



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SAĞLIKLI SIÇANLARDA DALLI ZİNCİRLİ AMİNO ASİT
TAKVİYESİ VE DİRENÇLİ YÜZME EGZERSİZİNİN BÖBREK
DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Hazırlayan

Cemre AYDEĞER

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Avni EROĞLU

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇANAKKALE-2020



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SAĞLIKLI SIÇANLARDA DALLI ZİNCİRLİ AMİNO ASİT
TAKVİYESİ VE DİRENÇLİ YÜZME EGZERSİZİNİN BÖBREK
DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Hazırlayan

Cemre AYDEĞER

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Avni EROĞLU

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇANAKKALE-2020

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2019-3141 sayılı karar ile desteklenmiştir.

BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi, Madde 8’de belirtilen ve ayrıntılı olarak tanımlanan etiğe aykırı eylemleri (intihal, sahtecilik, çarpıtma, tekrar yayım, dilimleme, haksız yazarlık ve diğer etik ihlali türleri) yapmadığımı onurumla beyan ederim.

Tarih: 19.06.2020

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Cemre AYDEĞER

İmza: 

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince beni her konuda dinleyen, ihtiyaç duyduğumda elinden gelen her konuda yardım ve destek gösteren ve bilime olan ilgimi teşvik ederek hayatımı değiştiren değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Avni Eroğlu'na, başta öğrenmeyi öğreterek bu alanda ilerlememi sağlayan değerli bölüm hocalarım Prof. Dr. Mustafa Edremitlioğlu ve Prof. Dr. Metehan Uzun'a, hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen, ilgi ve alakalarıyla farklı bakış açıları kazandıran, tezimin çeşitli bölümlerinde katkı sağlayan değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Başak Büyük, Dr. Öğr. Üyesi Rahime Özlem Öztöpez ve Dr. Öğr. Üyesi Yasemen Adalı'ya, öğrenim hayatımı her zaman destekleyen ve çalışma hayatımı kolaylaştıran kıymetli hocalarım Doç. Dr. Hatice Reşorlu ve Dr. Öğr. Üyesi Coşkun Zateri'ye, bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren Arş. Gör. Mehmet Akif Ovalı'ya ihtiyacım olan her konuda ve tezimde yardımcı olan Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Lisansüstü öğrencilerine, bu süreçte devam etmemi sağlayan arkadaşlarım Fatma ve Ramazan Coşkun'a, bana hayat veren, bugünlere getiren, mutlu bir birey olmamı sağlayan anneme ve babama, çalışmamın projesini destekleyerek maddi olarak katkı sağlayan Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi yönetici- çalışanlarına, hayatımın her dönemi varlığını hissetmekten büyük bir mutluluk duyduğum ve eğitim öğretim hayatım boyunca maddi manevi her türlü imkân ve olanağı sağlayan büyük Türkiye Cumhuriyeti Devleti'ne sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU	II
THESIS APROVAL FORM	III
BEYAN	IV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
SİMGE VE KISALTMALAR	IX
TABLolar LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
RESİMLER LİSTESİ	XII
ÖZET	XIII
ABSTRACT	XIV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Egzersiz	3
2.1.1. Egzersizin Tanımı ve Yapılma Amaçları	3
2.1.2. Egzersiz ile Kullanılan Takviyeler	4
2.1.2.1. L-karnitin	6
2.1.2.2. Peynir Altı Suyu Proteini	7
2.1.2.3. Kreatin	7
2.1.3. Dallı Zincirli Amino Asit Takviyeleri	8
2.1.3.1. Dallı Zincirli Amino Asitlerin Özellikleri	8
2.1.3.2. Dallı Zincirli Amino Asit Takviyeleri Kullanımı ve Hakkında Yapılan Çalışmalar	10
2.2. Böbrekler	11
2.2.1. Böbrek Anatomisi	11
2.2.2. Böbrek Fizyolojisi	13
2.3. Apoptoz	15
	VI

2.3.1. Hücre Ölümü	15
2.3.2. Apoptozun Tanımlanması	17
2.3.3. Apoptozun Mekanizmaları	18
2.3.3.1. İntrensek Yol	18
2.3.3.2. Ekstresek Yol	20
2.3.3.3. Perforin- Granzim Bağımlı Yol	21
2.3.4. Kaspazlar ve Kaspaz 3	22
2.3.5. Bcl Ailesi ve Bcl-2	23
2.3.6. Böbrek Hasar Molekülü-1 (Kidney Injury Molecule-1=KIM-1)	26
2.4. Deneysel Modellemelerde Egzersiz	27
2.4.1. Gönüllü Egzersiz	30
2.4.2. Gönüllü Olmayan Egzersiz	31
2.4.3. Zorunlu Egzersiz	31
2.4.3.1. Koşu Bandı Egzersizi	31
2.4.3.2. Ağırlık Kaldırma Egzersizi	31
2.4.3.3. Ağırlık Çekme Şeklinde Squat Tipi Egzersiz	32
2.4.3.4. Merdiven Tırmanma Egzersizi	33
2.4.3.5. Dirençli Yüzme Egzersizi	34
2.4.4. Spesifik Egzersizler	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1. Araştırma Yöntemi ve Prosedürü	36
3.2. Araştırma Grubu	36
3.3. Veri Toplama Araçları	36
3.3.1. Dalı Zincir Amino Asit Takviyesinin Hazırlanışı ve Uygulanışı	36
3.3.2. Yüzme Egzersizinin Yapılışı	37
3.3.3. Örneklerin Alınması	40
3.4. Veri Toplama Yöntemleri	40

3.4.1. Histopatolojik İncelemeler	40
3.4.2. Genetik Analizler	44
3.4.2.1. Total RNA İzolasyonu	44
3.4.2.2. cDNA Eldesi	44
3.4.2.3. RT-PCR çalışması	45
3.4.3. Verilerin Analizleri	46
4. BULGULAR	47
4.1. Vücut Ağırlığı Bulguları	47
4.2. Histopatolojik Bulgular	48
4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular	52
4.4. RT-PCR Bulguları	55
4.4.1. Kaspaz 3 Bulguları	55
4.4.2. Bcl-2 Bulguları	56
4.4.3. KIM-1 Bulguları	57
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
KAYNAKLAR	65
EK-1 Etik Kurul Onay Formu	76
EK-2 Özgeçmiş	77
EK-3 Spiralli Tez Kontrol Formu	79
EK-4 Spiralli Tez Yazım Listesi	80

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ADP	: Adenosin difosfat
ATP	: Adenosin-5'-Trifosfat
BCAA	: Dallı zincirli amino asit
BCAT	: Dallı zincirli amino asit aminotransferaz
Bcl-2	: B-hücreli lenfoma 2
BCKA	: Dallı zincirli keto asit
BCKD	: Dallı-zincir α -keto asit dehidrogenaz
CoA	: Koenzim A
DED	: Ölüm efektör bölgesi
DISC	: Ölüm sinyali içeren kompleks
EAA	: Esansiyel amino asit
ER	: Endoplazmik retikulum
FADD	: Fas- ilişkili ölüm bölgesi
Fas-L	: Fas Ligand
FES	: Fonksiyonel elektrik stimülasyon
Gzm	: Granzim
H-E	: Hematoksilen-Eozin
HMB	: β -hidroksi- β -metilbutirat
IHC	: İmmünohistokimyasal
KIM-1	: Böbrek hasar molekülü-1
mTOR	: Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi
RT-PCR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
NF- κ B	: Nükleer faktör kappa beta
TNF	: Tümör nekroz faktör
TRAIL	: TNF bağımlı apoptoz içeren ligand
α -KG	: α -ketoglutarat

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. Egzersiz ile kullanılan besin takviyelerinin literatüre göre sınıflandırılması	5
Tablo 2. Clarke'a göre sınıflandırılması hücre ölümü çeşitlerinin adlandırılması ve bu ölümlerde gözlemlenen hücre yapısında değişiklikler	16
Tablo 3. Kaspazların gelişimde, apoptozda ve diğer durumlarda görevleri	24
Tablo 4. Deneysel modellemelerde kullanılan egzersizlerin türü, avantajları, dezavantajları ve kullanım alanları	27
Tablo 5. Deneysel modellemelerde kullanılan spesifik egzersizler ve kullanım alanları	35
Tablo 6. Çalışmada kullanılan hayvanların gruplandırılması	36
Tablo 7. Egzersiz seansları ve kullanılan ağırlıklar	37
Tablo 8. Hematoksilen-Eozin Boyama Değerlendirilmesi	40
Tablo 9. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü	41
Tablo 10. İmmünohistokimyasal Boyama Değerlendirmesi	42
Tablo 11. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü	42
Tablo 12. cDNA Sentez Protokolü	45
Tablo 13. PCR Koşulları	45
Tablo 14. Real Time PCR ingradient miktarları	46
Tablo 15. Vücut ağırlıklarının haftalara göre ortalamaları	47

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1.	L-karnitinin mitokondrideki işlevi 6
Şekil 2.	BCAA katabolizmasının ana yolları ve görevli enzimler 9
Şekil 3.	Böbrek yapısı ve nefronun bölümleri 12
Şekil 4.	Apoptoz ve nekrozun çizimsel gösterimi 17
Şekil 5.	Kaspazların aktivasyon yollarının şematik gösterimi 19
Şekil 6.	Apoptozun ekstrensek yoldan başlamasının şematik hali 20
Şekil 7.	Apoptoz yolaklarının şematik gösterimi 21
Şekil 8.	Memeli kaspazlarının yapısı ve domain organizasyonu 22
Şekil 9.	Bcl ailesi üyelerinin apoptoz oluşumu üzerindeki etkisi 25
Şekil 10.	KIM-1 proteininin yapısı, alanları ve fragmente hali 26
Şekil 11.	Hayvan modellemelerinde egzersizler-1 30
Şekil 12.	Klitgaard tarafından hazırlanan egzersiz mekanizması 32
Şekil 13.	Hayvan modellemelerinde egzersizler-2 32
Şekil 14.	Hayvan modellemelerinde egzersizler-3 33
Şekil 15.	Hayvanların sırtlarına bağlanarak egzersizi dirençli hale getirmeyi sağlayan eyer şeklinde ağırlık taşıma aparatı 33
Şekil 16.	Deneysel modellemelerde kullanılan spesifik egzersizler 34
Şekil 17.	Haftalara göre ağırlık değişim ortalaması grafiği 47
Şekil 18.	Hematoksilen-Eozin boyama tübüler nekroz değerlendirme sonuçları grafiği 48
Şekil 19.	Hematoksilen-Eozin boyama vakuolizasyon değerlendirme sonuçları grafiği 49
Şekil 20.	İmmünohistokimyasal boyama değerlendirme sonuçları grafiği 52
Şekil 21.	RT-PCR Kaspaz 3 ekspresyon dağılımı grafiği 55
Şekil 22.	RT-PCR Bcl-2 ekspresyon dağılımı grafiği 56
Şekil 23.	RT-PCR KIM-1 ekspresyon dağılımı grafiği 57

