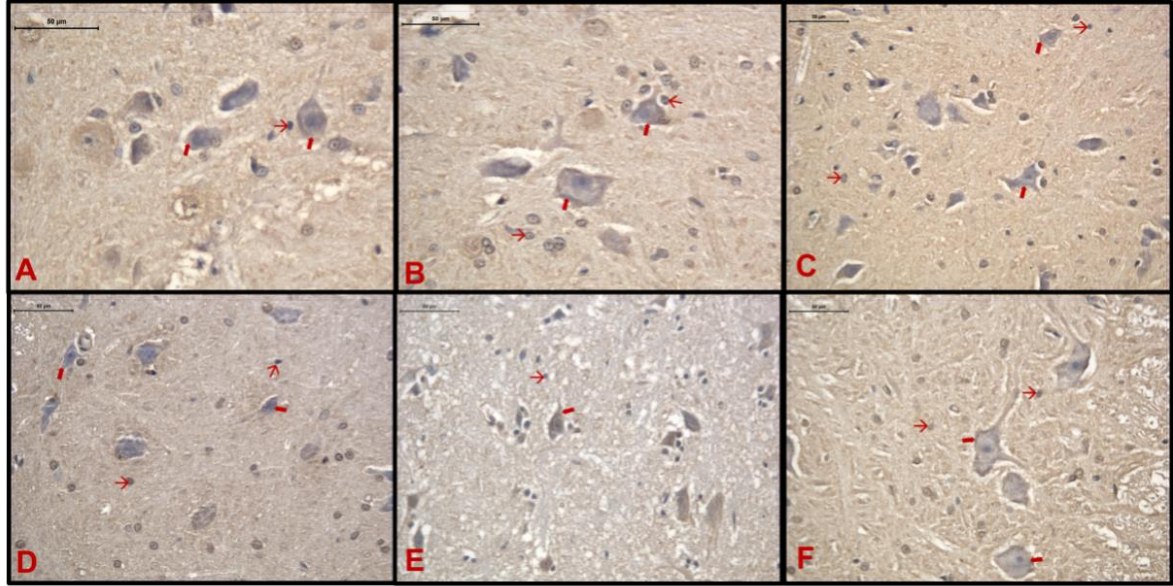
Çizelge 4.5. Lomber omurilik ön boynuz bölgesinde Bcl-2 ve sitokrom c immünreaktivite skorlarının gruplar arasında karşılaştırılması

	YŞAE (n=6)	İŞDE (n=6)	K (n=6)	p
MN Bcl-2	3,00 ± 0,00 ^a	2,83 ± 0,41 ^a	4,83 ± 0,41 ^b	<0,001
GH Bcl-2	3,00 ± 0,00 ^a	2,83 ± 0,41 ^a	4,83 ± 0,41 ^b	<0,001
MN sitokrom c	1,83 ± 0,41 ^a	1,83 ± 0,41 ^a	0,83 ± 0,41 ^b	0,004
GH sitokrom c	1,83 ± 0,41 ^a	1,83 ± 0,41 ^a	0,83 ± 0,41 ^b	0,004

K: Kontrol, MN: Motor nöron, GH: Glia hücresi. Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur.

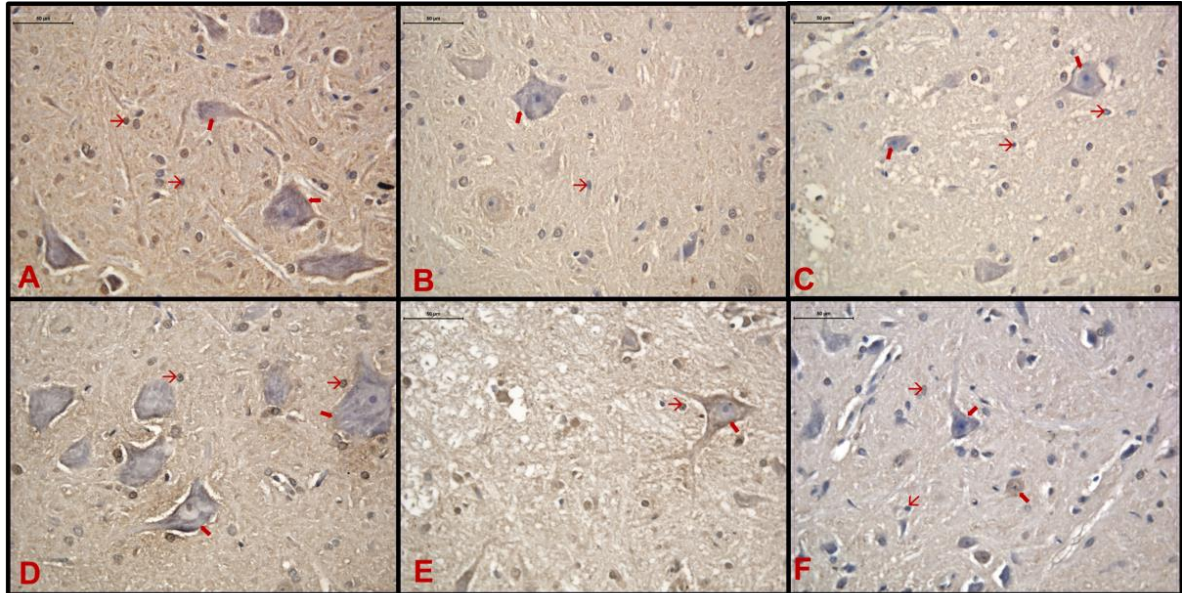
Omurilikte, hem servikal hem de lomber bölgeden alınan doku örneklerinde yapılan Bcl-2 ve sitokrom c immün boyamalarında kalitatif değerlendirilmedi; ön boynuz motor nöronlarında ve glial hücrelerde tutulumun birbirine benzediği görüldü. Yapılan değerlendirmelerde Bcl-2 ve sitokrom c immün boyamalarının motor nöron ve glia

hücrelerinde beyin dokularındaki boyamalarla eşdeğer olduğu ayırt edildi (Resim 4.2.A, 4.2.B, 4.2.C, 4.2.D, 4.2.E, 4.2.F, 4.3.A, 4.3.B, 4.3.C, 4.3.D, 4.3.E, 4.3.F).



Resim 4.2. Omurilik ön boynuzuna ait örneklerde servikal bölgede Bcl-2 ve sitokrom c bulguları

Kontrol (A), IŞDE (B) ve YŞAE (C) gruplarına ait kesitlerde Bcl-2 ve kontrol (D), IŞDE (E) ve YŞAE (F) gruplarına ait kesitlerde ise sitokrom c immünohistokimyasal boyamalarında motor nöron (➡) ve gliya hücreleri (➔) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen A,B,C,D,E,FX400).



Resim 4.3. Omurilik ön boynuzuna ait örneklerde lomber bölgede Bcl-2 ve sitokrom c bulguları

Kontrol (A), IŞDE (B) ve YŞAE (C) gruplarına ait kesitlerde Bcl-2 ve kontrol (D), IŞDE (E) ve YŞAE (F) gruplarına ait kesitlerde ise sitokrom c immünohistokimyasal boyamalarında motor nöron (➡) ve gliya hücreleri (➔) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen A,B,C,D,E,FX400).

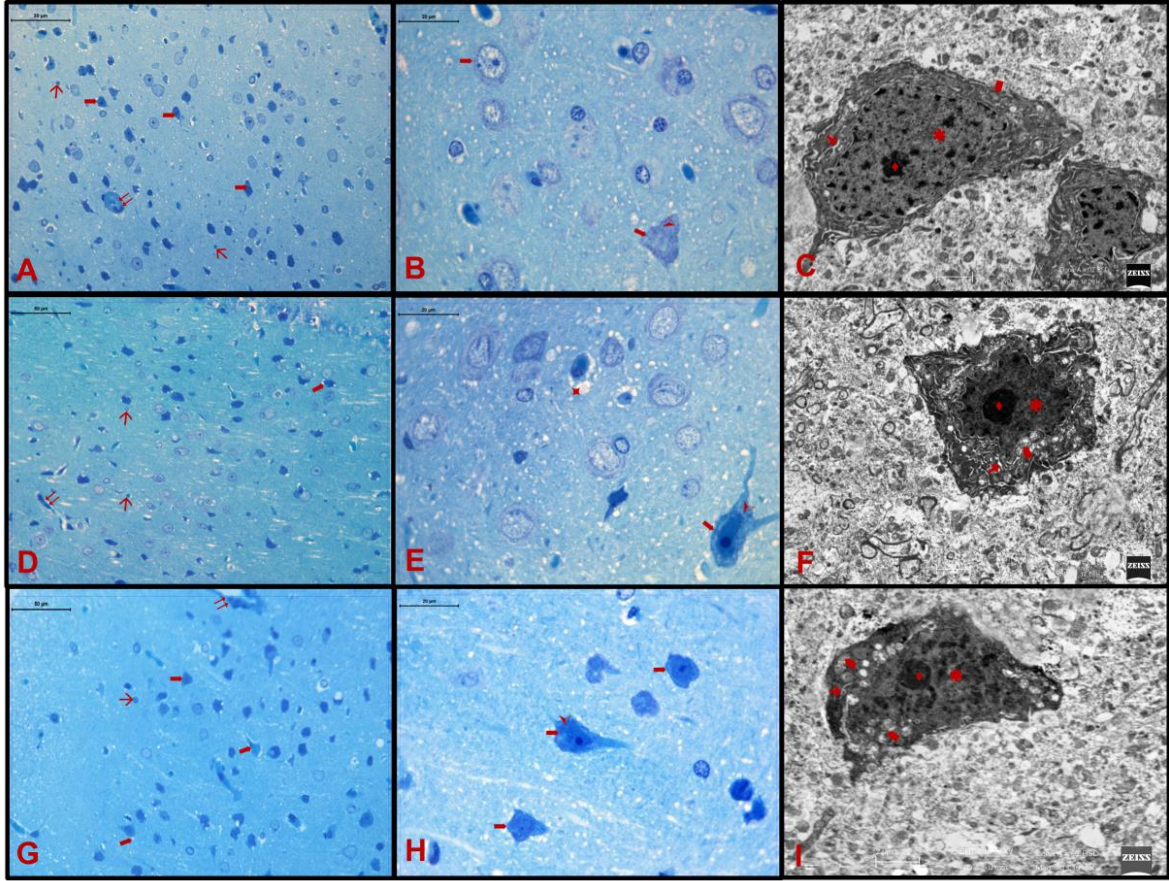
4.2. Elektron Mikroskopik Bulgular

4.2.1. Motor korteks bulguları

Motor korteks dokusunda kontrol grubunda yarı ince kesitlerde yapılan incelemelerde motor nöronlar ökromatik çekirdek ve belirgin çekirdekçikleriyle normal yapılarında izlendi. Nissl cisimcikleri belirgin canlı görünümlü nöronlara ek ödemsiz sağlıklı damar yapıları ayırt edildi (Resim 4.4.A, 4.4.B). İnce yapı düzeyinde yapılan değerlendirmelerde ise, ökromatik çekirdek ve belirgin çekirdekçiğe sahip nöronlar görüldü. Hücrelerin protein sentezi yapan aktif granüllü endoplazmik retikulum (GER) sisternaları ve Nissl cisimcikleri belirgindi. Bu grupta sağlıklı mitokondri yapılarına sahip canlı görünümlü olarak ifadelendirilen nöronlar ilgiyi çekti (Resim 4.4.C).

IŞDE grubunda yarı ince ve ince kesitlerde yapılan incelemelerde motor nöron ve damar yapılarının kontrol grubuna benzer olduğu görüldü (Resim 4.4.D, 4.4.E). Nöronlar kontrol grubuna benzer olarak belirgin çekirdekçik, aktif GER sisternaları, Nissl cisimcikleri ve sağlıklı mitokondri yapıları ile canlı görünümlü nöronlar olarak sınıflandırabileceğimiz nöronların histolojik yapı özelliklerini sergiliyordu (Resim 4.4.F).

YŞAE grubunda yarı ince kesitlerde motor nöronlarda belirgin çekirdekçik yapıları ayırt edildi. Ancak yer yer bazı nöronlarda Nissl cisimcik kaybı belirlendi. Bu grupta kontrol ve IŞDE grubundan ayrıcalıklı olarak yer yer bazı damar duvarlarında da ödem izlendi (Resim 4.4.G, 4.4.H). İnce kesitlerde ise bazı nöronlarda heterokromatik görünümün arttığı belirlendi. Nöron sitoplazmalarının elektron yoğun görünümü nedeniyle Nissl cisimciklerinin ayırt edilemediği ve bazı mitokondri yapılarında yer yer kristolizis olduğu belirlendi (Resim 4.4.I).