RESİMLER LİSTESİ

	Sayfa No
Resim 1. Yüzme egzersizinde kullanılan ağırlıklar ve hazırlanışları	38
Resim 2. Hayvanların yüzme egzersizi için hazırlanışı	38
Resim 3. Yüzme egzersizlerinin yaptırılışı	39
Resim 4. Hayvanların yüzme egzersizi sonrası kurutulması	39
Resim 5a. Kontrol Grubuna ait böbrek dokusu kesitleri (H-E, 200x)	50
Resim 5b. BCAA Grubuna ait böbrek dokusu kesitleri (H-E, 200x)	50
Resim 5c. Egzersiz Grubuna ait böbrek dokusu kesitleri (H-E, 200x)	51
Resim 5d. Egzersiz+BCAA böbrek dokusu kesitleri (H-E, 200x)	51
Resim 6a. Kontrol grubuna ait IHC yöntemi ile anti-Caspase-3 primer antikoru kullanılarak boyanmış böbrek dokusu kesitleri (200x)	53
Resim 6b. BCAA grubuna ait IHC yöntemi ile anti-Caspase-3 primer antikoru kullanılarak boyanmış böbrek dokusu kesitleri (200x)	53
Resim 6c. Egzersiz grubuna ait IHC yöntemi ile anti-Caspase-3 primer antikoru kullanılarak boyanmış böbrek dokusu kesitleri (200x)	55
Resim 6d. Egzersiz+BCAA grubuna ait IHC yöntemi ile anti-Caspase-3 primer antikoru kullanılarak boyanmış böbrek dokusu kesitleri (200x)	55

ÖZET

Günümüzde egzersizin vücut kompozisyonunu geliştirmek amacıyla spor salonlarında yapımının yaygınlaşması, kişileri bilinçli/bilinçsiz olarak besin takviyeleri kullanımına yönlendirmektedir. Bu besin takviyelerinden birisi de dallı zincirli amino asit (BCAA) takviyeleridir. Lösin, izolösin ve valinden oluşan esansiyel amino asitlerinden oluşan BCAA takviyeleri, bu amino asitlerin kas protein sentezini arttırıcı ve intrasellüler sinyal yollarını uyarıcı etkisinden dolayı tercih edilmektedir. BCAA takviyeleri hakkında farklı dokular üzerinde çalışmalar bulunmakla beraber dirençli egzersizle böbrek üzerine etkilerini inceleyen herhangi bir çalışma mevcut değildir. Çalışma bu eksikliğin giderilmesi amacıyla planlandı. Çalışmada toplam 24 adet 2 aylık erkek Wistar Albino sıçan her bir grupta 6 adet olacak şekilde 4 grup oluşturuldu: Kontrol, BCAA, Egzersiz, Egzersiz+BCAA. BCAA gruplarına 2,5 mg/kg olarak her gün oral gavaj şeklinde BCAA takviyesi uygulandı. Egzersiz gruplarına ise haftanın 5 günü 6 hafta süresince dirençli yüzme egzersizi yaptırıldı. Çalışmanın bitiminde sıçanlardan alınan böbrek dokuları uygun koşullarda saklanarak histopatolojik, immünohistokimyasal ve genetik incelemeler yönünden değerlendirildi. Bu değerlendirmeler neticesinde, BCAA takviyelerinin böbrekte doğrudan tübüler nekroza sebebiyet vermese bile egzersiz ile birlikte tüketiminin böbrek hasarını arttırdığı belirlendi. Bununla birlikte immünohistokimyasal ve genetik bulgular birlikte değerlendirildiğinde egzersiz ile BCAA'ların apoptoz mekanizması üzerinde antagonist bir etkinlik gösterdiği tespit edildi. Bu iki sonuca ek olarak egzersizin özellikle proksimal tübül, egzersizin yanında BCAA tüketiminin ise böbreğin diğer bölümleri olan bowman kapsülü ve glomerüler membranda sorunlara yol açabileceği kanatine varıldı. Sonuç olarak BCAA takviyesi kullanımının, böbreklerde oluşturabileceği hasar/lara karşı hekim kontrolünde kullanılması tavsiye edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Dirençli Yüzme Egzersizi, Böbrek Hasarı, Besin Takviyeleri, Kaspaz 3, Dallı Zincirli Amino Asitler

ABSTRACT

The Effects of Branched Chain Amino Acid Supplement and Resistant Swimming Exercise on Kidney Tissue in Healthy Rats

Nowadays exercise to improve body composition in order to disseminate the construction of the gym, people are conscious / unconscious to guide the use of nutritional supplements. One of these nutritional supplements is the branched chain amino acid (BCAA) supplements. BCAA supplements, consisting of essential amino acids consisting of leucine, isoleucine, and valine, are preferred because of the effect of these amino acids to increase muscle protein synthesis and stimulate intracellular signaling pathways. Although there are studies on BCAA supplements on different tissues, there are no studies examining its effects on kidney with resistant exercise. Our study was planned to eliminate this deficiency. A total of 24 Wistar Albino rats of 2 months old male, were used in this study. Animals were equally allocated into four groups: Control, BCAA, Exercise and Exercise+BCAA. In BCAA groups, BCAA supplements were administered as 2,5 mg/kg oral gavage everyday. In exercise groups, resistant swimming exercise was done 5 days a week for 6 weeks. At the end of the study, kidney tissues taken from rats were stored under appropriate conditions and evaluated for histopathological, immunohistochemical and genetic examinations. As a result of these evaluations, BCAA supplements were found to increase kidney damage with exercise, even if it did not cause kidney tubular necrosis. BCAAs were found to exhibit an antagonist activity on the apoptosis mechanism. In addition to these two results, it was concluded that exercise, especially the proximal tubule, besides exercise, BCAA consumption may cause problems in the Bowman capsule and glomerular membrane, which are other parts of the kidney. As a result, we recommend that the use of BCAA supplements is used in physician control against damage to the kidneys.

Key Words: Resistant Swimming Exercise, Kidney Damage, Dietary Supplements, Caspase 3, Branched Chain Amino Acid

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde egzersiz, spor salonlarına taşınmış olup yapılma sebebi çoğunlukla vücut kompozisyonunu geliştirmek haline gelmiştir. Daha kısa sürede istedikleri görünüme kavuşmak isteyen bazı bireyler ise, egzersiz yoğunluklarını arttırıp bunun yanında besin takviyelerine yönelmektedirler. Son dönemlerde bu ürünlere erişimin kolay olması ve özellikle spor salonu işletmecilerinin büyük bir çoğunluğunun bu ürünleri tavsiye edip pazarlaması bilinçli/bilinçsiz bu ürünlerin kullanımını arttırmıştır. Bu ürünlerden yaygın olarak kullanılanlardan bir tanesi de dallı zincirli amino asit (BCAA) takviyeleridir. BCAA takviyeleri, kas yapımını arttırıcı ve kas yıkımını azaltıcı etkinlik gösterdiği düşünülmektedir, mental ve fiziksel performansı geliştirmek amacı ile kullanılmaktadır. BCAA takviyelerinin düşünülen bütün olumlu etkilerinin yanında birtakım organlar üzerinde ise bazı olumsuz sonuçlar doğurabileceği ifade edilmektedir (Rencüzoğulları ve ark., 2018). Metabolizma ve homeostaz için hayati öneme sahip olan böbrekler de bu organlardan birisidir. Böbrekler zararlı maddeleri organizmadan uzaklaştırırken, vücuda yarar sağlayan maddeleri ise geri emilim yolu ile vücutta tutarlar. Böbrekler bu fonksiyonlarını yerine getirirken sınırlı kapasite ile çalışmaktadırlar. Örneğin amino asitler böbrekler tarafından tutulan vücut için faydalı maddeler olmakla beraber bazı durumlarda plazma amino asit düzeyinin artışı nefronun geri emme kapasitesini aşabilir (Preston ve Wilson, 2016). Özellikle spor yapan bireylerde bilinçsiz bir şekilde tüketilen BCAA takviyeleri, kandaki amino asit konsantrasyonlarının artmasına sebebiyet verebilirler. Bunun sonucunda amino asitlerin böbreklerden geri emilimlerinde zorluklar yaşanması beklenen bir durum haline gelmektedir.

Literatürde bulunan bazı çalışmalar BCAA takviyesinin apoptozu etkilediğini göstermiştir. Yapılan bir çalışmada insülin indüklenen hepatik tümör proliferasyonunda BCAA'ların mTOR yolağını etkileyerek apoptozu uyardığı belirlenmiştir (Hagiwara ve ark., 2012). Akçaağaç şurubu hastalığı modellemesi yapılan başka bir çalışmada ise nöronlarda ve glial hücrelerde BCAA birikiminin doza ve süreye bağlı olarak apoptozu indüklediği sonucuna varılmıştır (Jouvet ve ark., 2000). Diğer bir çalışmada ise kronik karaciğer hastalığı modellemesinde BCAA takviyelerinin karaciğer apoptozunu azalttığı ifade edilmiştir (Kuwahata ve ark., 2012).

Yaptığımız araştırmalar neticesinde detoksifikasyon yapma, hormon salgılama, pH'ı düzenleme gibi pek çok hayati işleve sahip olan böbrekler üzerinde BCAA takviyelerinin kullanımı olumlu/olumsuz nasıl bir etkinlik gösterdiğine dair herhangi bir bilgiye erişilememiştir. Bu nedenle son yıllarda özellikle spor yapan bireylerde bilinçli/bilinçsiz tüketimi yaygınlaşan BCAA takviye kullanımlarının böbrekler üzerinde nasıl bir etkinlik göstereceğinin ortaya çıkarmayı amaçladık. Bu amaç doğrultusunda, spor salonlarını kadınların fit bir görünüş için, erkeklerin ise fit görüntüyü elde etseler bile ilerleyen süreçte kas kitlesini arttırma arzuları nedeniyle tercih etmeleri göz önüne alınarak deneysel modelleme yaptığımız çalışmamızda erkek sıçan kullanımı tercih edilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Egzersiz

2.1.1 Egzersizin Tanımı ve Yapılma Amaçları

Günlük hayatın vazgeçilmezi olan fiziksel aktivite, ev işlerinden egzersize kadar uzanan geniş bir terimdir. Tam tanımlamak gerekirse fiziksel aktivite; bazal düzeyin üzerinde enerji harcamayı gerektiren, iskelet kaslarının kasılmalarıyla yapılan bedensel hareketlerdir (Ardıç, 2014). Egzersiz ise fiziksel aktivitenin bir türüdür. ABD Hastalık ve Koruma Merkezleri tanımına göre egzersiz; planlı, tekrarlı, vücudu koruma veya geliştirme amacına yönelik yapılan hareketler bütünüdür (Booth ve ark., 2012). Egzersiz bazı hastalıklardan korunma veya tedavi edici olarak kullanılabileceği gibi kardiyovasküler uygunluğu, kas gücü ve dayanıklılığını, esneklik ve vücut kompozisyonu geliştirmek amacıyla da yapılabilir (Ardıç 2014; Idorn ve thorStraten, 2017).