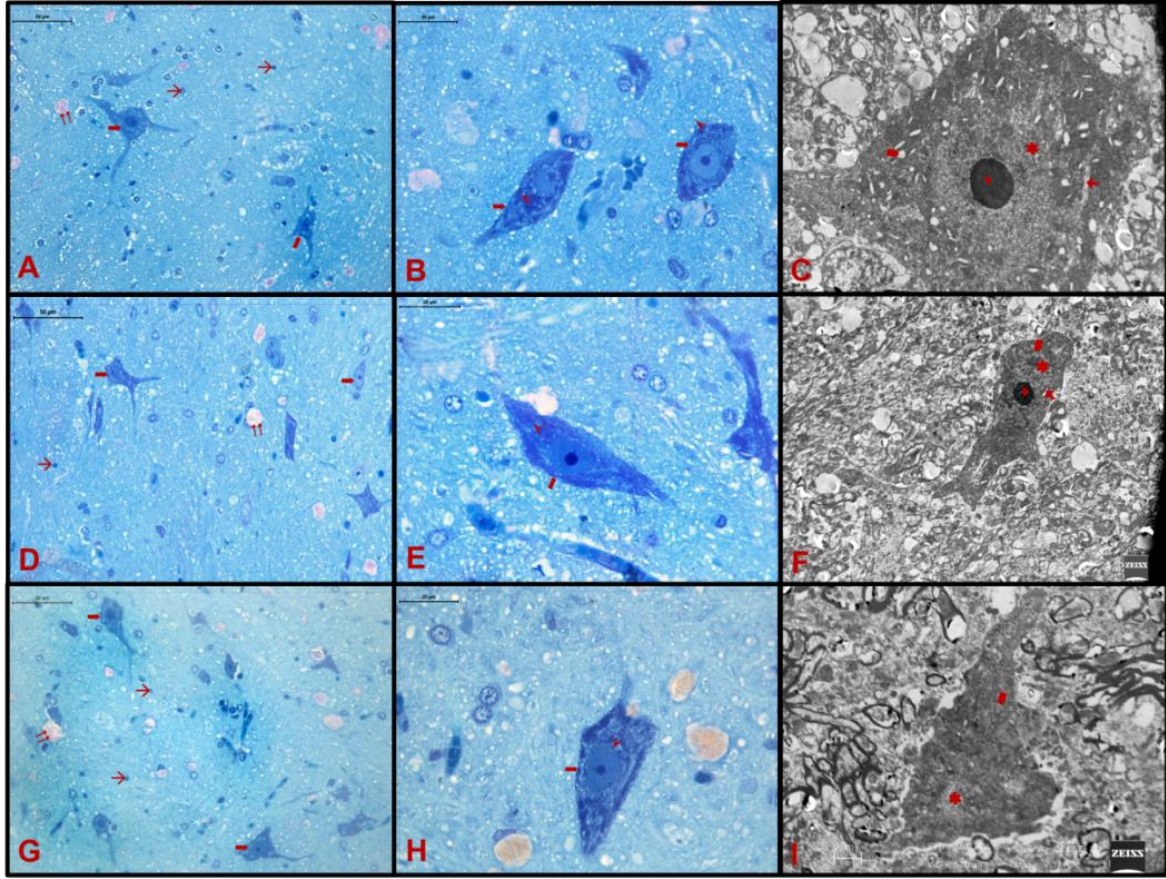


Resim 4.4. Motor kortekse ait örneklerde elektron mikroskopik inceleme

Kontrol (A,B,C), IŞDE (D,E,F) ve YŞAE (G,H,I) gruplarına ait yarı ince ve ince kesitlerde nöron (➡), gliya hücresi (➡), damar (➡), Nissl cisimciği (➡), damarda ödem (◆), çekirdek (✱), çekirdekçik (◆), granüllü endoplazmikretikulum (➡) ve mitokondri (➡) izleniyor (Toluidin mavisi A,D,GX400, B,E,HX1000, Uranil asetat-Kurşun sitrat C,F,I).

4.2.2. Omurilik ön boynuz bulguları

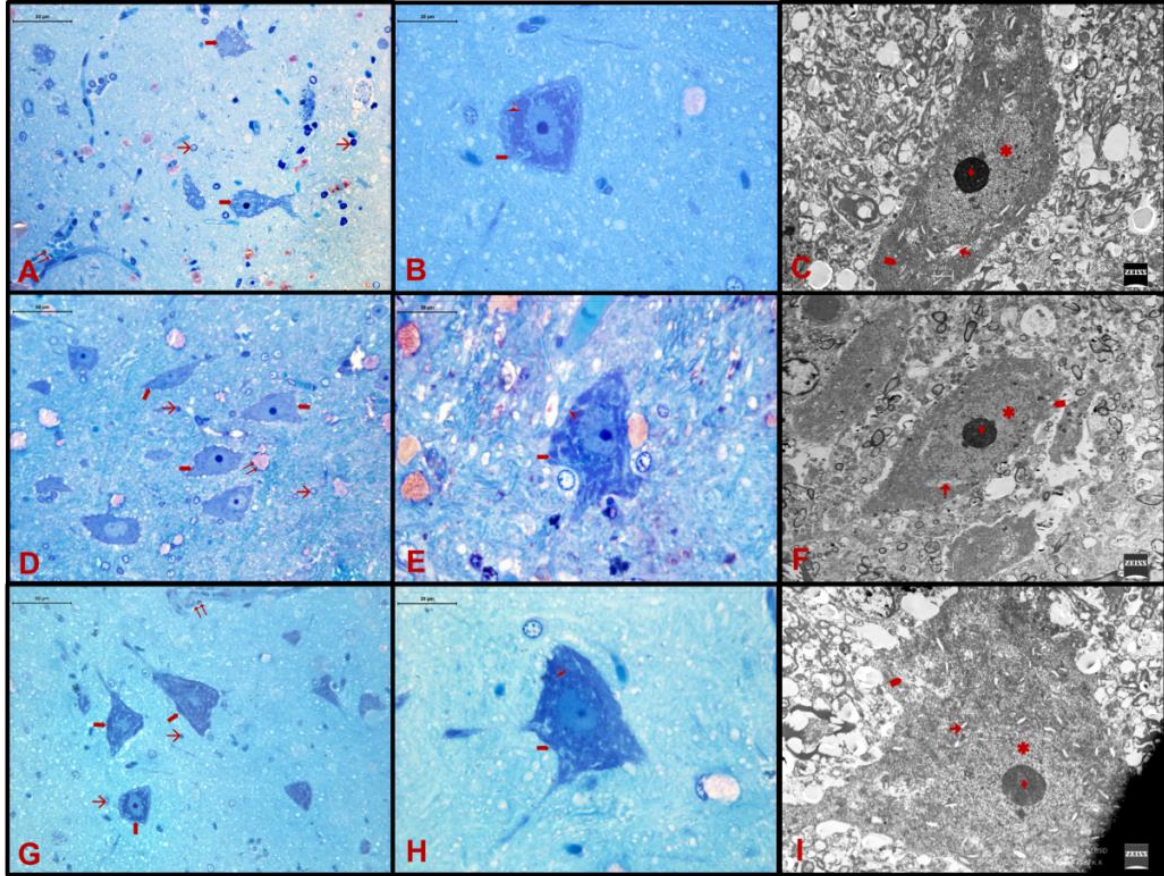
Omurilik ön boynuzunda servikal (Resim 4.5.A, 4.5.B, 4.5.D, 4.5.E, 4.5.G, 4.5.H) ve lomber (Resim 4.6.A, 4.6.B, 4.6.D, 4.6.E, 4.6.G, 4.6.H) seviyelerde yapılan incelemelerde yarı ince kesitlerde her üç deney grubunun da ışık mikroskopik düzeyde benzer histolojik özellikler sergilendiği izlendi. Tüm kesitlerde nöronlarda ve damar duvarında ödem izlenmezken ökromatik çekirdek, belirgin çekirdekçik, belirgin Nissl cisimcikleri ile doku geneline yüksek canlı görünüm özellikleri gösteren nöronlar ve sağlıklı glia yapıları ışık mikroskopik bulgular olarak yarı ince kesitlerde izlendi.



Resim 4.5. Omurilik ön boynuzuna ait örneklerde servikal seviyede elektron mikroskopik inceleme

Kontrol (A,B,C), İŞDE (D,E,F) ve YŞAE (G,H,I) gruplarına ait yarı ince ve ince kesitlerde motor nöron (➡), gliya hücresi (➡), damar (➡), Nissl cisimciği (➡), çekirdek (*), çekirdekçik (◆), granüllü endoplazmikretikulum (➡) ve mitokondri (➡) izleniyor (Toluidin mavisi A,D,GX400, B,E,HX1000, Uranil asetat-Kurşun sitrat C,F,I).

Servikal bölgede ince kesitlerde yapılan değerlendirmelerde, kontrol grubu nöronlarının dilate ve aktif GER sisternaları, aktif Golgi aygıtı, sağlıklı mitokondri yapıları, belirgin Nissl cisimcikleri, ökromatik çekirdek ve çekirdekçikleri içerdiği ayırt edildi (Resim 4.5.C). Servikal bölgede İŞDE grubundaki nöronların ince yapıli özelliklerinin kontrole benzer olduğu saptandı. Tek tük bazı nöronlarda minimal düzeyde ödem izlendi (Resim 4.5.F). YŞAE grubunda ince yapı düzeyinde yapılan değerlendirmelerde ise yer yer bazı nöronlarda belirgin nöronal şişme, çekirdekçik ve Nissl cisimcik kaybı görüldü. Yine elektron yoğun sitoplazmalarında belirsiz organel yapıları izlendi (Resim 4.5.I). Bu histopatolojik bulgular, dejeneratif yapı sergileyen nöronların sayıca son derece az olması nedeniyle anlamlı bulunmadı.



Resim 4.6. Omurilik ön boynuzuna ait örneklerde lomber seviyede elektron mikroskopik inceleme

Kontrol (A, B, C), İŞDE (D, E, F) ve YŞAE (G, H, I) gruplarına ait yarı ince ve ince kesitlerde motor nöron (➡), gliya hücresi (➔), damar (➡), Nissl cisimciği (➤), çekirdek (*), çekirdekçik (♦), granüllü endoplazmikretikulum (➡) ve mitokondri (➡) izleniyor (Toluidin mavisi A,D,GX400, B,E,HX1000, Uranil asetat-Kurşun sitrat C,F,I).

Lomber bölgede ince kesitlerde yapılan değerlendirmelerde, kontrol grubundaki nöronlar dilate ve aktif GER sisternaları, aktif Golgi aygıtı, sağlıklı mitokondri yapıları, belirgin Nissl cisimcikleri, ökromatik çekirdek ve çekirdekçikleri ile ayırt edildi (Resim 4.6.C). Nöronların tüm bu özellikleri ile servikal bölge kontrol grubu nöronlarıyla eşdeğer görünümde olduğu saptandı.

İŞDE grubunda ince yapı düzeyindeki değerlendirmelerde motor nöronların çoğunluğunun kontrol grubuna benzer olduğu görüldü. Ancak sayıca son derece seyrek olmakla birlikte bazı nöronlarda minimalden orta dereceye değişen ödem ve çekirdek yapılarında histopatolojik değişimler ilgiyi çekti (Resim 4.6.F).

YŞAE grubunda doku genelindeki motor nöronların çoğunluğu yine kontrole benzer normal histolojik yapılarında izlenirken, tek tük bazı nöronlarda sitoplazmik ve organel bazında histopatolojik bulgular dikkati çekti. Bu bulguların en belirginleri; çapları daralmış ancak dilate GER sisternaları, artmış lizozomal yapılar, Nissl cisimcik kaybı, çekirdek zarında ayrılma ile kayıp, çekirdekte vaküoler oluşumlar ve mitokondrilerde kristolizis olarak saptandı (Resim 4.6.I).

4.3. Sinir Doku Dejenerasyon Skorları

Dejenerasyon kriterlerine göre belirlenen skorların ortalamaları gruplara göre karşılaştırılmış ve motor kortekse ait değerler Çizelge 4.6’da sunulmuştur. Buna göre Nissl cisimcik kaybının YŞAE grubunda İŞDE ve kontrol gruplarına göre anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). Mitokondriyal kristolizis bulgusunun ise YŞAE grubunda diğerlerine göre daha yüksek değerde olduğu saptanmış ancak bu artışın sadece kontrol grubundan anlamlı fark gösterdiği saptanmıştır ($p<0,05$).

Çizelge 4.6. Motor kortekste dejenerasyon kriterlerine göre belirlenen skorların gruplar arasında karşılaştırılması

Dejenerasyon Kriterleri	YŞAE (n=6)	İŞDE (n=6)	K (n=6)	p
Lİ	0,17 ± 0,41	0,17 ± 0,41	0,17 ± 0,41	1,000
NŞ	0,17 ± 0,41	0,50 ± 0,55	0,17 ± 0,41	0,351
NCK	1,17 ± 0,41 ^a	0,17 ± 0,41 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,001
ÇK	0,17 ± 0,41	0,50 ± 0,55	0,17 ± 0,41	0,351
DÖ	0,67 ± 0,52	0,50 ± 0,55	0,17 ± 0,41	0,226
MK	0,67 ± 0,52 ^a	0,17 ± 0,41 ^{a,b}	0,00 ± 0,00 ^b	0,033

K: Kontrol, Lİ: Lenfosit infiltrasyonu, NŞ: Nöronlarda şişme, NCK: Nissl cisimcik kaybı, ÇK: Çekirdek kaybı, DÖ: Damarlarda ödem, MK: Mitokondriyal kristolizis. Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur.

Servikal düzeyde omurilik ön boynuz bölgesine ait dejenerasyon skorlarının gruplar arası kıyaslaması Çizelge 4.7’de gösterilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı sonuçlar motor kortekstekilerle benzer olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.7. Servikal omurilik ön boynuz bölgesinde dejenerasyon kriterlerine göre belirlenen skorların gruplar arasında karşılaştırılması

Dejenerasyon Kriterleri	YŞAE (n=6)	İŞDE (n=6)	K (n=6)	p
Lİ	0,17 ± 0,41	0,17 ± 0,41	0,17 ± 0,41	1,000
NŞ	0,17 ± 0,41	0,50 ± 0,55	0,17 ± 0,41	0,351
NCK	1,17 ± 0,41 ^a	0,17 ± 0,41 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,001
ÇK	0,17 ± 0,41	0,50 ± 0,55	0,17 ± 0,41	0,351
DÖ	0,67 ± 0,52	0,50 ± 0,55	0,17 ± 0,41	0,226
MK	0,67 ± 0,52 ^a	0,17 ± 0,41 ^{a,b}	0,00 ± 0,00 ^b	0,033

K: Kontrol, Lİ: Lenfosit infiltrasyonu, NŞ: Nöronlarda şişme, NCK: Nissl cisimcik kaybı, ÇK: Çekirdek kaybı, DÖ: Damarlarda ödem, MK: Mitokondriyal kristolizis. Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur.

Lomber düzeyde omurilik ön boynuz bölgesine ait dejenerasyon kriterleri skorlarının gruplar arası farkı Çizelge 4.8’de gösterilmiştir. Sonuçlar diğer iki bölgeyle benzer bulunmuş olup ek olarak damar ödeminin koşturulan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.8. Lomber omurilik ön boynuz bölgesinde dejenerasyon kriterlerine göre belirlenen skorların gruplar arasında karşılaştırılması

Dejenerasyon Kriterleri	YŞAE (n=6)	İŞDE (n=6)	K (n=6)	p
Lİ	0,17 ± 0,41	0,17 ± 0,41	0,17 ± 0,41	1,000
NŞ	0,50 ± 0,55	0,50 ± 0,55	0,17 ± 0,41	0,413
NCK	1,50 ± 0,55 ^a	0,17 ± 0,41 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,001
ÇK	0,50 ± 0,55	0,50 ± 0,55	0,17 ± 0,41	0,413
DÖ	0,67 ± 0,52 ^a	0,67 ± 0,52 ^a	0,00 ± 0,00 ^b	0,033
MK	0,67 ± 0,52 ^a	0,17 ± 0,41 ^{a,b}	0,00 ± 0,00 ^b	0,033

K: Kontrol, Lİ: Lenfosit infiltrasyonu, NŞ: Nöronlarda şişme, NCK: Nissl cisimcik kaybı, ÇK: Çekirdek kaybı, DÖ: Damarlarda ödem, MK: Mitokondriyal kristolizis. Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur.

4.4. Nöron Canlılık Değerleri

Motor kortekse ait kesitlerde nöron canlılık değerlerinin gruplar arası kıyaslaması Çizelge 4.9’da, omurilik ön boynuz bölgesine ait olanlar ise Çizelge 4.10 ve 4.11’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. Motor kortekste nöron canlılık değerlendirmesinin her üç grupta karşılaştırılması

	YŞAE (n=6)	IŞDE (n=6)	K (n=6)	p
BÇ	4,67 ± 0,52	4,67 ± 0,52	4,67 ± 0,52	1,000
ÖÇ	4,17 ± 0,41 ^a	4,83 ± 0,41 ^b	5,00 ± 0,00 ^b	0,007
NC	4,17 ± 0,41 ^a	4,83 ± 0,41 ^b	5,00 ± 0,00 ^b	0,007

BÇ: Belirgin çekirdekcik, ÖÇ: Ökromatik çekirdek, NS: Nissl cisimcikleri, K: Kontrol. Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur.

Çizelge 4.10. Servikal omurilik ön boynuz bölgesinde nöron canlılık değerlendirmesinin her üç grupta karşılaştırılması

	YŞAE (n=6)	IŞDE (n=6)	K (n=6)	p
BÇ	4,67 ± 0,52	4,67 ± 0,52	4,67 ± 0,52	1,000
ÖÇ	4,17 ± 0,41 ^a	4,83 ± 0,41 ^b	5,00 ± 0,00 ^b	0,007
NC	4,17 ± 0,41 ^a	4,83 ± 0,41 ^b	5,00 ± 0,00 ^b	0,007

BÇ: Belirgin çekirdekcik, ÖÇ: Ökromatik çekirdek, NS: Nissl cisimcikleri, K: Kontrol. Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur.

Çizelge 4.11. Lomber omurilik ön boynuz bölgesinde nöron canlılık değerlendirmesinin her üç grupta karşılaştırılması

	YŞAE (n=6)	IŞDE (n=6)	K (n=6)	p
BÇ	4,33 ± 0,52	4,67 ± 0,52	4,67 ± 0,52	0,427
ÖÇ	4,17 ± 0,41 ^a	4,83 ± 0,41 ^b	5,00 ± 0,00 ^b	0,007
NC	3,83 ± 0,75 ^a	4,83 ± 0,41 ^b	5,00 ± 0,00 ^b	0,006

BÇ: Belirgin çekirdekcik, ÖÇ: Ökromatik çekirdek, NS: Nissl cisimcikleri, K: Kontrol. Aynı satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur.

Hem motor korteks düzeyinde hem de omurilik ön boynuz bölgelerinde YŞAE grubundaki motor nöronlarda ökromatik çekirdek ve Nissl cisimcik varlığı diğer gruplara göre anlamlı derecede azalmış olarak saptanmıştır ($p<0,05$).

4.5. Nöron Canlılık İndeks Değerleri

Her 3 anatomik seviyeye ait motor nöronlarda canlılık indeksi değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması Çizelge 4.12’de sunulmuştur.

Çizelge 4.12. Motor korteks, omurilik ön boynuz bölgelerinde nöron canlılık indekslerinin her üç grupta karşılaştırılması

Grup	Motor korteks Cİ (n=6)	Servikal omurilik ön boynuz Cİ (n=6)	Lomber omurilik ön boynuz Cİ (n=6)
YŞAE	0,72 ± 0,10 ^a	0,79 ± 0,08 ^a	0,75 ± 0,11 ^a
IŞDE	0,82 ± 0,09 ^b	0,84 ± 0,08 ^a	0,80 ± 0,08 ^a
K	0,95 ± 0,05 ^c	0,93 ± 0,05 ^b	0,92 ± 0,06 ^b
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001

K: Kontrol, Cİ: Canlılık indeksi. Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur.

Motor kortekste YŞAE grubundaki nöron canlılık indeksinin IŞDE ve kontrol gruplarına göre anlamlı oranda azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Omurilik seviyelerinde ise

değerlerin YŞAE grubunda yine en düşük düzeyde olduğu ancak sadece kontrol grubuna göre anlamlı fark gösterdiği ($p<0,05$) saptanmıştır.

4.6. Histolojik Bulguların Yorumu

Sitokrom c apoptoz döngüsünde ekspresyonu arttıkça apoptozu indükleyen bir proteindir. Bunun tam tersine Bcl-2'nin ekspresyonu ise apoptozu inhibe etmektedir.

Motor korteks, servikal ve lomber omurilik ön boynuz bölgeleri olmak üzere 3 farklı anatomik seviyede motor nöronlar ve destek glial hücreleri her 3 grupta değerlendirilmiştir.

İmmünohistokimyasal değerlendirme ile Bcl-2 ve sitokrom c tutulumları her gruptan 6'şar denekte yapılmıştır. Hem kantitatif skorlamalarda hem de kalitatif değerlendirmelerde genel olarak YŞAE grubunda Bcl-2 tutulumunda diğer gruplara göre azalma, sitokrom c tutulumunda artış eğilimi saptanmıştır. Kantitatif skorlamada özellikle servikal seviyede diğer 2 gruba göre YŞAE grubunda her 2 immünohistokimyasal belirteç için fark daha belirginleşmiştir. Lomber seviyedeki kantitatif değerlendirmede ise sadece sedanterlere göre bu fark anlamlı çıkmıştır. Histolojik kesitlerin kalitatif değerlendirmesi ile birleştirildiğinde ise genel olarak bu belirteçlerin tutulumundaki farklılıklar çok belirgin bulunmamıştır.

Elektron mikroskopik çalışmada ise öncelikle her gruptan yine 6'şar denekte yarı ince kesitlerde sinir doku dejenerasyonu, nöron canlılık değerleri gibi kantitatif skorlamalar ve görüntülerin kalitatif kıyaslamaları yapılmıştır. Nöron canlılık indeksi ise ışık mikroskopunda X400 büyütmede yapılmıştır.

Her 3 grupta da benzer olarak her 3 anatomik seviye için sinir doku dejenerasyon kriterlerinden özellikle ikisinde; Nissl cisimcik kaybı ve mitokondriyal kristoliziste aralıklı egzersiz grubunda skorlar düşme eğilimindeyse de mitokondriyal kristoliziste sadece sedanter gruba göre farklar anlamlı bulunmuştur. Nissl cisimcik kaybında ise YŞAE grubundaki azalma her 3 anatomik seviyede de diğer 2 gruptan anlamlı fark göstermiştir.

Nöron canlılık değerleri ile ilgili bulgular yine bütün gruplarda ve bakılan tüm anatomik seviyelerde benzerlik göstermiştir. Şöyleki; Nissl cisimcik ve ökromatik çekirdek varlığı kriterleri her 3 grupta da bütün değerlendirilen bölgelerde farklılık göstermiştir. YŞAE

grubunda bu 2 değerde hem motor korteks hem de omurilik seviyelerinde düşme vardır ve bu düşüş diğer gruplardan anlamlı fark göstermekteyken IŞDE ve sedanter kontrol gruplarında değerler benzerdir.

Canlı olarak görünen nöronların sayısının sayılan tüm nöronlara oranı ile belirlenen nöron canlılık indeksi sonuçlarında ise YŞAE grubunda yine indeksler tüm anatomik seviyelerde en düşük düzeylerde saptanmıştır. Ancak sadece motor kortekste bu düşüş IŞDE grubundan da sedanter gruptan da anlamlı fark gösterirken omurilik seviyelerinde sadece sedanterlere göre anlamlı fark saptanmıştır.

Elektron mikroskopik yarı ince kesit kalitatif değerlendirmelerinde ise her 3 grubun görüntülerinde genel olarak sinir dejenerasyonu veya apoptozu düşündürecek bulgular saptanmamıştır. YŞAE grubunda diğer 2 gruptan farklı olarak yine kalitatif değerlendirmede de Nissl cisimcik kaybı, damar duvarı ödemi yer yer saptanmıştır.

İnce kesitlerdeki kalitatif elektron mikroskopik değerlendirmelerde ise IŞDE grubunda tek tük bazı nöronlarda minimal ödem ve çekirdek yapılarında histopatolojik değişimler saptanmıştır. YŞAE grubunda ince kesitlerde her 3 anatomik seviyede de rastlanan histopatolojik bulgular arasında; nöronlarda heterokromatik görünümde artış, sitoplazmalarında elektron yoğun görünüm ile birlikte Nissl cisimciklerinin ayırt edilememesi ve belirsiz organel yapıları, bazı mitokondri yapılarında yer yer kristolizis, belirgin nöronal şişme, çekirdekçik kaybı, çekirdek yapılarında histopatolojik değişiklikler sayılabilir. Ancak bu bulgulara nadir olarak rastlanması nedeniyle YŞAE grubunda yarı ince ve ince kesitlerin ultrastrüktürel morfolojik değerlendirmeleri patolojik düzeyde bir sinir dejenerasyonu veya apoptoz düşündürecek şekilde yorumlanmamıştır.

Sonuç olarak; YŞAE grubunda immünohistokimyasal olarak tutulumu bir miktar azalan antiapoptotik, antioksidan özelliklere sahip Bcl-2 proteini ile, tutulumu bir miktar artan proapoptotik sitokrom c proteini bu gruptaki motor nöronlarda patolojik bir doku dejenerasyonuna veya apoptotik sürece yol açmamış görünmektedir.

5. TARTIŞMA

Motor nöronlar SSS'deki birçok diğer hücre tipinden farklı olarak büyük boyuttadırlar, omurilik ön boynuz alfa motor nöronlarının ayrıca iskelet kaslarına kadar uzanan oldukça uzun aksonları vardır. Bu özellikleri nedeniyle yüksek metabolik ihtiyaçları olduğu tahmin edilebilir ve yoğun bir enerji tüketimi söz konusudur. Motor nöronlar dolayısıyla enerji açığına oldukça eğilimlidirler. Bu hücrelerde aksiyon potansiyel üretmek için sabit bir enerji desteği gereklidir ancak çok fazla miktarda enerji depolayamazlar [13,130]. Nöronların ATP ihtiyaçlarının çoğu membran potansiyellerini korumak için plazma membranları boyunca iyon pompalamasında kullanılır. Dolayısıyla en çok ATP isteyen işlem eksitasyondan dolayı oluşan fazla sodyumun çıkarılmasında görevli Na^+/K^+ -ATPaz pompasıdır. $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ -ATPazlar ile hücre içi Ca^{2+} regülasyonu da yine oldukça enerji tüketen bir işlemdir. Enerji dalgalanmalarına hassas motor nöronlarda ATP üretiminde azalma glutamat eksitotoksitesine yol açabilir (Bkz. Şekil 2.6).