Hastalıktan korunma ve tedavi açısından bakıldığında, egzersiz-sağlık ilişkisi milattan önce 5. yüzyıla kadar dayanmaktadır. Hipokrat bu ilişkiyi “Sadece yemek yemek bir adamı sağlıklı yapmaz, mutlaka egzersiz de yapılmalıdır. Yemek ve egzersiz ikisi birlikte sağlık üretmek için çalışır” sözleriyle açıklamıştır (Sallis, 2009). Günümüzde yapılan birçok çalışma da bu ilişkiyi açığa çıkarmaktadır. Egzersiz ve kanser üzerine yapılan bir çalışmada egzersizin tümör gelişimini önleyebileceği veya geciktirebileceği sonucuna varılmıştır (Idorn ve thorStraten, 2017). Diabetes mellitus üzerine yapılan bir çalışmada ise özellikle aerobik tarzda egzersizin tip 2 diabetes mellitus tedavisinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir (Thent ve ark., 2013). Bunların dışında egzersiz osteoartrit, fibromiyalji, romatoidartrit gibi birçok hastalıkta da tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Daenen ve ark., 2015).

Sağlıklı kişilerin yaptığı egzersizlere bakıldığında ise çoğunlukla kişinin kilo verme ve dış görünüşünü değiştirmek amacı taşıdığı görülmektedir. Bu amaçla yapılan egzersizleri “vücut geliştirme” terimi etrafında toplamak mümkündür. Vücut geliştirme, başlı başına bir spor branşı olmasına rağmen estetik hedeflere ulaşmak için de kullanılan bir terim haline gelmiştir (Dutton ve Laura, 1989; Maier ve ark., 2019). Vücut geliştirme isteğinin altında yatan gerekçe ve amaçlar tartışmaya açık olmakla birlikte esas olan şudur ki vücut geliştirme gittikçe yaygınlaşarak sağlıklı

insanlarda spor amacının temelini oluşturabilmektedir. Özetleyecek olursak; her ne kadar bireyler vücut geliştirme olarak tanımlasalar da yapmış oldukları yoğun egzersizlerin temel amacı kilo vererek estetik bir görünüme sahip olma isteğidir. Bu nedenle amaçlarına daha kısa sürede ulaşmak ve daha az aktivite ile en yüksek verimi alabilmek için bilinçli/bilinçsiz bir şekilde hekim kontrolü ve onayı olmaksızın bazı katı/sıvı besin takviyelerine yönelebilmektedirler.

2.1.2. Egzersiz ile Kullanılan Takviyeler

Egzersiz ile kullanılan takviyeler enerji ihtiyacını karşılamak ve besin sağlamak amacıyla tasarlanan karbonhidrat, protein, yağ, mineral, vitamin, bitki, enzim veya ekstrasit içeren enerji barı, öğün yerine kullanılan tozlar veya hazır içeceklerdir. Bu takviyeler kilo kazanımı, kilo kaybı ve performans artışını da etkileyebilmektedirler. Kullanım şekli ve türüne göre farklı gruplandırmalara sahip olmakla birlikte literatüre göre “etkinliğini destekleyen güçlü kanıtlar olan ve güvenli görünen takviyeler, etkinliğini destekleyen kanıtlar limitli veya çelişkili olan takviyeler ve etkinliğini destekleyen kanıt olmayan ve/ya güvenliği olmayan takviyeler” olarak üç ana başlıkta toplanabilir. Bu gruplandırmanın ayrıntılı listesi Tablo 1.’de verilmiştir (Kerksick ve ark., 2018).

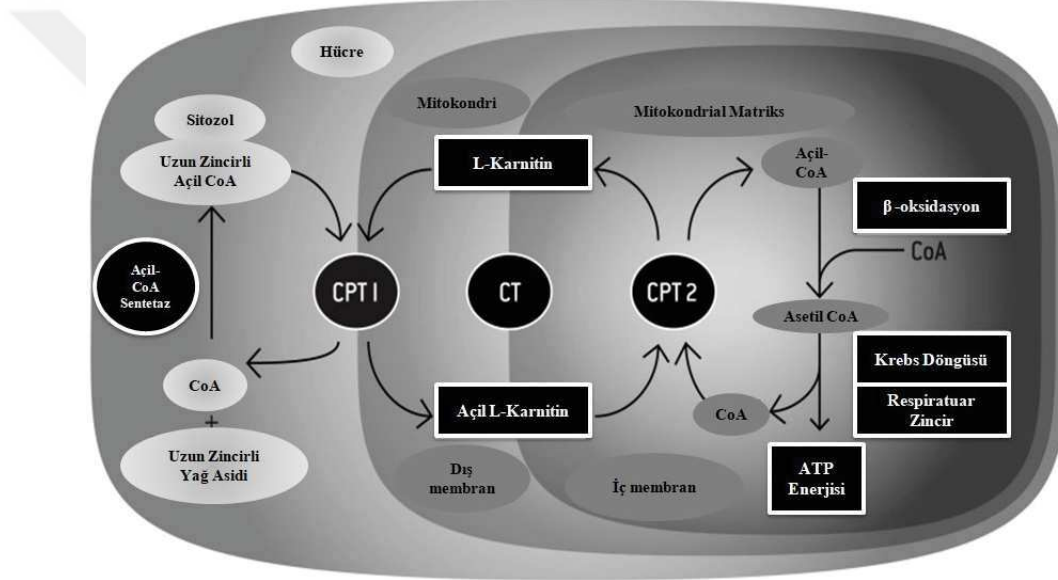
Besin takviyesi olarak kabul edilen bitki ekstrasitleri, mineral ve vitamin desteklerinin yanı sıra sporcularda spor takviyeleri olarak kabul edilen kreatin, amino asit, yağ yakıcı ürünler, riboz ve androstenodion da kullanılmaktadır (Brown, 2016). Waller ve ark. (2015)’nın 242 sporcu üzerinde yaptığı anket çalışmasında en sık bildirilen takviyelerin spor içecekleri (% 70), kafein (% 48), protein tozu (% 42) ve spor barları (% 42) olduğu belirtilmiştir. Knapik ve ark. (2016) ise, sporcuların kullandığı takviyeler üzerine yaptığı bir meta-analizde ise veri yetersizliklerine rağmen erkek sporcuların en sık kreatin, protein tozu ve amino asit takviyeleri kullandığını ifade etmiştir. Amino asit takviyeleri üzerine yapılan çalışmaları inceleyen Goron ve Moinard (2018) ise yaptıkları derlemede, ergojenik takviye olarak kullanılan dallı zincirli amino asit olan lösinin etkisinin daha iyi incelenmesi gerektiğini söylemişlerdir. Bu bilgilerden yola çıkarak yapmış olduğumuz literatür taramalarında en sık kullanılan besin takviyeleri aşağıda açıklanmıştır.

Tablo 1. Egzersiz ile kullanılan besin takviyelerinin literatüre göre sınıflandırılması (Kerksick ve ark., 2018).

Kategori	Kas Geliştirici Takviyeler	Performans Geliştirici Takviyeler
Etkinliğini Destekleyen Güçlü Kanıtlar Olan ve Güvenli Görünen Takviyeler	• β-hidroksi- β-metilbutirat (HMB) • Kreatin monohidrat • Esansiyel amino asitler (EAA) • Protein	• β-alanin • Kafein • Karbonhidrat • Kreatin monohidrat • Sodyum bikarbonat • Sodyum fosfat • Su ve sporcu içecekleri
Etkinliğini Destekleyen Kanıtlar Limitli veya Çelişkili Olan Takviyeler	• Adenosin-5'-trifosfat (ATP) • Dallı zincirli amino asitler • Fosfatidik asit	• L-alanil-L-glutamat • Araşidonik asit • Dallı zincirli ve esansiyel amino asitler • Sitrulin, gliserol • β-hidroksi- β-metilbutirat (HMB) • Nitratlar • Egzersiz sonrası karbonhidrat ve protein • Quercetin ve taurin
Etkinliğini Destekleyen Kanıt Olmayan ve/ya Güvenliği Olmayan Takviyeler	• Agmatin sülfat • Alfa-ketoglutarat • Arjinin • Bor • Krom • Konjugelinoleik asit • D-Aspartik asit • Ecdysterone • Çemen özü • Gama orizanol (Ferulik asit) • Glutamin • Büyüme hormonu salgılatıcı peptidler ve sekretagoglar • İzoflavonlar • Ornitin-alfa-ketoglutarat • Prohomonlar • Sülfopolisakkaritler • Tribulusterrestris • Vanadil sülfat • Çinko-magnezyum, aspartat	• Arjinin • Karnitin • Glutamin • İnosin • Orta zincirli trigliseritler (MCT) • Riboz

2.1.2.1. L-karnitin

L-karnitin, bütün memeli türlerinde doğal olarak bulunan, vitamin C, vitamin B6, niasin ve demirle katalize edilen dört enzimatik reaksiyonla temel amino asitler olan lizin ve metiyoninden sentezlenen bir amindir. Biosentezi karaciğer, böbrekler ve beyinde gerçekleşmekle beraber, bu sentez günlük ihtiyaçların sadece % 25'ini karşılamakta geri kalan miktarı ise ekzojen olarak hayvansal besinlerden temin edilmektedir (Fielding ve ark., 2018). Oral yolla alınan L-karnitinin emilimi, bağırsaklardan aktif taşıma ve difüzyon yoluyla gerçekleşir.



Şekil 1. L-karnitinin mitokondrideki görevi (Fielding ve ark., 2018).

Fizyolojik olarak bakıldığında L-karnitin, periferel dokularda orta ve uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriye girişini arttırma yoluyla β -oksidasyonuna yardımcı olmak, hücre membranını korumak, DNA hasarına karşı serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltmak ve düşük asetil CoA/CoA konsantrasyon oranını stabilize etmek gibi önemli görevlere sahiptir. L-karnitin bu önemli fonksiyonlarından dolayı besin sınıfında bulunur ve besin takviyesi olarak kullanımı oldukça yaygındır (Agarwal ve ark., 2018).