Kaal ve ark. tarafından yavru sıçanlardan üretilen organotipik lomber omurilik kültürlerinin malonat ve sodyum azitle 1 ve 2 haftalık tedavileri sonrası sırasıyla kompleks II ve kompleks IV inhibisyonuna bağlı mitokondriyal disfonksiyon oluşturulmuştur [131]. Bu inhibisyon doz bağımlı olarak ATP tükenmesine yol açmıştır. Motor nöronlarda nörodejeneratif hastalıklardakine benzer dejenerasyon ve ölüm meydana gelmiştir. Diğer bir önemli bulgu ise motor nöron ölümüne neden olan dozlarda arka boynuz hücrelerinin yaşamaya devam ettiğidir. Araştırma ekibi bu bulgulara dayanarak motor nöronların mitokondriyal inhibisyona diğer nöronlara göre daha hassas olduğunu, dolayısıyla kronik mitokondriyal inhibisyonun büyük ihtimalle apoptotik yolla seçici motor nöron ölümüne yol açtığını belirtmişlerdir. ALS ve diğer nörodejeneratif hastalıkların (Parkinson's, Alzheimer's ve Huntington's) patogeneğinde birçok çalışma ile mitokondriyal biyoenerjetik sorunlar ve oksidatif hasarın rolü gösterilmiştir [132,133]. Nöronlarda biyoenerjetik defektin glutamat eksitotoksitesine yol açabileceğine dair kanıtlar mevcuttur [124,130] ve enerji bağlantılı eksitotoksitenin bu tip nörodejeneratif hastalıklarda rol oynadığı düşünülmektedir.

Egzersiz oksijen tüketimini artırır ve belli bir dozun üstünde protein, lipid ve DNA yapılarının modifikasyonuna yol açacak ROT'ların antioksidan savunma mekanizmalarını aşacak şekilde artmasına neden olur [1,134].

YŞAE ılımlı şiddetteki endurans egzersizi ile kıyaslandığında oksijen tüketimini daha belirgin arttırır, oksidatif metabolizmanın daha çok kullanılmasına yol açar [12]. Şiddetli egzersiz atakları esnasında $\dot{V}O_2$ artışı dolayısıyla daha belirgindir ve bu da fosforuktokinazı inhibe ederek oksijen tüketimi arttığı ve atak sırasında relatif hipoksi geliştiği halde (mevcut O_2 belirgin artan metabolizmanın ihtiyacının altında kalır) hücreyi oksidatif metabolizmaya zorlar. Yine bu egzersiz tipinin ılımlı tipe göre çok daha kısa sürede sistemik adaptif metabolik yanıtları harekete geçirdiği bilinmektedir [23]. Bu nedenlerle YŞAE klasik endurans egzersizine göre mitokondriyi daha fazla yük altında bırakıyor gibi gözükmektedir.

Motor nöronların oksidatif ATP üretimine devamlı ve ciddi derecede bağımlı olmaları, motor nöron seçici dejenerasyonu ve kaybı ile karakterize ALS hastalığında diğer nörodejeneratif hastalıklarla benzer şekilde mitokondriyal biyoenerjetik defekte yönelik patojenik mekanizmanın gittikçe daha çok ön plana çıkıyor olması ve YŞAE tipinde % 100 veya üstündeki $\dot{V}O_{2max}$ değerlerini bulan şiddetlere çıkılması, yani aerobik metabolizmanın diğer egzersiz tiplerine nazaran çok daha belirgin kullanılması bizde bu çalışma fikrini ortaya çıkaran belli başlı nedenler olmuştur.

Egzersizle ilişkili artan oksidatif stresin ana kaynağı olarak mitokondri suçlanmaktadır [82]. Mitokondriler hücre içinde sadece ROT kaynağı olmayıp ROT'ların başlıca hedef yapılarıdır. Hücresel oksidatif hasarın mitokondriyal DNA'ya nükleer DNA'dan önce zarar verdiği bilinmektedir [135]. Şiddetli egzersizde artan oksidatif stres mitokondriyal biyoenerjetik üzerinde olumsuz etkiler doğurabilir. Serbest oksijen radikallerinde artış ve mitokondri zar redoks durumundaki değişiklikler çeşitli ölüm indükleyici sinyaller arasındadır ve mitokondri zarından sitokrom c gibi kaspaz aktifleştirici proteinlerin sitozole salınmasını tetiklerler. Mitokondriler apoptozda kilit rol oynamaktadırlar [73]. Sitokrom c'nin sitozole salınması kaspaz-9 aktivasyonu ile sonuçlanabilir ki bu da kaspaz-3 gibi efektör kaspazları aktifleştirip hücre ölümüne yol açabilir. Antiapoptotik Bcl-2 proteini ise sitokrom c'nin salınımını ve ardından meydana gelen kaspaz aktivasyonunu bloke ederek apoptozu inhibe etmeye çalışır [136].

Çalışmamızda 13-15 haftalık yüksek şiddetli-aralıklı ve ılımlı şiddette-devamlı endurans egzersizi uygulanan sıçanlarda ve sedanter kontrollerde kortikal motor nöronlarla servikal ve lomber motor nöronlarda bu iki erken apoptotik belirtecin immünohistokimyasal

yöntemle bakılan düzeylerinde genel olarak her 3 motor nöron grubunda da benzer bulgular elde edilmiştir. YŞAE grubunda diğer 2 grupta kıyaslandığında Bcl-2 immünohistokimyasal tutulumunda hem motor nöronlarda hem de komşu glial hücrelerde azalma, sitokrom c immünohistokimyasal tutulumunda ise artış eğilimi görülmüştür. Bu farklılık kantitatif skorlamada servikal seviyede daha ön planda olmak üzere istatistiksel olarak anlamlılık göstermiştir. Kalitatif histolojik değerlendirmede ise bir miktar fark görülmüş ama çok belirgin, anlamlı olarak değerlendirilmemiştir.

Motor nöronların seçici ilerleyici dejenerasyonu ile karakterize ALS hastalığında yoğun fiziksel aktivite muhtemel risk faktörleri arasında geçmektedir. Bunlar daha çok toplum bazlı birtakım epidemiyolojik çalışmalardır ve hem pozitif hem de negatif ilişkiyi gösteren sonuçlar mevcuttur [90,91]. Bunun dışında özellikle İtalya'dan yoğunlaşan profesyonel veya amatör futbolcularda artmış hastalık görülme sıklığına ilişkin araştırma sonuçları bu konuya ilgiyi arttırmış görünmektedir [7,108,109]. Ancak futbolcular bazında ele alındığında bunlarda saha içi pestisit maruziyeti, dallı-zincirli amino asitler gibi yüksek dozlarda nörotoksik olma ihtimali olan [137] destekleyicilerin kullanımı, spora has nörotravmalar [138] ve bireysel genetik ve diğer çevresel faktörler multifaktöriyel bir şekilde etki ediyor olabilir. Çoklu depar sporları arasında sayılan futbolda saha içinde YŞAE paternleri kullanılmaktadır, ayrıca antrenmanlarda da bu egzersiz tipi saha içi kapasiteyi arttırmada tercih edilmektedir [26,27].

ALS ile futbol arasındaki pozitif ilişkiyi destekleyen çalışma sonuçlarına rağmen klinik epidemiyolojik çalışmalar metodolojik problemler içermektedir. Dolayısıyla bu ilişki tartışmalıdır ve önerilen muhtemel mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır. Ayrıca ALS' de diğer nörodejeneratif hastalıklarda olduğu gibi multifaktöriyel bir baz söz konusudur. Ancak hem futbolculardaki muhtemel çoklu etkenler hem de ALS'de bahsettiğimiz multifaktöriyel boyut (muhtemel genetik eğilimle birlikte birtakım çevresel etkenler)yoğun fiziksel aktivitenin motor nöronlarda klinik hastalık tablosu yaratacak ölçüde tek başına harabiyet geliştiremeyeceğini elbette göstermektedir. Fiziksel aktivite ve motor nöron hastalığıyla ilgili bir takım patojenik mekanizmalarla ilgili örtüşmeler dikkat çekmektedir (Bkz. Şekil 2.7). Ayrıca konuyla ilgilenen bilim adamları tarafından ortaya konan; motor nöron hastalığında bireydeki muhtemel genetik bazla birlikte yoğun fiziksel aktivitenin muhtemel nörotoksik mekanizmaları arttırabileceğine dair hipotez (Bkz. Şekil 2.8) makul görünmektedir. Dolayısıyla mevcut klinik çalışma sonuçları bizi bu hayvan

çalışmasına yönlendirmede etkili olmuştur. Ancak şunu da belirtmemiz gerekir ki YŞAE modelinin motor nöronda belirgin bir olumsuz değişikliğe yol açmasını beklemeden bu çalışmayı planladık ve yine bu nedenle ultrastrüktürel değişiklik araştırmaya yöneldik. Ayrıca daha önce belirttiğimiz nedenlerden dolayı mitokondri fonksiyonuna yönelik immünohistokimyasal iki belirtece baktık. İmmünohistokimyasal çalışma sonuçlarında YŞAE grubundaki çok belirgin olmayan bu farkın dahi dikkatle değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Yoğun fiziksel aktivite ve motor nöron harabiyeti ile ilişkili temel bilim çalışmaları mevcut epidemiyolojik çalışmalarda şüpheli sonuçların aydınlatılmasına belki ışık tutabilir. Ferraiuolo ve ark. [126] ALS ve fiziksel aktivite şüpheli ilişkisinden yola çıkarak yaptıkları çalışmalarında, egzersize hem motor nöron hem iskelet kası hem de nöromusküler kavşak düzeyinde transkripsiyonel adaptif yanıtlara bakmışlardır. 21 günlük gönüllü koşu egzersizi sonrası farelerden “laser captured” mikrodiseksiyon tekniği ile izole ettikleri motor nöronlarda ve ayrıca gastrocnemius kaslarında ve nöromusküler kavşakta daha önce yapılan çalışmalarla ALS’de eksikliği gösterilmiş birtakım nörotrofik ve hipoksi ile indüklenebilen genlerde üst ayarlanım saptamışlardır. Dolayısıyla bu sonuç yukarıda değindiğimiz genetik bazla birlikte bireyde fiziksel aktivitenin motor nöron hastalığını tetikleme ihtimali ile ilgili önerilen hipotezleri desteklemektedir. Bir başka deyişle motor nöron düzeyinde nörotrofik faktörlerle, hipoksi ile indüklenebilir faktörler gibi egzersize verilen adaptif yanıtta artması gereken proteinler genetik bir defekt nedeniyle kişide egzersize yanıt olarak artmıyorsa motor nöronlarında muhtemel dejenerasyonu, mitokondriyal hasarı tetikleyecektir.

Çalışmamızda elektron mikroskopik incelemelerde yine nadiren de olsa YŞAE grubunda yarı ince kesitlerde Nissl cisimcik kaybı, damar duvarı ödemi gibi birtakım sinir dejenerasyon bulguları, tam ince kesitlerde ise yer yer heterokromatik görünümde artış, sitoplazmalarında elektron yoğun görünüm ile birlikte Nissl cisimciklerinin ayırt edilememesi ve belirsiz organel yapıları, bazı mitokondri yapılarında yer yer kristolizis, belirgin nöronal şişme, çekirdekçik kaybı, çekirdek yapılarında histopatolojik değişiklikler gibi değişiklikler saptanmıştır. Bu ultrastrüktürel morfolojik değişiklikler Kerr ve ark. tarafından ilk olarak tanımlanan apoptotik morfolojik bulgulara benzerdir. Ancak elektron mikroskopisi daha çok geç dönem apoptoza girmiş hücrelerin değerlendirmesinde en iyi değerlendirme yöntemidir. Çünkü in vitro inceleme olduğu için

makrofajın yokluğunda apoptotik yapılar uzun süre kalabilir veya sitoliz ya da nekroza gidebilir [139].

Apoptozun önemli bir sinir hücresi ölüm tipi olduğu gösterildiği halde son 2 dekada kadar nöronal dejenerasyonda kilit faktör olarak tanımlanamamıştır. Bu kısmen apoptotik hücreleri demonstre etmedeki zorluktan kaynaklanmaktadır çünkü nisbeten kısa süre var olurlar. İn vivo olarak apoptotik çekirdekler ve hücreler saatler içinde fagosit ediliş sindirilirler. Bir defada sadece az sayıda apoptotik çekirdekler saptanabilir ki bu durum apoptozun önemsiz bir rol oynadığı izlenimini verebilir. Hatta belli bir süreç içinde tek bir noktasal zamanda bir doku örneğinde az sayıda apoptotik çekirdek görülmesi eğer işlem günler, haftalar hatta yıllarca devam ediyorsa büyük miktarda apoptotik ölümü yansıtabilir. Bu nedenle kronik nörodejeneratif hastalıklarda tek bir zamanda bakılan patolojik tek kesitte sadece az sayıda apoptotik yapı görülebildiği halde masif apoptotik ölüm olabilir [139]. Çalışma sonuçlarında YŞAE grubunda çok nadir rastlanmış olsa da hücre harabiyeti bulguları bu açıdan değerlendirildiğinde, konuyla ilgili daha fazla temel bilimsel çalışmaya yönelenilmesi konusunda motive edici gibi durmaktadır.

Çalışmada sakrifikasyona günler kala bir denekte kilo kaybı ve performans düşüşü görülmüştür. Bu ilginç olarak YŞAE grubunda koşturulmakta ve randımanı diğer sıçanlarla kıyaslandığında iyi olan, koşturulmada güçlük yaşanmayan bir denektir. Sakrifikasyon sırasında akciğer kitlesi saptanıp çalışma dışı bırakıldı. Ancak bu klinik sonucun egzersizle ilişkili olma ihtimali de mevcuttur. Yüksek şiddetli veya uzun süreli egzersiz immünsupresyona ve enfeksiyona eğilime yol açabilir [140]. Uzun süreli egzersiz aynı zamanda kortizol sekresyonunu da arttırabilir. Muhtemelen kortizol uzun süreli egzersiz sonrası oluşan nötrofili ve lenfopenide de etkilidir [141]. Yine şiddetli ve uzun süreli egzersizin oksidatif hasar yapıcı etkisi bilinmektedir [120]. Bu deneğin sinir dokularında da egzersizle ilişkili hasar oluşmuş olabileceği için çalışma dışı bırakılmasaydı genel bulguları kısmen etkileyebilirdi şeklinde tahmin yürütmekteyiz. Diğer bir ihtimal ise yine o sıçana ait genetik bir problem olması ve bunun egzersiz ile tetiklenmesi durumudur.

YŞAE grubunda daha belirgin olan sitokrom c ve Bcl-2 düzeylerindeki değişiklik erken apoptotik süreçte benzer gibidir. Sitokrom c serbestleşmesi mitokondriyal depolarizasyon, kaspaz aktivasyonu olmadan en erken süreçte meydana gelen değişikliktir [63].

Çalışma sonuçlarımıza göre elektron mikroskopik bulgulara bazı hücrelerde hücre bütünlüğünün kaybolmuş olması yani canlılık belirtisinin olmaması bulgusunun yer yer bazı alanlarda görülmesi immünohistokimyasal belirteçlerdeki değişikliğin apoptoza yol açmış olmadığını göstermektedir. Birtakım hayvan çalışmalarında da antiapoptotik Bcl-2 ve proapoptotik Bax ile sitokrom c immünreaktiviteleri yanında apoptotik inceleme de yapılmıştır [63,74]. Bu çalışma sonuçlarında bakılan immünohistokimyasal belirteçlerdeki değişiklikler apoptotik bir süreç lehine iken (Bcl-2/Bax oranının Bax lehine bozulması ve sitokrom c sitozolik boyanmasında artış gibi) apoptoz lehine bulgu saptanamamıştır. Bu durum hayvanların feda edildiği sırada apoptozun erken dönemi olabileceği için (örn. sitokrom c salınması sırasında) kaspaz aktivasyonunun henüz gerçekleşmemiş olabileceği ihtimaline bağlanmıştır. Diğer bir ihtimal ise kaspaz aktivasyonu için belli bir eşik sitokrom c düzeyinin gerekiyor olabileceğidir. Bunun ötesinde endojen apoptoz inhibitörlerinin bu sonuçta etkileri olabileceği de öne sürülmüştür. Literatürde bu proteinleri yüksek oranda içeren hücrelerin sitokrom c aracılı apoptoza yakalanmıyor olabileceği, bunun yerine nekroz sonucu ölebileceğine dair yayınlar mevcuttur.

Egzersizle ilişkili oksidatif strese mitokondriyal serbest radikal üretimi önemli bir yer tutuyorsa mitokondriler ROT'ların primer hedefleri olmalıdır. Bu yaklaşım birçok araştırmacıyı değişik egzersiz tiplerine maruz bırakılan hayvanlarda mitokondrilerin strüktürel ve fonksiyonel niteliklerini araştırmaya itmiştir. Literatürde egzersizin mitokondri zarına etkisiyle ilgili çelişen araştırma sonuçları mevcuttur. Mitokondri morfolojisiyle ilgili farklı bulgulara hem egzersiz hem de doku tipiyle ilgili farklılıkların etkileri mevcut gibi görünmektedir [142,143,144]. Sakai ve arkadaşları akut tüketici egzersiz sonrası sıçanların soleus ve tibialis kaslarında mitokondriyal ultrastrüktürel değişikliklere bakmışlar ancak anormal mitokondrilere sadece soleus kasında rastlamışlardır[143].

Üç saatlik yüzme egzersizi sonrası sıçanların kardiyak mitokondrilerinde fosfolipid içeriğinde belirgin azalma saptanmasına rağmen elektron mikroskopik incelemede yapısal değişikliğe rastlanmamıştır [144]. Dolayısıyla elektron mikroskopik değerlendirmede morfolojik olarak mitokondride değişim görülmemesi mitokondride bir değişiklik olmadığı anlamına gelmemektedir. Örneğin mitokondriyal zar lipid yapısında değişiklik te erken apoptotik bir gösterge olarak değerlendirilmektedir [70]. Çalışma sonuçlarındaki bu

çeşitlilik doku farkı ve egzersiz protokolü veya tipine bağlı farklılıkların yanında mitokondriyal fonksiyonu saptamak için kullanılan prosedürlere de dayanıyor olabilir.

Egzersiz süresi, şiddeti, bireyin fiziksel uygunluğu, atletik kabiliyet, ırk, sağlık durumu ve çevresel koşullar gibi faktörlerin tümü oksidatif stres ve hasar oluşumu veya şiddeti üzerinde etkilidir [145]. Bazı çalışmalarda egzersizin indüklediği oksidatif hasarın görülememesinin nedenleri arasında kullanılan deneklere bağlı farklılıklar ile çok değişik egzersiz tipi ve yoğunluklarının uygulanması gibi etkenler rol oynayabilir. Sadece yeterli şiddet ve süredeki egzersiz antioksidan savunmayı aşabilecek oranda serbest radikal üretimine ve bunun hücrel etkilerine yol açıyor gibi görünmektedir [134,146].

Liu ve ark. sıçanlarda akut ve kronik koşu egzersizinin kalp, kas, karaciğer ve beyin dokularındaki oksidatif stres belirteçleri ve endojen antioksidan düzeyleri üzerindeki etkilerine bakmışlar ve oldukça farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Organlar arasındaki farklılıkların oksijen tüketimi, antioksidan düzeyleri, oksidan ve antioksidanlara duyarlılık ve yeterli onarıcı sistemlerin varlığı gibi faktörlerle ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Kas ve kalp dokularının beyin ve karaciğere göre oksidatif strese yanıtlarının oldukça farklı olmasının da mitokondriyal biyogenezdeki farklılıklarla ilişkilendirilebileceği önerilmiştir [147].

YŞAE modellerinin kullanıldığı hayvan çalışmalarında YŞAE bileşenlerinde çok çeşitlilik mevcuttur [127,148,149]. İnsan çalışmalarında da kullanılan YŞAE paterni ile ilgili oldukça farklılık mevcuttur [27,33]. Literatürde bu durum dikkat çekici bir düzeydedir. YŞAE'de sağlık açısından maksimum fayda sağlamak için gereken minimum dozun tanımlanması yanında sağlık açısından risk doğurabilecek maksimum sınırların da netleşmesi gereklidir.

YŞAE'de klasik endurans egzersizine göre değişken sayısı fazladır (5 adet). Bu değişkenlerin her birindeki ufak oynamalar egzersiz sırasındaki akut metabolik, kardiyopulmoner ve de nöromusküler cevaplarda muhtemelen direkt bir etkiye sahiptir. Ayrıca kronik adaptif yanıtlara da cevabı etkileyebilir [37]. Çalışmamızda 13-15 haftalık egzersizin ilk haftalarında YŞAE atak sayıları düşük tutularak oldukça kontrollü bir artış sağlanmıştır. Ancak 4. haftadan sonra daha etkili bir dozda uygulanmaya başlamıştır. Bu bağlamda eğer motor nöron düzeyinde ultrastrüktürel bir değişim başlamışsa egzersiz

uygulaması daha da kronikleştirilseydi belki başlayan bu değişiklikler daha belirgin bir hale gelecek olabilirdi. Bilimsel araştırmalar açısından özellikle de temel bilim araştırmaları açısından önemli bir sıkıntı da bu egzersiz tipinin değişik doku veya hücrelerdeki olumlu ya da olumsuz etkilerini araştırmak için doğru YŞAE modelini oluştırmaktır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, sıçanlarda motor korteksteki ve omurilik ön boynuz seviyelerindeki motor nöronlarda uygulanan şiddet ve süredeki YŞAE modeli gözle görülür bir apoptoz veya sinir dejenerasyonu yapmamıştır. Ancak aralıklı egzersiz grubunda immünohistokimyasal çalışmada apoptotik süreçteki en erken belirteç sitokrom c tutulumlarında artış, sitokrom c'nin serbestleşmesini önleme görevi olan antiapoptotik Bcl-2 tutulumlarında ise azalma eğilimleri yine de motor nöronlarda kaspazları aktive edememiş minimal düzeyde disfonksiyon eğilimi olarak değerlendirilebilir. Bu erken apoptotik protein düzeylerinde apoptoz lehine bizim çalışmamızdakinden daha da belirgin immünohistokimyasal tutulumların saptandığı birtakım hayvan çalışmalarında dahi kaspaz düzeylerinde artış olmayabileceği, apoptotik morfolojik değişikliklerin olmayabileceği görülmüştür. Ayrıca apoptotik hücrelerin kısa ömürlü olmaları, bilinen kronik bir apoptotik süreçte dahi tek zamanlı bir doku değerlendirmesinde çok nadir düzeyde apoptotik yapılara rastlanabileceği de literatürde belirtilmektedir. Bu açıdan çalışmamızda aralıklı egzersiz grubundaki motor nöronlarda tek tük rastlanan hücresel değişikliklerin önemi yoruma açık gibi durmaktadır.

Yüksek oksidatif metabolizma gereksinimi mitokondrileri motor nöronlar açısından oldukça önemli hale getirmektedir. YŞAE tipi endurans egzersizinde klasik endurans egzersizlerine nazaran çok daha yüksek VO_2 maks düzeyleri söz konusudur. Oksidatif metabolizma diğer egzersiz tiplerine göre çok daha belirgin kullanılmaktadır çünkü şiddetli ataklar sırasında laktat düzeylerindeki artış, metabolik asidoz daha belirgindir ve anaerobik glikolitik enzim inhibisyonu meydana gelir. Bu da şiddetli atak sırasında zaten doku düzeyinde oluşan oksijen açlığına, relatif hipoksiye rağmen mitokondrileri oksidatif fosforilasyona zorlayarak bu organellerin yükünü daha da arttıracaktır. Yani YŞAE zaten biyoenerjetik küçük dalgalanmalardan çok fazla etkilenebilecek motor nöronlarda oksidatif hasara eğilimi arttırabilir. Uzun mesafe koşucuları, futbolcular gibi profesyonel sporcularda bu durum mitokondriyal adaptif yanıtların gelişmesine yol açsa da kronik yüklenme belli bir noktadan sonra, özellikle de çevresel veya diyet desteği şeklinde toksinlere maruziyet de söz konusuysa bunların da ek katkısıyla klinik düzeyde olmasa da hücresel düzeyde olumsuz değişikliklere yol açabilir. Egzersize motor nöron düzeyinde adaptif koruyucu yanıt geliştirmede genetik eksikliği olan bireylerde ise olay subklinik düzeyden klinik düzeye çıkabilir. Dolayısıyla bu tip egzersiz modelinde motor nöronlarda oksidatif hasara bağlı ultrastrüktürel morfolojik, fonksiyonel, biyokimyasal düzeylerde

olumsuz değişiklikler söz konusu olabilir. Ayrıca literatürde YŞAE çalışmalarında uygulanan egzersiz modellerinde oldukça çeşitlilik söz konusuyken ve sağlıkla ilgili riskler açısından uygulanması gerekli maksimum doz net değilken bizim çalışma sonuçlarındaki minimal değişikliklerin dahi dikkatle ele alınması gerektiğini düşünmekteyiz. Çalışma sonuçları motor nöronlarda YŞAE tipi egzersizin saf etkilerine bakılmış olması açısından değerlidir. Ayrıca bu çalışma sonuçlarını değerli kılan diğer bir husus da motor nöronların ilerleyici dejenerasyonu ile karakterize, etyolojisi net olarak bilinmeyen ve henüz net bir tedavi stratejisi oluşturulamamış ALS hastalığı ve fiziksel aktivite ilişkisinin patojenik temellerine dair bilimsel katkı sunabileceğidir.