2.1.2.2. Peynir Altı Suyu Proteini

Peynir altı suyu proteini, peynir üretimi sırasında ortaya çıkan bir yan üründür. Takviye olarak hazırlaması ise sütün karmaşık süreçlerde filtrasyonu ile gerçekleşir. Hızlı sindirilen peynir altı suyu proteinin içeriğinde yüksek oranda esansiyel ve dallı zincirli amino asitler (özellikle lösin) ile birlikte β -laktoglobülin, α -laktoalbumin, laktoferrin, glikomakropetit, sığır immünoglobulinleri, proteoz-pepton bileşeni, laktoperoksidazlar bulunmaktadır (Devries ve Phillips, 2015; Yadav ve ark., 2015; McAdam ve ark., 2018). Bu içeriği nedeniyle peynir altı suyu proteini takviyesi, kas kütlelerini ve kalitesini iyileştirmek amacıyla özellikle dirençli egzersiz yapan sporcularda yaygın olarak kullanılmaktadır (Huang ve ark., 2017). Peynir altı suyu proteini takviyesi kas geliştirici etkisinin yanı sıra içerdiği sistein ve metionin ile antioksidan etkisi de mevcuttur. Yapılan çalışmalarda, bu etkiyi hücre içinde glutatyon sentezini arttırarak gerçekleştirdiği ifade edilmiştir (Kerasioti ve ark., 2018).

2.1.2.3. Kreatin

Kreatin, 1832 yılında keşfedilen bir amindir. Vücutta, çok büyük oranda iskelet kaslarında bulunmaktadır. Kreatin endojen olarak karaciğer, böbrekler ve daha az miktarda pankreasta olmak üzere günde yaklaşık olarak 1 gram civarında üretilmektedir. Eksik kalan kreatin ise diyet yoluyla alınan temel amino asitlerden (arjinin, metiyonin) ve esansiyel olmayan glisin amino asitinden sentezlenmektedir. Yüksek enerji gereksinimi olan hücrelerde fosfokreatin formunda kreatin kullanılmaktadır. Fosfokreatin, adenosin difosfattan (ADP) adenosin trifosfat (ATP) üretmek için bir fosfat kaynağı olarak görev almaktadır.

Kreatin takviyesi, yapılan çalışmalar nedeniyle daha da yaygın hale gelmiştir. Bu çalışmalar kreatinin kısa süreli kullanımının güvenli ve olumsuz etkilerinin olmadığını, kısa süreli maksimum yoğunlukta dirençli egzersizlerde performansın arttırılmasını sağlayacağı ifade edilmektedir. Ancak uzun süreli kullanımı hakkında verilerin eksikliği nedeniyle temkinli yaklaşılması tavsiye edilmektedir (Hall ve Trojian, 2013; Butts ve ark., 2018).

2.1.3. Dalı Zincirli Amino Asit Takviyeleri

Dalı zincir amino asitler, lösin, izolösin ve valinden oluşan esansiyel amino asitlerdir. Bu amino asitlerden lösin, kas protein sentezini arttırıcı etkisinin yanı sıra intrasellüler sinyal yollarını da düzenlemektedir. Bu etkileri nedeniyle BCAA'lar kas protein sentezini arttırıcı olarak kullanılmaya başlanmış ve yapılan çalışmaların bu durumu desteklemesi kullanımını arttırmıştır (Wolfe, 2017). Kullanımdaki bu artış özellikle sporla ilgilenen bireylerde gözlemlenmektedir (Van Dusseldorp ve ark., 2018).

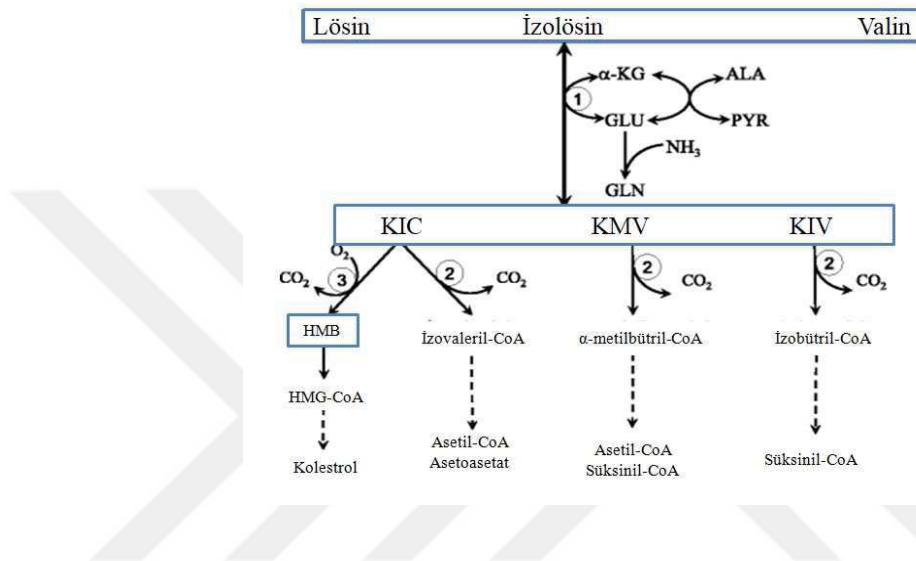
2.1.3.1. Dalı Zincirli Amino Asitlerin Özellikleri

Alifatik yan zincirlere sahip proteinojenik amino asitler olan BCAA'lar, lösin, izolösin ve valinden oluşmaktadır. Peptid sentezinin yanı sıra sterol, keton cisimcikleri ve glikoz sentezinde de rol oynarlar (Bifari ve Nisoli, 2017). Aynı zamanda organizmaların büyümesini ve gelişmesini gerçekleştirirken organizmanın sağlığını geliştirmek için kilit metabolik yollara katılarak düzenleyen fonksiyonlara da sahiptirler (Zhou ve ark., 2018). Memelilerde, büyük oranda kaslarda bulunmakla beraber rutinde alınan pek çok besin maddesinin içinde mevcut olmalarından dolayı genellikle eksiklikleri görülmez (Arany ve Neinast, 2018).

Bağırsaklardan absorbe edilen BCAA'lar, hepatik metabolizmaya girmeden doğrudan sistemik dolaşıma katılırlar. Bunun sebebi, dalı-zincirli-amino-asit aminotransferaz (BCAT) enziminin karaciğerdeki düşük aktivesidir. Bu yüzden protein alımından sonra kandaki miktarı hızlıca artar ve dolaşıma katılan BCAA'ların % 95-99'u proksimal tübüllerden olmak üzere böbreklerden reabsorbe edilirler (Bifari ve Nisoli, 2017; Holeček, 2018).

Esansiyel amino asitler ve protein sentezinin ana düzenleyicileri olmaları nedeniyle BCAA katabolizması hem allosterik hem de kovalent mekanizmalarla düzenlenir. Bu mekanizmanın nasıl gerçekleştiği tam olarak bilinmemektedir. Diğer amino asitlerin aksine, BCAA katabolizması karaciğerde değil iskelet kası, beyin ve beyaz adipoz dokuda gerçekleşmektedir. BCAA katabolizması, mitokondrial enzim BCAT ile başlar ve üç BCAA için de ortaktır. BCAA'lar BCAT ile reaksiyona girerek dalı zincirli keto asitleri (BCKA) oluştururlar. Katabolizmanın ikinci enzimi,

iç mitokondri membranının yüzeyinde yerleşmiş multienzim kompleksi olan dallı-zincir α -keto asit dehidrogenaz (BCKD)'dır. BCKD aktivitesi, karaciğerde yüksek, kalp ve böbreklerde orta, kas ve adipoz dokuda düşüktür. Bu enzim BCKA'lerden dallı zincirli açıl-CoA esterler oluşumunu katalizler. BCKD reaksiyonunun ardından, BCAA'nın metabolizması farklı yollara ayrılmaktadır (Bifari ve Nisoli, 2017; Holeček, 2018).



Not: ALA, alanin; GLU, glutamat; GLN, glutamine; HMB, β -hidroksi- β -metilbütirat; HMG-CoA, 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA; KIC, α -ketoizokaproat (ketolösın); KIV, α -ketoizovalerat (ketovaline); KMV, α -keto- β -metillvalerat (ketoizolösın); α -KG, α -ketoglutarat. 1, dallı-zincir-amino-asit aminotransferaz (BCAT); 2, dallı-zincir α -keto asit dehidrogenaz (BCKD); 3, KIC dioksijenaz

Şekil 2. BCAA katabolizmasının ana yolları ve görevli enzimler (Holeček, 2018).

Hem anabolik hem de anti-anabolik etkilere sahip olan BCAA'lar, protein sentezini artırıp protein degradasyonunu durdurarak bu işlevleri gerçekleştirmektedirler. Ayrıca insülin biogenezisini ve sekresyonunu artırıcı etkiye de neden oldukları ifade edilmektedir. BCAA'ların arasından bu etkiyi en fazla gösteren lösın amino asitidir. Vücutta lösın oksidasyonunun artışı, alanin ve glutamin miktarlarını da artırır. Alanin oranının artması glukoneogenezis ve üregenezisi

arttırır. Glutamin ise amonyak üretimini hızlandırarak asit- baz dengesini korumaya yardımcı olmaktadır (Pitkänen ve ark., 2003; Kimball ve Jefferson, 2006).

Çeşitli hastalıklarla serum BCAA miktarı arasında bağlantılar kurulduğu belirtilmektedir (Zhang ve Han, 2017). Yapılan bir çalışmada, serum BCAA düzeyi ile kardiyovasküler sistem hastalıkları arasındaki bağlantı ortaya konulmuştur (Ruiz-Canela ve ark., 2016). Başka bir çalışmada ise, BCAA katabolizmasının bozulması ile otizm spektrum bozukluğu ilişkilendirilmiştir (Tărlungeanu ve ark., 2016). Diğer bir çalışmada ise diz osteoartritlerinde, serum BCAA/histidin oranının yeni bir biyobelirteç olabileceği ifade edilmiştir (Zhai ve ark., 2010). Dolaşımdaki BCAA seviyelerini inceleyen bir çalışmada ise, serum BCAA miktarlarındaki artışın pankreatik adenokarsinomda kanser gelişiminde erken bir kanıt oluşturduğu belirtilmiştir (Mayers ve ark., 2014).