YŞAE bileşenlerinde değişiklikler yapılarak ve motor nöron düzeyinde farklı moleküler belirteçlere ve mitokondri zar yapısıyla ilgili fonksiyonel detaylara bakılarak yapılacak ileri çalışmalar bu kavramla ilgili cevabı netleşemeyen soruların aydınlatılmasına katkı sunacaktır.

YŞAE tipi egzersiz günümüzde hem profesyonel sporcularda antrenmanlarda hem de amatör spor yapan bireyler arasında daha yaygın kullanılmaya başlanmıştır. Çünkü kilo kaybı veya performans artışı gibi hedeflere klasik endurans egzersiz modellerine göre daha kısa sürede ulaşılmaktadır. Zaman konusunda sıkıntı yaşayan modern toplumun bireyleri için bu önemli bir detaydır. Ancak egzersiz reçetelemesinde konsensüs yoktur ve de çok bileşenli bu egzersiz tipinde her bir bileşendeki ufak değişiklikler dahi belirgin akut veya kronik sistemik yanıtlar doğurabilir.

Günümüzde özellikle gençler arasında yaygınlaşan, bilinçsizce ve ilgili uzmanlara danışılmadan yapılan egzersizlerin organlardaki uzun vadeli etkileri açısından dikkatli olunmalıdır. Ortaya çıkabilecek farklı organ sistemlerine ait klinik sorunlar işgücü kaybı, tedavi maliyetleri vb gibi sonuçları açısından ülke ekonomisini de olumsuz etkileyebilecektir. Dolayısıyla bu egzersiz modelinin bileşenlerinde değişiklikler yapılarak aynı organ veya doku üzerindeki etkiler daha çok bilimsel çalışma ile araştırılmalıdır. YŞAE’de sağlıkla ilgili fayda görülecek minimal egzersiz şiddet ve süresi ile hastalık riski doğuracak maksimum değerler netleştirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Radak , Z., Chung, H.Y., Koltai, E., Taylor, A.W., and Goto, S. (2008). Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Research Reviews*, 7(1), 34-42.
2. Kojda, G., and Hambrecht, R. (2005). Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy? *Cardiovascular Research.*, 67(2), 187–197.
3. Ji, L.L., Gomez-Cabrera, M.C., and Vina, J. (2006). Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1067, 425-435.
4. Powers, S.K., and Jackson, M.J. (2008) Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*,88(4), 1243-1276.
5. Aguiar, A.S., Jr, Tuon. T., Pinho, C.A., Silva, L.A., Andreazza, A.C., Kapczinski, F., Quevedo, J., Streck, E.L., and Pinho, R.A. (2008). Intense exercise induces mitochondrial dysfunction in mice brain. *Neurochemical research*, 33(1), 51-58.
6. Rowland, L.P., and Schneider, N.A. (2001). Amyotrophic lateral sclerosis. *The New England journal of medicine*, 344, 1688–1700.
7. Chio`, A., Benzi, G., Dossena, M., Mutani, R., and Mora, G. (2005). Severely increased risk of amyotrophic lateral sclerosis among Italian professional football players. *Brain*,128,472-476.
8. Chio, A., Calvo, A., Dossena, M., Ghiglione, P., Mutani, R., and Mora, G. (2009). ALS in Italian professional soccer players: the risk is still present and could be soccerspecific. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, 10(4), 205-209.
9. Vanacore, N., Binazzi, A., Bottazzi, M., and Belli, S. (2006). Amyotrophic lateral sclerosis in an Italian professional soccer player. *Parkinsonism and Related Disorders*,12(5), 327-329.
10. Bangsbo, J. (1994). The physiology of soccer--with special reference to intense intermittent exercise. *Acta physiologica Scandinavica. Supplementum*, 619, 1-155.
11. Di Meo, S., and Venditti, P. (2001). Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biological signals and receptors*, 10(1-2), 125-140.
12. Helgerud, J., Høydal, K., Wang, E., Karlsen, T., Berg, P., Bjerkaas, M., Simonsen, T., Helgesen, C., Hjorth, N., Bach, R., and Hoff, J. (2007). Aerobic high intensity intervals improve VO2max more than moderate training. *Medicine and science in sports and exercise*, 39, 665–671.
13. Menzies, F. M., Ince, P. G., and Shaw, P.J. (2002). Mitochondrial involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurochemistry International*, 40(6), 543–551.

14. Caspersen C.J., Powell, K.E., and Christenson, G.M. (1985). Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Reports*, 100(2), 126-131.
15. Fletcher, G.F., Ades, P.A., Kligfield, P., Arena, R., Balady, G.J., Bittner, V.A., Coke, L.A., Fleg, J.L., Forman, D.E., Gerber, T.C., Gulati, M., Madan, K., Rhodes, J., Thompson, P.D., and Williams, M.A. (2013). Exercise standards for testing and training: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 128(8), 873-934.
16. Billat, L.V. (2001). Interval training for performance: a scientific and empirical practice. Special recommendations for middle- and long-distance running. Part I: aerobic interval training. *Sports Medicine*, 31(1), 13-31.
17. Williams, M.A., Haskell, W.L., Ades, P.A., Amsterdam, E.A., Bittner, V., Franklin, B.A., Gulanick, M., Laing, S.T., and Stewart, K.J. (2007). Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: update: a scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*, 116, 572-584.
18. Shephard, R.J., and Balady, G.J. (1999). Exercise as cardiovascular therapy. *Circulation*, 99, 963-972.
19. Wisloff, U., Stoylen, A., Loennechen, J.P., Bruvold, M., Rognmo, O., Haram, P.M., Tjonna, A.E., Helgerud, J., Slordahl, S.A., Lee, S.J., Videm, V., Bye, A., Smith, G.L., Najjar, S.M., Ellingsen, O., and Skjaerpe, T. (2007). Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients: a randomized study. *Circulation*, 115, 3086-3094.
20. Moholdt, T.T., Amundsen, B.H., Rustad, L.A., Wahba, A., Lovo, K.T., Gullikstad, L.R., Bye, A., Skogvoll, E., Wisloff, U., and Slordahl, S.A. (2009). Aerobic interval training versus continuous moderate exercise after coronary artery bypass surgery: a randomized study of cardiovascular effects and quality of life. *American heart journal*, 158, 1031-1037.
21. Drust, B., Reilly, T., Cable, N.T. (2000). Physiological responses to laboratory-based soccer-specific intermittent and continuous exercise. *Journal of sports sciences*, 18(11), 885-892.
22. Russell, M., Rees, G., Benton, D., and Kingsley M. (2011). An exercise protocol that replicates soccer match-play. *International journal of sports medicine*, 32(7), 511-518.
23. Gibala, M.J., Little, J.P., MacDonald, M.J., and Hawley, J.A. (2012). Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *The Journal of physiology*, 590, 1077-1084.
24. Burgomaster, K.A., Hughes, S.C., Heigenhauser, G.J.F., Bradwell, S.N., and Gibala, M.J. (2005). Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *Journal of applied physiology*, 98(6), 1985-1990.

25. Spencer, M., Bishop, D., Dawson, B., and Goodman, C. (2005). Physiological and metabolic responses of repeated sprint activities: specific to field-based team sports. *Sports medicine*, 35(12), 1025–1044.
26. Glaister, M. (2005). Multiple sprint work: physiological responses, mechanisms of fatigue and the influence of aerobic fitness. *Sports Medicine*, 35(9), 757–777.
27. Boutcher, S. H.(2011). High-Intensity Intermittent Exercise and Fat Loss. *Journal of obesity*, ID: 868305.
28. Burgomaster, K.A., Howarth, K.R., Phillips, S.M., Rakobowchuk, M., Macdonald, M.J., McGee, S.L., and Gibala, M.J. (2008). Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *The Journal of physiology*, 586, 151–160.
29. MacDougall, D., and Sale, D. (1981). Continuous vs. interval training: a review for the athlete and the coach. *Canadian journal of applied sport sciences*, 6(2), 93–97.
30. Laursen, P.B., and Jenkins, D.G. (2002). The scientific basis for high intensity interval training: optimising training programmes and maximising performance in highly trained endurance athletes. *Sports medicine*, 32(1), 53–73.
31. Bangsbo J, Nørregaard L, and Thorsø F. (1991). Activity profile of competition soccer. *Canadian journal of sport sciences*, 16(2), 110-116.
32. Reilly, T., and Borrie, A. (1992). Physiology applied to field hockey. *Sports Medicine*. 14(1), 10-26.
33. Tschakert, G., and Hofmann, P. (2013). High intensity intermittent exercise: methodological and physiological aspects. *International journal of sports physiology and performance*, 8(6), 600-610.
34. Currie, K.D., Dubberley, J.B., McKelvie, R.S., and MacDonald, M.J. (2013). Low-volume, high-intensity interval training in patients with coronary artery disease. *Medicine and science in sports and exercise*, 45(8), 1436-1442.
35. Hofmann, P., and Tschakert, G. (2011). Special needs to prescribe exercise intensity for scientific studies. *Cardiology research and practice*, 15, 209302.
36. Laursen, P.B., and Jenkins, D.G. (2002). The Scientific Basis for High-Intensity Interval Training Optimising Training Programmes and Maximising Performance in Highly Trained Endurance Athletes. *Sports Medicine*, 32 (1), 53-73.
37. Buchheit, M., and Laursen, P.B. (2013). High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle: Part I: cardiopulmonary emphasis. *Sports Medicine*. 43(5), 313-338.
38. Hashimoto, T., and Brooks, G.A. (2008). Mitochondrial lactate oxidation complex and an adaptive role for lactate production. *Medicine and science in sports and exercise*, 40(3), 486-494.

39. Helgerud, J., Høydal, K., Wang, E., Karlsen, T., Berg, P., Bjerkaas, M., Simonsen, T., Helgesen, C., Hjørth, N., Bach, R., and Hoff, J. (2007). Aerobic high intensity intervals improve VO₂max more than moderate training. *Medicine and science in sports and exercise*, 39, 665–671.
40. Egan, B., Carson, B.P., Garcia-Roves, P.M., Chibalin, A.V., Sarsfield, F.M., Barron, N., McCaffrey, N., Moyna, N.M., Zierath, J.R., and O'Gorman, D.J. (2010). Exercise intensity-dependent regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α mRNA abundance is associated with differential activation of upstream signaling kinases in human skeletal muscle. *The Journal of physiology*, 588(Pt 10), 1779–1790.
41. Chilibeck, P.D., Bell, G.J., Farrar, R.P., and Martin, T.P. (1998). Higher mitochondrial fatty acid oxidation following intermittent versus continuous endurance exercise training. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 76(9), 891-894.
42. Perry, C.G., Heigenhauser, G.J., Bonen, A., and Spriet, L.L. (2008). High-intensity aerobic interval training increases fat and carbohydrate metabolic capacities in human skeletal muscle. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*. 33(6), 1112-1123.
43. Calabrese, E.J., Bachmann, K.A., Bailer, A.J., Bolger, P.M., Borak, J., Cai, L., Cedergreen, N., Cherian, M.G., Chiueh, C.C., Clarkson, T.W., Cook, R.R., Diamond, D.M., and Doolittle, D.J., et al. (2007). Biological stress response terminology: Integrating the concepts of adaptive response and preconditioning stress within a hormetic dose-response framework. *Toxicology and applied pharmacology*, 222, 122–128.
44. Calabrese, E.J., and Blain, R. (2005). The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. *Toxicology and applied pharmacology*, 202, 289–301.
45. Mattson, M.P. (2008). Hormesis defined. *Ageing research reviews*, 7(1), 1-7.
46. Mattson, M.P. (2003). Excitotoxic and excitoprotective mechanisms: abundant targets for the prevention and treatment of neurodegenerative disorders. *Neuromolecular medicine*, 3(2), 65–94.
47. Kojda, G., and Hambrecht, R. (2005). Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy? *Cardiovascular research*, 67(2), 187–197.
48. Gomez-Pinilla F. (2008). The influences of diet and exercise on mental health through hormesis. *Ageing research reviews*. 7(1), 49-62.
49. Bi, L., and Triadafilopoulos, G. (2003). Exercise and gastrointestinal function and disease: an evidence-based review of risks and benefits. *Clinical gastroenterology and hepatology*, 1(5), 345-355.
50. Calabrese, E.J., and Baldwin, L.A. (2001). U-shaped dose-responses in biology, toxicology, and public health. *Annual review of public health*, 22, 15-33.

51. Radak, Z., Chung, H.Y., and Goto, S. (2005). Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology* , 6(1), 71–75.
52. Borutaite V. (2010). Mitochondria as Decision-Makers in Cell Death. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 51(5), 406-416.
53. Al Ghouleh, I., Khoo, N.K., Knaus, U.G., Griendling, K.K., Touyz, R.M., Thannickal, V.J., Barchowsky, A., Nauseef, W.M., Kelley, E.E., Bauer, P.M., Darley-Usmar, V., Shiva, S., Cifuentes-Pagano, E., Freeman, B.A., Gladwin, M.T., and Pagano, P.J. (2011). Oxidases and peroxidases in cardiovascular and lung disease: new concepts in reactive oxygen species signaling. *Free radical biology & medicine*, 51(7), 1271-1288.
54. Liu, Y., Fiskum, G., and Schubert, D. (2002). Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. *Journal of Neurochemistry*, 80(5), 780-787.
55. Carreras, M.C., Franco, M.C., Peralta, J.G., and Poderoso, J.J. Nitric oxide, complex I, and the modulation of mitochondrial reactive species in biology and disease. *Molecular aspects of medicine*, 2004, 25,125–139.
56. Sies H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental physiology*, 82(2), 291-295.
57. Powers, S.K., Nelson, W.B., and Hudson, M.B. (2011). Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free radical biology & medicine*, 51(5), 942-950.
58. Crawford, D.R., and Davies, K.J. (1994). Adaptive response and oxidative stress. *Environmental health perspectives*, 102 (Suppl 10), 25-28.
59. Dranka, B.P., Hill, B.G., and Darley-Usmar, V.M. (2010). Mitochondrial reserve capacity in endothelial cells: The impact of nitric oxide and reactive oxygen species. *Free radical biology & medicine*, 48(7), 905-914.
60. Reed, J. C. (1997). Cytochrome c: Can't Live Minireview with It—Can't Live without It. *Cell*, 91, 559–562.
61. Velayutham, M., Hemann, C., and Zweier, J. L. (2011). Removal of H₂O₂ and generation of superoxide radical: Role of cytochrome c and NADH. *Free Radical Biology & Medicine*, 51, 160–170.
62. Dewson, G., and Kluck, R. M. (2010). Bcl-2 family-regulated apoptosis in health and disease. *Cell Health and Cytoskeleton*, 2, 9–22.
63. Phaneuf, S., and Leeuwenburgh, C. (2002). Cytochrome c release from mitochondria in the aging heart: a possible mechanism for apoptosis with age. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 282, 423–430.
64. Alnemri, E.S., Livingston, D.J., Nicholson, D.W., Salvesen, G., Thornberry, N.A., Wong, W.W., and Yuan, J. (1996). Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*, 87(2), 171.

65. Kluck, R.M., Bossy-Wetzel, E., Green, D.R., and Newmeyer, D.D.(1997). The release of cytochrome-c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science*, 275, 1132-1136.
66. Yang, J., Liu, X., Bhalla, K., Kim, C.N., Ibrado, A.M., Cai, J., Peng, T.I., Jones, D.P., and Wang, X.(1997). Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science*, 275, 1129-1132.
67. Wei, M.C., Zong, W.X., Cheng, E.H., Lindsten, T., Panoutsakopoulou, V., Ross, A.J., Roth, K.A., MacGregor, G.R., Thompson, C.B., and Korsmeyer, S.J. (2001). Proapoptotic BAX and BAK: a requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death. *Science*, 292(5517), 727-730.
68. Valentijn, A.J., Upton, J.P., and Gilmore, A.P. (2008). Analysis of endogenous Bax complexes during apoptosis using blue native PAGE: implications for Bax activation and oligomerization. *Biochemical journal*, 412(2), 347-357.
69. Kroemer, G., Galluzzi, L., and Brenner, C. (2007). Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiological reviews*, 87(1), 99–163.
70. Lucken-Ardjomande, S., and Martinou, J.C. (2005). New comers in the process of mitochondrial permeabilization. *Journal of cell science*, 118(Pt 3), 473-483.
71. Crompton, M.(1999). The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *The Biochemical journal*, 341 (Pt 2), 233-249.
72. Adachi, M., Higuchi, H., Miura, S., Azuma, T., Inokuchi, S., Saito, H., Kato, S., and Ishii, H. (2004). Bax interacts with the voltage-dependent anion channel and mediates ethanol-induced apoptosis in rat hepatocytes. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 287(3), 695-705.
73. Green, D.R., and Reed, J.C.(1998). Mitochondria and apoptosis. *Science*, 281(5381), 1309-1312.
74. Thees, S., Hubbard, G.B., Winckler, J., Schultz, C., and Rami, A.(2005). Specific alteration of the Bax/Bcl2 ratio and cytochrome c without execution of apoptosis in the hippocampus of aged baboons. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 23(1), 1–9.
75. Green, D., and Kroemer, G. (1998). The central executioners of apoptosis: caspases or mitochondria? *Trends in cell biology*, 8(7), 267-271.
76. Susin, S.A., Zamzami, N., Castedo, M., Hirsch, T., Marchetti, P., Macho, A., Daugas, E., Geuskens, M., and Kroemer, G. (1996). Bcl-2 inhibits the mitochondrial release of an apoptogenic protease. *The Journal of experimental medicine*, 184(4), 1331-1341.
77. Zamzami, N., Susin, S.A., Marchetti, P., Hirsch, T., Gómez-Monterrey, I., Castedo, M., and Kroemer, G. (1996). Mitochondrial control of nuclear apoptosis. *The Journal of experimental medicine*, 183(4), 1533-1544.

78. Oltvai, Z.N., Millman, C.L., and Korsmeyer, S.J. (1993). Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell*, 74(4), 609-619.
79. Deveraux, Q.L., Roy, N., Stennicke, H.R., Van, A. T., Zhou, Q., Srinivasula, S.M., Alnemri, E.S., Salvesen, G.S., and Reed, J.C. (1998). IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome- c by direct inhibition of distinct caspases. *The EMBO journal*, 17(8), 2215-2223.
80. Nikolaidis, M.G., and Jamurtas, A.Z. (2009). Blood as a reactive species generator and redox status regulator during exercise. *Archives of biochemistry and biophysics*, 490(2), 77-84.
81. Powers, S.K., Ji, L.L., and Leeuwenburgh, C. (1999). Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Medicine and science in sports and exercise*, 31(7), 987-997.
82. Di, Meo. S., and Venditti, P. (2001). Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biological signals and receptors*, 10(1-2), 125-140.
83. Packer, L. (1997). Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. *Journal of sports sciences*, 15(3), 353-363.
84. Granger, D.N., and Korthuis, R.J. (1995). Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. *Annual review of physiology*, 57, 311-332.
85. Kloner, R.A., Przyklenk, K., and Whittaker, P. (1989). Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion. Resolved and unresolved issues. *Circulation*, 80(5):1115-1127.
86. Hellsten, Y., Frandsen, U., Orthenblad, N., Sjødin, B., and Richter, E.A. (1997) Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation. *The Journal of physiology*, 498 (Pt 1), 239-248.
87. Kiernan, M.C., Vucic, S., Cheah, B.C., Turner, M.R., Eisen, A., Hardiman, O., Burrell, J.R., and Zoing, M.C. (2011). Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*, 377(9769), 942-955.
88. Rosen, D.R., Siddique, T., Patterson, D., Figlewicz, D.A., Sapp, P., Hentati, A., et al. (1993). Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, 362, 59-62.
89. Andersen PM, Sims KB, Xin WW, Kiely R, O'Neill G, Ravits J, et al. (2003). Sixteen novel mutations in the Cu/Zn superoxide dismutase gene in amyotrophic lateral sclerosis: a decade of discoveries, defects and disputes. *Amyotrophic lateral sclerosis and other motor neuron disorders*, 4, 62-73.
90. Logroscino, G., Beghi, E., Zoccolella, S., Palagano, R., Fraddosio, A., Simone, I.L., et al. (2005). Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in southern Italy: a population based study. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 76, 1094-1098.

91. Traynor, B.J., Codd, M.B., Corr, B., Forde, C., Frost, E., and Hardiman, O. (1999). Incidence and prevalence of ALS in Ireland, 1995-1997: a population-based study. *Neurology*, 52, 504-509.
92. Luquin, N., Yu, B., Trent, R.J., Morahan, J.M., and Pamphlett, R. (2008). An analysis of the entire SOD1 gene in sporadic ALS. *Neuromuscular disorders : NMD*, 18, 545-552.
93. Corrado, L., D'Alfonso, S., Bergamaschi, L., Testa, L., Leone, M., Nasuelli, N., Momigliano-Richiardi, P., and Mazzini, L. (2006). SOD1 gene mutations in Italian patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Neuromuscular disorders: NMD*, 11, 800-804.
94. Sutedja, N.A., Veldink, J.H., Fischer, K., Kromhout, H., Wokke, J.H., Huisman, M.H., Heederik, D.J., and Van den Berg, L.H. (2007). Lifetime occupation, education, smoking, and risk of ALS. *Neurology*, 69(5), 1508-1514.
95. Chen, H., Richard, M., Sandler, D.P., Umbach, D.M., and Kamel, F. (2007). Head injury and amyotrophic lateral sclerosis. *American Journal of Epidemiology*, 166, 810-816.
96. Abhinav, K., Al-Chalabi, A., Hortobagyi, T., and Leigh, P.N. (2007). Electrical injury and amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review of the literature. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 78, 450-453.
97. Sutedja, N.A., Veldink, J.H., Fischer, K., Kromhout, H., Heederik, D., Huisman, M.H., Wokke, J.H., and van den Berg, L.H. (2009). Exposure to chemicals and metals and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review. *Amyotroph Lateral Sclerosis*, 10(5-6), 302-309.
98. Armon C. (2009). Smoking may be considered an established risk factor for sporadic ALS. *Neurology*, 73(20), 1693-1698.
99. Armon C. (2003). An evidence-based medicine approach to the evaluation of the role of exogenous risk factors in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroepidemiology*, 22(4), 217-28.
100. Weisskopf, M.G., O'Reilly, E.J., McCullough, M.L., Calle, E.E., Thun, M.J., Cudkowicz, M., and Ascherio, A. (2005). Prospective study of military service and mortality from ALS. *Neurology*, 64(1), 32-37.
101. Weisskopf, M.G., McCullough, M.L., Morozova, N., Calle, E.E., Thun, M.J., and Ascherio, A. (2005). Prospective study of occupation and amyotrophic lateral sclerosis mortality. *American Journal of Epidemiology*, 162(12), 1146-1152.
102. Armon, C., Nelson, L.M. (2012). Is head trauma a risk factor for amyotrophic lateral sclerosis? An evidence based review. *Amyotroph Lateral Sclerosis*, 13(4), 351-356.
103. Strickland, D., Smith, S.A., Dolliff, G., and Goldman, L. Roelofs, R.I. (1996). Physical activity, trauma, and ALS: a case-control study. *Acta neurologica Scandinavica*, 94(1), 45-50.

104. Scarmeas, N., Shih, T., Stern, Y., Ottman, R., and Rowland, L.P. (2002). Premorbid weight, body mass, and varsity athletics in ALS. *Neurology*, 59(5), 773-775.
105. Longstreth, W.T., McGuire, V., Koepsell, T.D., Wang, Y., and van Belle, G. (1998). Risk of amyotrophic lateral sclerosis and history of physical activity: a population-based case-control study. *Archives of neurology*, 55(2), 201-206.
106. Valenti, M., Pontieri, F.E., Conti, F., Altobelli, E., Manzoni, T., and Frati, L. (2005) Amyotrophic lateral sclerosis and sports: a case-control study. *European journal of neurology*, 12(3), 223-225.
107. Veldink, J.H., Kalmijn, S., Groeneveld, G.J., Titulaer, M.J., Wokke, J.H., and van den Berg, L.H. (2005). Physical activity and the association with sporadic ALS. *Neurology*. 64(2), 241-245.
108. Belli, S., Vanacore, N. (2005). Proportionate mortality of Italian soccer players: is amyotrophic lateral sclerosis an occupational disease? *European journal of epidemiology*, 20(3), 237-242.
109. Taioli, E. (2007). All causes of mortality in male professional soccer players. *European journal of public health*, 17(6), 600-604.
110. Vanacore, N., Binazzi, A., Bottazzi, M., and Belli, S. (2006). Amyotrophic lateral sclerosis in an Italian professional soccer player. *Parkinsonism & related disorders*, 12(5), 327-329.
111. Wicks, P., Ganesalingham, J., Collin, C., Prevett, M., Leigh, N.P., and Al-Chalabi, A. (2007). Three soccer playing friends with simultaneous amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scleroti*, 8(3), 177-179.
112. Abel, E.L. (2007). Football increases the risk for Lou Gehrig's disease, amyotrophic lateral sclerosis. *Perceptual and motor skills*, 104(3 Pt 2), 1251-1254.
113. Kiernan, M.C., Vucic, S., Cheah, B.C., Turner, M.R., Eisen, A., Hardiman, O., Burrell, J.R., Zoing, M.C. (2011). Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*, 377(9769), 942-955.
114. Borthwick, G.M., Johnson, M.A., Ince, P.G., Shaw, P.J., and Turnbull, D.M. (1999). Mitochondrial enzyme activity in amyotrophic lateral sclerosis: implications for the role of mitochondria in neuronal cell death. *Annals of neurology*, 46(5), 787-790.
115. Cozzolino, M., and Carri, M.T. (2012). Mitochondrial dysfunction in ALS. *Progress in neurobiology*, 97(2), 54-66.
116. Ferrante, R.J., Browne, S.E., Shinobu, L.A., Bowling, A.C., Baik, M.J., MacGarvey, U., Kowall, N.W., Brown, R.H. Jr, and Beal, M.F. (1997). Evidence of increased oxidative damage in both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of neurochemistry*, 69(5), 2064-2074.