2.1.3.2. Dalı Zincirli Amino Asit Takviyeleri Kullanımı ve Hakkında Yapılan Çalışmalar

Dalı zincirli amino asit takviyeleri ticari anlamda, esansiyel amino asitlerin fiziksel egzersiz sırasında ihtiyacına dayanarak üretilmiştir (Yin ve ark., 2010; Xiao ve ark., 2015). Bununla birlikte esansiyel amino asitler arasında bulunan lösinin, özellikle anabolik etkilerinden de faydalanılmak istenilmiştir (Pitkänen ve ark., 2003). Bu nedenle vücut geliştirme ve kas kuvvetini arttırmaya yönelik egzersizlerde sıklıkla kullanılmaktadır (Wolfe, 2017). Yapılan pazar araştırmaları neticesinde, spor takviyelerinin pazarlamasının ve tüketiminin zaman içerisinde daha da artış göstereceği tahmin edilmektedir (<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/sports-nutrition-market> Erişim tarihi: 26.05.2020). Son dönemlerde, bilim dünyasında bu konu hakkında yapılan çalışmaların büyük bir artış göstermesi, konunun bilim insanları tarafından da dikkatle takip edildiğini göstermektedir. Bu durum, bilimsel olarak kullanılan Pubmed veri tabanında açıkça görülmektedir. 2007 yılında 31 tane olan BCAA takviyeleri hakkındaki araştırma sayısı, 2020 yılının sadece ilk iki ayında (ocak-şubat) yayınlanan çalışma sayısı 14 adet olarak tespit edilmiştir (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=branched+chain+amino+acid+supplement&timeline=expanded> Erişim tarihi: 04.03.2020).

Yapılan araştırmalara bakıldığında BCAA takviyeleri kullanımının pozitif etkileri olduğu gör÷lmektedir. Yapılan bir çalışmada on haftalık BCCA takviyesinin, bisikletçilerin splint g÷c÷n÷ arttırdığı belirlenmiştir (Kephart ve ark., 2016). Başka bir çalışmada ise, egzersiz seti yapan kişilerde uygulanan BCAA takviyesinin, egzersiz sonrası kas ağrılarını azaltıcı etkisinin olduğu açığa çıkarılmıştır (Jackman ve ark., 2010). Y÷ksek yoğunluklu egzersiz yaptırılan bireyler ÷zerine olan bir çalışmada ise BCAA takviyesinin, plazma ve kas BCAA konsantrasyonlarını arttırdığı, b÷ylece protein üretimini desteklemek için protein sentezi, enerji üretimi için ise substrat mevcudiyetine katkı verdiği g÷sterilmiş ve bu sayede egzersize bağlı kas hasarını azalttığı sonucu ortaya koyulmuştur (Sharp ve Pearson, 2010).

Bununla birlikte yapılan bazı çalışmalarda ise BCAA takviyeleri kullanımının negatif etkilerinin olduğu ifade edilmektedir. Eksentrik egzersiz yaptırılan bir çalışmada, BCAA takviyesinin kas hasarını engellemede yetersiz kaldığı bulunmuştur (Fouré ve ark., 2016). Sıçanlara yoğun egzersiz yaptırılan bir çalışmada ise BCAA takviyesinin koroner aterosklerotik s÷re ve miyokardiyal hasar ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Renc÷zoğulları ve ark., 2018). Yapılan başka bir çalışmada ise BCAA artışının oksidatif stresi ve NF-k aktivasyonunu sağladığı ifade edilmiş ve bu nedenle BCAA takviyesi kullanımının sporcularda bu mekanizmayı etkileyebileceği öne sür÷lmüştür (Zhenyukh ve ark., 2017).

2.2. Böbrekler

2.2.1. Böbrek Anatomisi

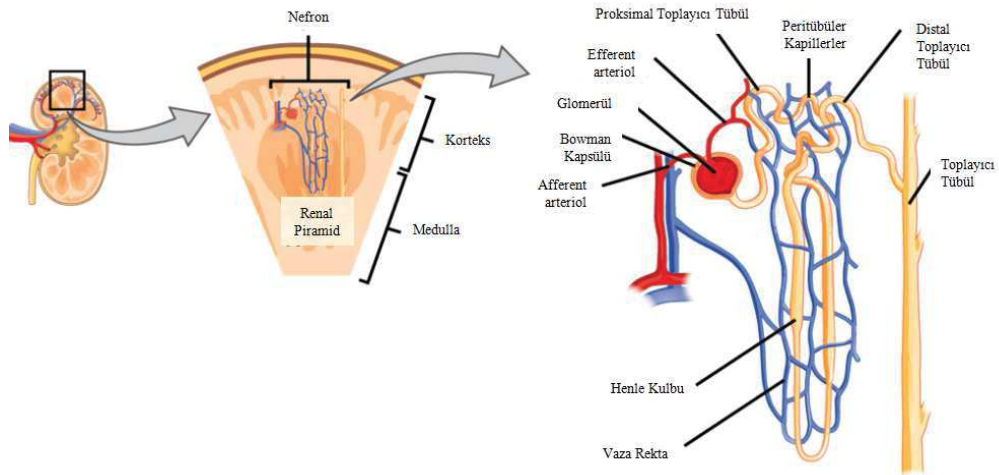
Böbrekler vertebral kolonun her iki yanında, karın arka duvarına yakın olarak periton boşluğunun dışında bulunan fasulye şeklindeki organlardır (Eaton ve Pooler, 2005; Arınsoy ve ark., 2017). Böbrek anatomisi hakkındaki bilgiler Yıldırım (2006)'ın İnsan Anatomisi kitabından anlaşılır biçimde aşağıdaki gibi özetlenmiştir;

Böbrekler longitudinal uzunluğu yaklaşık 3 vertebra boyutunda olup genellikle 12. torakal vertebra ile 3. lomber vertebra aralığında uzanırlar. Yaklaşık olarak uzunluk 12-13 cm, en 6-7 cm ve ön arka genişlik 3 cm boyutlarındadır. Sağ böbrek, üst kısmında yer alan karaciğer nedeniyle biraz daha aşağı yerleşimlidir. Sol böbrek

sağ böbrekten 1 cm kadar daha uzun olmakla beraber yetişkin bir bireyde her bir böbreğin ortalama ağırlığı 130-150 gram civarındadır.

Böbreklerin dışı konveks, içi konkav yapıdadır ve konkav iç kenarın en orta bölümü hilum olarak isimlendirilir. Hilumda renal arter, renal ven, sinirler ve idrarı mesaneye taşıyan üreter bulunmaktadır.

Böbrek frontal olarak kesildiğinde üç farklı bölge görülür. Bu bölgeler içten dışa doğru pelvis renalis, medulla renalis ve korteks renalisdir. Pelvis renalis, tepesi hilum renaleden çıkmış, üreterle uzanan, gövdesi sinüs renalis içine oturmuş kas ve zar yapılı huni şekilli bölümdür. Medulla renalis, tabanı korteks renalis tepeleri minör kalikslere oturan piramidal yapıdır. Korteks renalis ise çok sayıda düz ve kıvrımlı borucuklar, kan damarları ve corpusculum renalelerden oluşmaktadır.



Şekil 3. Böbrek yapısı ve nefronun bölümleri (<https://courses.lumenlearning.com/wmbiology2/chapter/kidneys/> Erişim tarihi 04.03.2020).

Böbreklerin kanlanmasını arteria renalis sağlar. A. Renalisler, a. mesenterica superior'un hemen aşağısından aorta abdominalis'in yan yüzlerinden çıkarlar ve aorta abdominalis'in en büyük dallarıdır. Her renal arter hiluma girdikten sonra ramus anterior ve ramus posteriora ayrılır. Ramus posterior bir segmenti kanlandırırken ramus anterior diğer dört segmenti kanlandırır. Böbreklerden kanın

çıkışı ise vena renalisten olur. Vena renalisler böbrekten çıkarak pelvis renalis ve arteria renalisin önünden geçerek vena cava inferiora dökülürler.

Kalp atımının % 20-25'ini böbrekler kullanır. Bu da dakikada 1,2 litre günde ise 1700 litreye tekabül etmektedir. Bu kanın 1/10'u kadarı glomerüler filtratı oluşturur. Glomerüler filtratın % 1'i kadarından ise idrar oluşur. Bu süreçte kan yaklaşık olarak 340 defa böbreklerde süzölmektedir (Yıldırım, 2006).

2.2.2. Böbrek Fizyolojisi

Böbrekleri içeren üriner sistemin embriyonik gelişimi mezoderm ve ektodermin karmaşık ilişkisiyle gerçekleşir. Gebeliğin ilk dört haftasında pronefroz adı verilen fonksiyonel olmayan mezoderm yoğunlaşması şeklinde ilk böbrek dokusu gelişir (El-Galley ve Keane, 2000). Dördüncü haftadan sonra pronefrozlar gerilemeye başlarken esas böbrek yapısı oluşuncaya kadar işlev görecektelen mezonefrozlar oluşur. Mezonefrozların işlevsellikleri yaklaşık dört hafta sürer. Ardından kalıcı böbreklerin erken dönemi olan metanefrozlar gelişmeye başlar. Bu süreçte yani embriyonun beşinci haftasında başlayan gelişmeye rağmen metanefrozların fonksiyonelliğı dört hafta sonrasında başlar. Esas böbrek yapısı ise metanefrik divertiköl (üreter tomurcuğı) ve ara mezodermin metanefrik kısmından (metanefrik blastem) gelişmektedir. Fötal dönemde loböler şekilde bir böbrek yapısı oluşur ve bu yapı dokuzuncu haftadan itibaren glomeröler filitrasyon yapar ancak tam fonksiyonlarını doğumdan sonra gerçekleştirir. Bu süreçte ise nefron oluşumu ve gelişimi devam eder. Lobölasyon ise infant döneminde kaybolmaktadır (Yaylalı, 2015; Deniz, 2018).

Gelişimini tamamlayan bir böbreğin görevlerine bakıldığında ise ilk bilinen filitrasyon görevi dışında pek çok görevi olduğı görölmektedir. Böbreğin bütün görevleri altı madde olarak sıralanmıştır (Guyton ve Hall, 2013).

1.Yabancı maddelerin ve metabolik atıkların uzaklaştırılması: Böbrekler metabolik atıkları ve yabancı maddeleri idrarla vücuttan uzaklaştırırlar. Protein yıkım ürünü olan üre, nükleik asit yıkım ürünü olan ürik asit kas kreatin yıkım ürünü olan kreatinin, hemoglobin yıkım ürünü olan bilüribin, değışik maddelerin metabolitleri

ile toksinler, pestisitler, ilaçlar ve besin katkı maddeleri gibi maddelerin vücuda zarar vermesini engellerler.

2.Su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi: Homeostazisin dengede tutulması için su ve elektrolit dengesinin sağlanması gereklidir.

3.Asit-baz dengesinin düzenlenmesi: Böbrekler akciğerlerle birlikte tamponlama sisteminde yer alırlar. Bunu asidik veya bazik idrar atılımıyla yaparlar. İdrarın bu şekilde atılımında tübüllerden filtre edilen bikarbonat iyonları görevlidir.

4.Arterial kan basıncının düzenlenmesi: Böbrekler su ve sodyum iyonu çıkışlarını değiştirerek uzun süreli arter basıncının düzenlenmesinde rol oynar. Ayrıca renin salgılayarak kısa süreli düzenlemede de görev alır (Guyton ve Hall, 2013).