117. Ilieva, H., Polymenidou, M., and Cleveland, D.W. (2009). Non-cell autonomous toxicity in neurodegenerative disorders: ALS and beyond. *The Journal of cell biology*, 187(6), 761-772.
118. Dupuis, L., and Loeffler, J.P. (2009). Neuromuscular junction destruction during amyotrophic lateral sclerosis: insights from transgenic models. *Current opinion in pharmacology*, 9(3), 341-346.
119. Martin, L.J. (1999). Neuronal death in amyotrophic lateral sclerosis is apoptosis: possible contribution of a programmed cell death mechanism. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 58(5), 459-471.
120. Powers, S.K., Nelson, W.B., and Hudson, M.B. (2011). Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free radical biology & medicine*, 51(5), 942-950.
121. Radak, Z., Chung, H.Y., and Goto, S. (2008). Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free radical biology & medicine*, 44(2), 153-159.
122. Heath, P.R., and Shaw, P.J. (2002). Update on the glutamatergic neurotransmitter system and the role of excitotoxicity in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle & nerve*, 26(4), 438-458.
123. Longstreth, W.T., Nelson, L.M., Koepsell, T.D., and van Belle, G. (1991). Hypotheses to explain the association between vigorous physical activity and amyotrophic lateral sclerosis. *Medical hypotheses*, 34(2), 144-148.
124. Harwood, C.A., McDermott, C.J., and Shaw, P.J. (2009). Physical activity as an exogenous risk factor in motor neuron disease (MND): a review of the evidence. *Amyotroph Lateral Sclerosis*, 10(4), 191-204.
125. Bray, M.S., Hagberg, J.M., Pérusse, L., Rankinen, T., Roth, S.M., Wolfarth, B., and Bouchard, C. (2009). The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006-2007 update. *Medicine and science in sports and exercise*, 41(1), 35-73.
126. Ferraiuolo, L., De Bono, J.P., Heath, P.R., Holden, H., Kasher, P., Channon, K.M., Kirby, J., and Shaw, P.J. (2009). Transcriptional response of the neuromuscular system to exercise training and potential implications for ALS. *Journal of neurochemistry*, 109(6), 1714-1724.
127. Diaz-Herrera, P., García-Castellano, J.M., Torres, A., Morcuende, J.A., Calbet, J.A., and Sarrat, R. (2001). Effect of high intensity running in rectus femoris muscle fiber in rats. *Journal of orthopaedic research*, 19(2), 229-232.
128. Nakano, H., Masuda, K., Sasaki, S., and Katsuta, S. (1997). Oxidative enzyme activity and soma size in motoneurons innervating the rat slow-twitch and fast-twitch muscles after chronic activity. *Brain research bulletin*, 43(2), 149-154.
129. Cassada, D.C., Tribble, C.G., Laubach, V.E., Nguyen, B.N., Rieger, J.M., Linden, J., Kaza, A.K., Long, S.M., Kron, I.L., and Kern, J.A. (2001). An adenosine A2A

- agonist, ATL-146e, reduces paralysis and apoptosis during rabbit spinal cord reperfusion. *Journal of Vascular Surgery*, 34(3), 482-488.
130. Santa-Cruz, D., Uri Nimrod, R.J., and Tapia, R. (2012). Role of Mitochondrial Dysfunction in Motor Neuron Degeneration in ALS. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, Ed. InTech, First edition. Available from <http://www.intechopen.com/books/amyotrophic-lateralsclerosis/role-of-mitochondrial-dysfunction-in-motor-neuron-degeneration-in-als>.
 131. Kaal, E.C., Vlug, A.S., Versleijen, M.W., Kuilman, M., Joosten, E.A., and Bär, P.R. (2000). Chronic mitochondrial inhibition induces selective motoneuron death in vitro: a new model for amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of neurochemistry*, 74(3), 1158-1165.
 132. Bowling, A.C., and Beal, M.F. (1995). Bioenergetic and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Life sciences*, 56(14), 1151-1171.
 133. Cassarino, D.S., and Bennett, J.P. Jr. (1999). An evaluation of the role of mitochondria in neurodegenerative diseases: mitochondrial mutations and oxidative pathology, protective nuclear responses, and cell death in neurodegeneration. *Brain research. Brain research reviews*, 29(1), 1-25.
 134. Poulsen, H.E., Loft, S., and Vistisen, K. (1996). Extreme exercise and oxidative DNA modification. *Journal of sports sciences*, 14(4), 343-346.
 135. Santos, J.H., Meyer, J.N., and Van Houten, B. (2006). Mitochondrial localization of telomerase as a determinant for hydrogen peroxide-induced mitochondrial DNA damage and apoptosis. *Human molecular genetics*, 15, 1757–1768.
 136. Prakasa Babu, P., Yoshida, Y., Su, M., Segura, M., Kawamura, S., and Yasui, N. (2000). Immunohistochemical expression of Bcl-2, Bax and cytochrome- c following focal cerebral ischemia and effect of hypothermia in rat. *Neuroscience letters*, 291(3), 196-200.
 137. Contrusciere, V., Paradisi, S., Matteucci, A., and Malchiodi-Albedi, F. (2010). Branched-chain amino acids induce neurotoxicity in rat cortical cultures. *Neurotoxicity research*. 17(4), 392-398.
 138. McKee, A. C., Daneshvar, D. H., Alvarez, V. E., and Stein, T. D. (2014). The neuropathology of sport. *Acta Neuropathologica*, 127, 29–51.
 139. Tatton, W.G., and Olanow, C.W. (1999). Apoptosis in neurodegenerative diseases: the role of mitochondria. *Biochimica et biophysica acta*, 1410(2), 195-213.
 140. Nieman, D.C. (1994). Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Medicine and science in sports and exercise*, 26(2), 128-139.
 141. Smith, C., and Myburgh, K.H. (2006). Are the relationships between early activation of lymphocytes and cortisol or testosterone influenced by intensified cycling training in men? *Applied physiology, nutrition, and metabolism*, Jun;31(3), 226-234.

142. McCutcheon, L.J., Byrd, S.K., and Hodgson, D.R. (1992). Ultrastructural changes in skeletal muscle after fatiguing exercise. *Journal of applied physiology*, 72(3), 1111-1117.
143. Sakai, Y., Iwamura, Y., Hayashi, J., Yamamoto, N., Ohkoshi, N., and Nagata H. (1999). Acute exercise causes mitochondrial DNA deletion in rat skeletal muscle. *Muscle & nerve*, 22(2), 258-261.
144. Keatisuwan, W., Kinjo, M., and Koyama, T. (1991). Changes in phospholipid constituents in mitochondrial membranes after long lasting exercise in rat heart. *Life sciences*, 48(22), 2173-2181.
145. Deaton, C. M., and Marlin, D. J. (2003). Exercise-Associated Oxidative Stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2(3), 278-291.
146. Quindry, J.C., Stone, W.L., King, J., and Broeder, C.E. (2003). The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. *Medicine and science in sports and exercise*, 35(7), 1139-1145.
147. Liu, J., Yeo, H.C., Overvik-Douki, E., Hagen, T., Doniger, S.J., Chyu, D.W., Brooks, G.A., and Ames, B.N. (2000). Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *Journal of applied physiology*, 89(1), 21-28.
148. Chilibeck, P.D., Bell, G.J., Farrar, R.P., and Martin, T.P. Higher mitochondrial fatty acid oxidation following intermittent versus continuous endurance exercise training. (1998). *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 76(9), 891-894.
149. Giesel, V.T., Reche, M., Schneider, L., Araújo, L.C., Scalco, R., and von Eye Corleta, H. Capp. (2009). Effects of intermittent high-intensity exercise and carbohydrate supplementation on IGF-1 and glycogen of Wistar rats. *Growth hormone & IGF research*, 19(2), 156-161.

EKLER

EK-1: Etik kurul onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 152 - 12293
KONU :

30.6.2011

Sayın

Prof.Dr.Deniz ERBAŞ
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Deniz ERBAŞ, Zelal KELEŞ, Tayfun GÖKTAŞ, Çiğdem ELMAS ve Güleser GÖKTAŞ'tan oluşan, G.Ü.ET-11.074 kod numaralı ve *"Ratlarda Aralıklı, Yüksek Şiddetli Egzersizle Birlikte Dalı Zincirli Amino Asit Desteğinin Sinir Sistemi Üzerine Etkisi"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-11.074 and entitled *"The Combined Effect of Brief Intense Intermittant Exercise and Branched Chain Amino Acid Supplementation on Nervous System in Rats"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

EK-1. (devam) Etik kurul onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 95-13071
KONU :

28.06/2012

Sayın

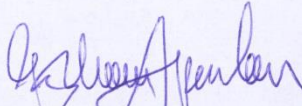
Prof.Dr.Deniz ERBAŞ
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Daha önce onay alan, G.Ü.ET-11.074 kod numaralı *“Ratlarda Aralıklı, Yüksek Şiddetli Egzersizle Birlikte Dalı Zincirli Amino Asit Desteğinin Sinir Sistemi Üzerine Etkisi”* adlı çalışmanız hakkında vermiş olduğunuz 19.06.2012 tarihli dilekçeniz incelenmiş olup,

Çalışmadaki grup sayısının 4'ten 3'e düşürülmesi ile çalışmanızın isminin *“Ratlarda Aralıklı, Yüksek Şiddetli Kronik Koşu Egzersizinin Motor Nöron Üzerindeki Etkileri”* olarak değiştirilmesi ve araştırmacılarından Uzm.Dr.Tayfun GÖKTAŞ'ın ayrılması ile çalışmaya dahil edilmesi istenilen Prof.Dr.Haydar DEMİREL hakkındaki talebiniz Başkanlığımızca uygun görülmüştür.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

EK : 1 Liste


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı: Keleş,Zelal

Uyruğu : T.C.

Doğum Tarihi ve yeri: 18/03/1974 Mardin

Medeni hali: Bekar

Telefon: 0 (533) 574 76 81

E-posta: zelalkeles@gmail.com



Eğitim Dercesi

Okul/ Program

Mezuniyet Yılı

Doktora

Gazi Üniversitesi/Fizyoloji

Devam Ediyor

Uzmanlık

Gazi Üniversitesi/Fiziksel Tıp ve
Rehabilitasyon

2006

Lisans

Hacettepe Üniversitesi/ Tıp Fakültesi

1999

Lise

Ankara Bahçelievler Cumhuriyet Lisesi

1991

İş Deneyimi, Yıl

Çalıştığı Yer

Görev

2007-2010

Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi

Öğretim Üyesi

2006-2007

Siirt Devlet Hastanesi

Uzman Doktor

2001-2006

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Araştırma

Görevlisi

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

1. Keles Z, Onur O, Carlioglu A, Sarifakioglu E. 2010 Pheochromocytoma in a patient with preliminary diagnosis of raynaud phenomenon. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, 39(6), 523-4.

2. Keleş Z, Zinnuroglu M, Beyazova M. case of the month. (2010). Impairment of upper trapezius branch of the spinal accessory nerve during bypass grafting: a stretch injury? **Muscle & Nerve**,41(1), 144-147.
3. Çekmen N, Salman B, Keleş Z, Aslan M, Akçabay M. (2007). Transcutaneous electrical nerve stimulation in the prevention of postoperative nausea and vomiting after elective laparoscopic cholecystectomy. **Journal of Clinical Anesthesia**,19(1),49-52.
4. Günendi Z, Karataş Kaymak G, Keleş Z. (2011). Bir Grup Sağlıklı Gönüllüde Düz Bacak Germe Testinin Tibial Sinir F Dalgası Parametrelerine Etkisi. **Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi**, 57, 221-4.
5. Günendi Z, Göğüş F, Keleş Z, Türe D. (2010). Romatoid artritli hastaların el-el bileği istirahat splinti kullanımına uyumu. **Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi**, 30(1):213-7.
6. Keleş Z, Demirsoy N, Meray J, Süer Ö. (2008). Kemığın monostotik paget hastalığı mı, kemik metastazı mı? - olgu sunumu. **Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi**, 54, 73-76.

Sözlü bildiriler

1. 24. Ulusal Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kongresi, 27-31 Mart 2013 Belek/Antalya. Progresif Psodromatoid Displazide klinik-radyolojik tanı ve genetik analiz: Türkiye'den bir aile çalışması - **Clinicoradiological Diagnosis with Genetic Analysis in Progressive Pseudorheumatoid Dysplasia: A Family Study from Turkey**. Keleş Z, Perçin F, Karaoğlu B, Karaer DK, Koç A, Yıldırım K.
2. 21. Ulusal Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kongresi, 24-29 Ekim 2007 Lara/Antalya. **The effect of 200 mg single dose of caffeine on electromyographic reaction time of young subjects**. Keleş Z, Can AG, Çilek A, Beyazova M.

Kitap veya kitap bölümü

1. Keleş Z. Antidepresan İlaçlar. Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kitabı, Beyazova M, Gökçe-Kutsal Y, 2011.

Ödüller

Takdirname, Siirt ili valiliği (2007)

FTR Avrupa Genç Araştırmacı Yarışması Türkiye üçüncülüğü, Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Derneği, (2007)



GAZİ GELECEKTİR..



Gazi gelecektir...