5.Hormonların salgılanması: Böbrekler eritrosit yapımını kontrol eden eritropoietin, anjiotensin yapımını kontrol ederek kan basıncı ve sodyum dengesini etkileyen renin, kalsiyum dengesini etkileyen 1,25 dihidroksivitamin D hormonlarını kana sekrete ederek endokrin bir organ görevine de sahiptir (Widmaier ve ark., 2010).

6.Glukoneojenez: Böbrekler uzun süreli açlık sırasında kana glikoz ilave etmek amacıyla diğer monomerlerden glikoz sentezlerler (Guyton ve Hall, 2013).

Bütün bu bilgilerin yanı sıra böbreklerde hücre ölümü, böbrek hastalıklarının patofizyolojisinin temelini oluşturmaktadır. Hücre ölümlerinin lokalizasyonu açısından bakıldığında renal yaralanmalarda hücre ölümü tübüler ya da glomerüler kısımda şekillenebilir. Bu ölümler proksimal tübül hücreleri, distal tübül hücreleri, endotel hücreler ve glomerüler hücreler gibi farklı tip hücrelerde görülebilmektedir. Görülen hücre ölümlerinin çeşidine bakıldığında apoptoz, nekroz ve otofajinin olduğu bilinmektedir. Böbrek- apoptoz ilişkisine bakıldığında ise özellikle gelişim

çağında apoptozun renal hücrelerde fazla olduğu bilinmektedir. Gelişim çağında görülen apoptozda hem hücresel düzeydeki moleküllerde hem de genetik ekspresyonlarda artışlar mevcuttur. Olgun insan böbreğinde ise apoptoz neredeyse hiç görülmez. Görüldüğü durumlarda böbrek hasarlarından bahsedilebilir. Kronik böbrek hasarı, renal iskemi/reperfüzyon, nakil sonrası akut ve kronik böbrek yetmezliği, toksik renal maruziyet gibi durumlar apoptoz görülen renal bozukluklara örnek gösterilebilir (Priante ve ark., 2019). Bu bilgilere dayanarak erişkin bireylerin böbreklerinde bir maddenin etkisini öğrenmek açısından apoptoz durumunun incelenmesi iyi bir belirteç olabilir.

2.3. Apoptoz

2.3.1. Hücre Ölümü

Hücre ölümü hücresel bütünlüğün dönüşümsüz dejenerasyonu olarak tanımlanmaktadır. Bilim dünyasında ilk dönemlerde yaşamın bir gerçeği olarak olağan ve önemsiz bir ölüm olarak kabul görmüşken ilerleyen dönemlerde ve yapılan araştırmalar sonucunda potansiyel olarak zararlı hücrelerin de ortadan kaldırılması için gerek duyulan bir mekanizma olduğu kabul görmüştür. Hücre ölümü, düzenlenmiş ve ani olarak ikiye ayrılmaktadır. Ani hücre ölümü aşırı fiziksel, kimyasal veya mekanik problemlerin neden olduğu, plazma zarının fiziksel olarak zarar görmesine karşılık çok hızlı ve kontrol edilemeyen hücre ölümünü olarak tanımlamaktadır. Düzenlenmiş hücre ölümü ise bir veya daha fazla sinyal iletim yolağının aktivasyonundan kaynaklanan ve farmakolojik veya genetik olarak modüle edilebilir hücre ölümü formu olarak tanımlanmaktadır. Düzenlenmiş hücre ölümü multisellüler hücre formlarında organizmanın homeostazisinin sürdürülmesinde görevlidir. Hem patolojik hem de fizyolojik süreçlerde yer almakla beraber ekzojen ve endojen mekanizmalarla düzenlenmektedir.

Hücre ölümü makroskopik ve morfolojik değişikliklerle kendini gösterir. Bilim dünyasında uzun zamandır hücre ölümlerini, makroskopik ve morfolojik değişiklikleri ve ölü hücrelerin parçalarının atıldığı mekanizmaları inceleyerek: tip 1, tip 2 ve tip 3 olarak sınıflandırmıştır (Galluzzi ve ark., 2018). Hücre ölümleri ve ayrıntılı bilgiler Tablo 2.'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

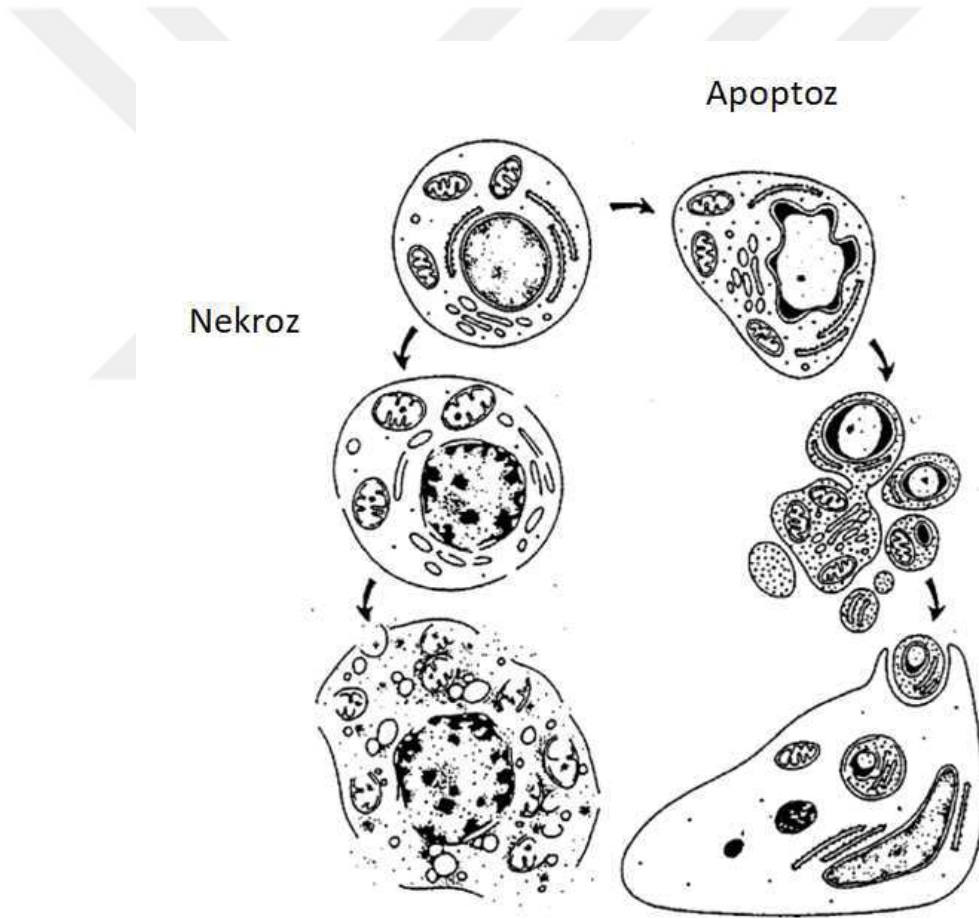
Tablo 2. Clarke'a göre sınıflandırılması hücre ölümü çeşitlerininadlandırılması ve bu ölümlerde gözlemlenen hücre yapısında değişiklikler (Clarke, 1990; Van Cruchten ve Van Den Broeck, 2002).

	Çeşitli Adlandırmalar	Nükleus	Hücre Membranı	Sitoplazma	Heterofajal Eliminasyon
Tip 1	Apoptoz; büzülen nekroz; erkenci piknoz; nükleer tip hücre ölümü	Nükleer yoğunlaşma, belirgin piknoza yol açan kromatinin topaklanması	Kabarcıklar oluşturan kıvrımlı	Retiküler endoplazmik retikulum ve polizomlardan ribozom kaybı; sitoplazmada azalan hacim ve elektron yoğunluğu oluşması	Çıkıntılı ve önemli
Tip 2	Otofajik hücre ölümü	Bazı durumlarda piknoz, nükleer segmentlerde patlama veya ayrılma	Endositoz, hücre çıkıntıları oluşması muhtemel	Otofaji vakuollerin fazlalığı, zaman zaman endoplazmik retikulum ve mitokondride açılmalar, golgi apartı sıklıkla genişlemiş	Nadiren ve geç
Tip 3 A	Lizozomal olmayan disintegrasyon	Dezintegrasyon aracılığıyla takip edilen geç vakuolizasyon	Kırılmalar	Genel disintegrasyon, organellerin genişlemesi, birbirleriyle ve hücre dışı boşluklarla kaynaşan boş alanların oluşması	Mevcutta bulunmayan
Tip 3 B	Sitoplazmik tip	Geç artan kromatin tanecikleri	Hücre şişmesi	Endoplazmik retikulum genişlemesine, nükleus örtülüsüne, golgi aparatına ve bazen de mitokondriye bağlı vakuolizasyonlar	Mevcutta bulunan

2.3.2. Apoptozun Tanımlanması

Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 1972 yılında tanımlanan apoptozis (a-po-toe-sis), Yunancada yaprakların düşmesi anlamına gelmektedir. Morfolojik olarak ise apoptoz hücre ölümü ve genellikle programlanmış hücre ölümü anlamında kullanılmaktadır.

Apoptoz, fizyolojik şartlarda gelişme ve yaşlanma sırasında dokulardaki hücre popülasyonlarını korumak için tasarlanmış homeostazik bir mekanizmadır. Bunun yanı sıra immün sistemin uyarıldığı durumlarda savunma mekanizması olarak da ortaya çıkabilir (Kerr ve ark., 1972; Van Cruchten ve Van Den Broeck, 2002; Elmore, 2007).



Şekil 4. Apoptoz ve nekrozun çizimsel gösterimi (Majno ve Joris, 1995; Van Cruchten ve Van Den Broeck, 2002).

Apoptoz ile birlikte kullanılan diğerk iki terim ise nekrozdur. Apoptoz hücreşel büzölme, kromatin yoğunlaşması ve marjı, membranın büzüşmesi ile şekillenirken nekroz ise hücreşel genişlemeyle karakterizedir (Van Cruchten ve Van Den Broeck, 2002).

2.3.3. Apoptozun Mekanizmaları

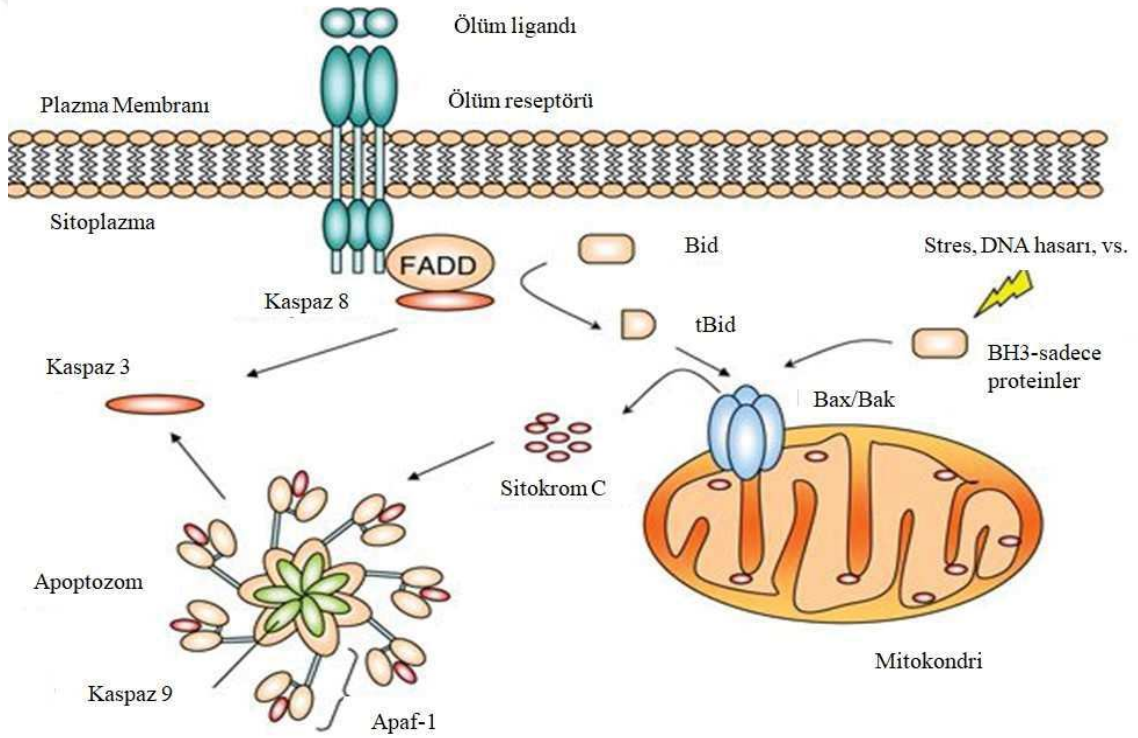
Apoptoz karmaşık mekanizmalarla idare edilen bir süreçtir. Apoptoz mekanizmalarına bakıldığında intrinsek ve ekstrinsek olarak birbirine bağımlı iki yolla gerçekleştiğı belirtilmektedir (Ooi ve Ma, 2013; Singh ve ark., 2019; Xu ve ark., 2019). Ancak literatürde bazı kaynaklara göre ise bu iki yola ilave olarak bağışıklık sistemi tarafından indüklenen perforin-granzim bağımlı yol olarak adlandırılan üçüncü bir yolun varlığı ifade edilmektedir (İgney ve Krammer, 2002; Elmore 2007; Eröz ve ark.,2012).

2.3.3.1. İntrensek Yol

İntrensek veya mitokondriyal adı verilen bu yol Tümör nekroz faktör (TNF), Fas ligand (Fas-L) ve TNF bağımlı apoptoz içeren ligand (TRAIL) reseptörlerinden bağımsız olarak meydana gelir. Bu yolda Bcl-2 ailesinin pro- (Bcl-2, Bcl-w, Bcl-xL, Mcl-1 ve A1) ve anti- apoptotik (Bak ve Bax) üyeleri görev almaktadır. Pro-apoptotik proteinler Bak ve Bax'ı baskılayarak hücreyi denge içerisinde tutar (Kile, 2009; Eröz ve ark., 2012). Çeşitli internal uyarılar mitokondriyal membran permeabilitesini artırır. Bu uyarınları takibinden Bax ve Bak aktive olarak mitokondriyal membrandan sitokrom c ile apoptozis-içeren faktör (AIF), endonükleaz G, Kaspaz/direk IAP bağımlı düşük PI proteinin ikinci mitokondri kaynaklı aktivatörü (Smac/DIABLO) ve serin proteaz yüksek sıcaklık koşullu protein A2 (Omi/ HtrA2) gibi diğerk mitokondriyal proteinlerin salınmasına neden olur. Hemen ardından sitokrom c, apoptoz proteaz-aktive eden faktör 1 (Apaf-1)'e sitozolde bağlanır. Bu bağlanma apoptozom olarak bilinen yedi kollu halka şekilli multi-protein kompleksini oluşturur. Oluşan apoptozom öncü kaspazları özellikle de kaspaz 9'u aktive eder. Kaspaz 9'da cellat kaspaz olarak adlandırılan kaspaz 3'ü aktive eder. Kaspaz 3 ise hücrenin yıkımına kadar giden kaspaz kaskatını başlatır.

AIF ve endonükleaz G, kromatin yoğunlaşması ve nükleer DNA bölünmesini içeren bağımsız yolla hücre ölümünü destekleyebilir. Diğer mitokondriyal proteinler ise kaspaz aktivasyonu mekanizmasını desteklerler (Goldar ve ark., 2015).

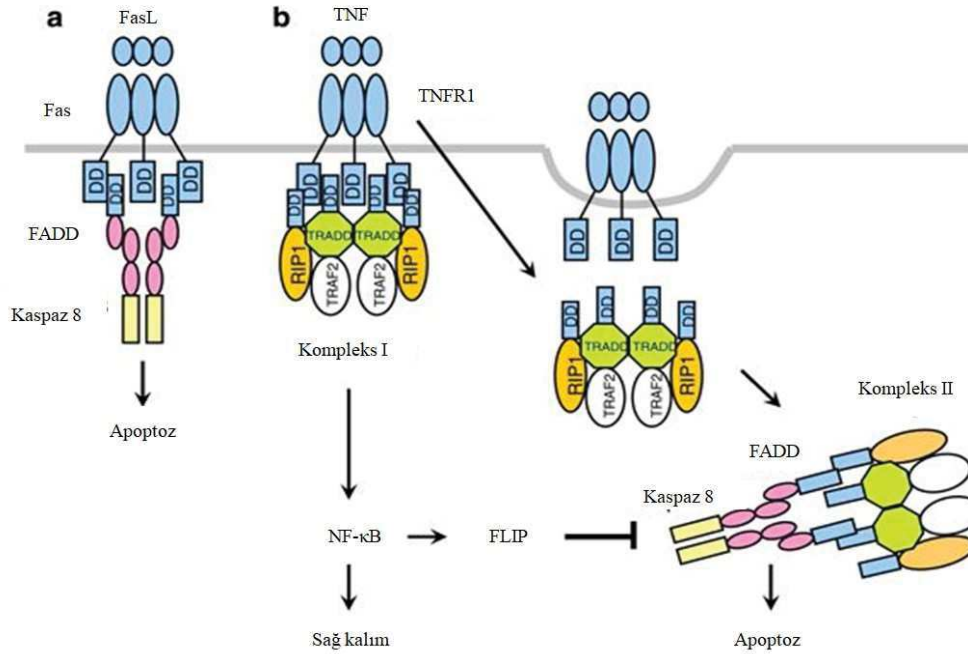
Ayrıca, son zamanlarda yapılan araştırmalarda endoplazmik retikulumun (ER) apoptozda da rol oynadığını göstermiştir. ER içinde proteinlerin fazla birikmesi ve kalsiyum homeostazının bozulması ER stresini indüklemektedir. Bunun sonucunda ise apoptozu tetikleyebileceği ifade edilmektedir (Xu ve ark., 2019).



Şekil 5. Kaspazların aktivasyon yollarının şematik gösterimi (Li ve Yuan, 2008).

2.3.3.2. Ekstresek Yol

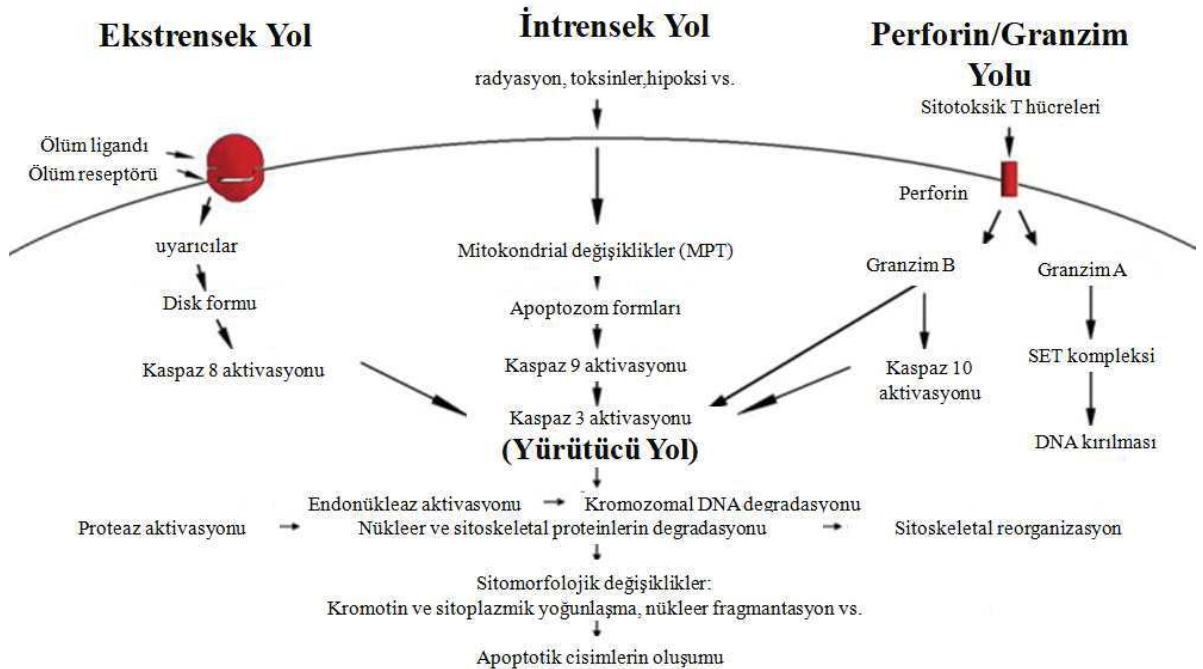
Ekstresek veya ölüm reseptör yolu olarak adlandırılan bu yolda apoptoz TNF, Fas-L ve TRAIL gibi transmembran reseptörlerine bağlanmasıyla ölüm reseptörleri aktive olur. Bu reseptörle ile ligandların eşleşmesi sonucunda protein motifleri oluşturur. Reseptör-ligand-adaptör protein kompleksi birleşerek ölüm sinyali içeren kompleks (DISC) geliştirir. Oluşan DISC prokaspaz 8'i aktif hale getirir. Aktive olan kaspaz 8 ya sırasıyla prokaspaz 3, 6 ve 7'yi ya da Bcl-2 ailesinin üyesi olan Bid'i aktive eder. Bid'in c-terminal bölgesini kesip tBid haline getirmesiyle Bax'ın mitokondriyal dış membrana girişini kolaylaştırarak apoptozun intrinsek yolla ilerlemesine sebep olur (Goldar ve ark., 2015; Bildik ve ark., 2018).



Şekil 6. Apoptozun ekstresek yolun başlamasının şematik hali (Li ve Yuan, 2008).

2.3.3.3. Perforin- Granzim Bağımlı Yol

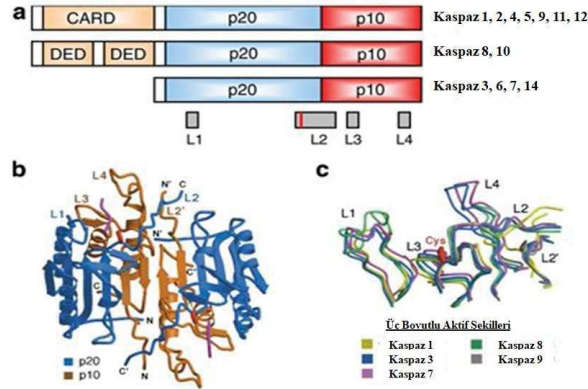
Granzimler, vücudu değişime uğramış hücre ve virüs enfeksiyonlarından korumak amacıyla sitotoksik lenfositlerden tarafından hedef hücre içerisine salınan proteazlardır. Serin proteaz alt ailesine ait enzimlerinden olan granzimlerden Granzim (Gzm) A ve B ilk tanımlanan ve klonlanan çeşitleridir. Gzm B, Gzm A'dan daha sonra tanımlanmasına rağmen hakkında daha çok bilgi mevcuttur. Gzm A morfolojik olarak apoptozdan farklı olmayan ancak kaspaz sisteminden bağımsız hücre ölümünü indükleyen bir triptaz olarak görev yapmaktadır. Gzm B ise perforin-granzim bağımlı yolla apoptoz oluşturmaktadır. Perforin, sitotoksik T lenfosit sitoplazmasından salınmakta ve Gzm B'nin salınmadan önce hedef hücrede dairesel porların oluşmasında görevlidir. Oluşan bu perforin poru sayesinde hücre içine Ca^{+2} girişi artar. Bu sayede veziküllerden Gzm B serbest kalır. Hedef hücreye geçen Gzm B efektör kaspazların aktivasyonunu sağlar. Bu aktivasyon DNA fragmentasyonuna neden olarak hücreyi apoptoza götürmektedir (Coşkun ve Özgür, 2011; Eröz ve ark., 2012; Keskin ve Hatipoğlu, 2018).



Şekil 7. Apoptoz yollarının şematik gösterimi (Elmore, 2007).

2.3.4. Kaspazlar ve Kaspaz 3

Kaspazlar (*cysteine-aspartic proteases* = *caspase*) apoptozda iyi tanımlanmış bir role sahip sistein proteazlardır. Sistein proteaz aktivitesi, kökenlerine veya ölüm uyarısına bakılmaksızın apoptoz uygulanan tüm hücrelerde tespit edilebilmektedir (Strasser ve ark., 2000).



Şekil 8. Memeli kaspazlarının yapısı ve domain organizasyonu (Li ve Yuan, 2008).

Caenorhabditis elegans (*C. elegans*) *ced-3* geninde 1993 yılında, insan interleokin-1 β -dönüştürücü enzimden benzer bir sistein proteinaz kodladığı kanıtlanmıştır. Daha sonra kaspaz-1 olarak adlandırılan interleokin-1 β -dönüştürücü enzimin apoptozu indüklemek için yeterli olduğu kanıtlanmıştır. *C.elegans*'ın memeli kaspaz-1 ve CED-3'lerinin yapısal ve fonksiyonel benzerliği, araştırma faaliyetlerinin gelişmesine ve memelilerde çok sayıda kaspaz ailesi üyesinin keşfedilmesine yol açmıştır. İnsan genomunda 11 gen tarafından kodlanan 11 çeşit kaspaz (kaspaz 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ve 14) bulunurken fare genomunda kodlanan 10 çeşit kaspaz (kaspaz 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 11, 12 ve 14) bulunmuştur. İnsanda bulunan kaspaz 4 ve kaspaz 5, fare genomunda kaspaz 11 ve kaspaz 12 ile otologdur. Ancak insanda bulunan kaspaz 10, fare genomunda eksik olduğu ifade edilmiştir (Li ve Yuan, 2008).

Kaspazlar, apoptozdaki rollerine göre başlatıcı ve efektör kaspazlar olarak ikiye ayrılırlar. Kaspaz 8, 9 ve 10 başlatıcı kaspazlardır ve apoptozun başlatılmasında rol alırlar. Kaspaz 3, 6 ve 7 ise efektör veya cellat kaspazlar olarak tanımlanmakla

beraber apoptozu devam ettirirler (Eröz ve ark., 2012; Gonzalez-Ramirez ve Salvesen, 2018).

Kaspazlar, apoptoz, piroptoz, nekroptoz ve otofajinin aracılık ettiği hücre ölümlerinde işlev görmelerine rağmen fonksiyonları hücre ölümü ile sınırlı değildir. Proliferasyon, tümör supresyonu, farklılaşma, nöral gelişim ve akson rehberliği ve yaşlanmayı da içeren rollere sahiptirler (Shalini ve ark., 2015). Kaspazların bu rolleri Tablo 3.'de ayrıntılı biçimde gösterilmektedir.

2.3.5. Bcl Ailesi ve Bcl-2

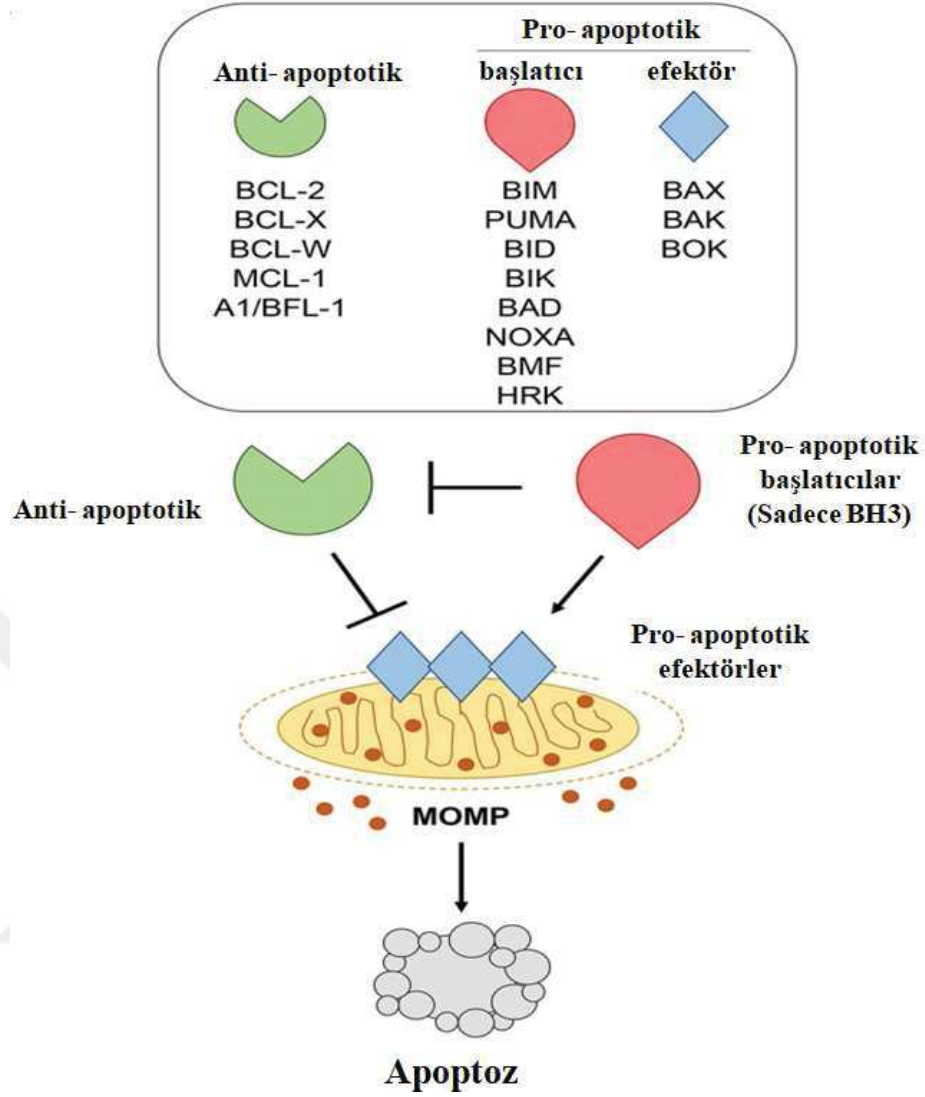
İlk olarak 1980'li yıllarda folliküler lenfoma hastalarından alınan hücrelerde tanımlanan Bcl-2 (B Hücreli Lenfoma 2), Bcl ailesinin bilinen ilk üyesidir (Birkinshaw ve Czabotar, 2017). Bcl ailesi üyelerinin birbirleriyle etkileşerek apoptozu kolaylaştırma ya da inhibe eden zıt fonksiyonlara sahiptirler. Bcl ailesi, pro-apoptotik efektörler, sadece BH3 içeren pro-apoptotikler ve anti-apoptotikler olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Adams ve ark., 2019).

Anti-apoptotik alt ailesi üyeleri olan Bcl-2 ve Bcl-XL olarak belirlenen grup BH1, BH2, BH3 ve BH4 homolog alanlarını içerir. BAX, BAK ve BOK gibi proteinler pro-apoptotik efektörler adını alırken bunların ortak alanları BH1, BH2 ve BH3 domainleridir. BIM, BAD ve BID gibi sadece BH3 içeren pro-apoptotik proteinler ise adı gibi sadece BH3 alanını içerirler (Ebrahim ve ark., 2016; Birkinshaw ve Czabotar, 2017).

Apoptozun intrinsek yolunda görev alan Bcl-2 ailesi proteinlerinden anti-apoptotik proteinler normal şartlarda sadece BH3 içeren pro-apoptotik proteinleri inhibe ederler. Çeşitli stres faktörlerinin sadece BH3 içeren pro-apoptotikleri aktive etmesi pro-apoptotik efektörlerin aktivasyonuna sebep olur. Aktive olan pro-apoptotik efektörler oligomerize olup mitokondriyal dış membranın permeabilizasyona neden olurlar. Hemen ardından salınan kaspazları da içeren apoptotik faktörler sonucunda hücrenin yıkım yoluna gittiği belirtilmektedir (Adams ve ark., 2019).

Tablo 3. Kaspazların gelişimde, apoptozda ve diğer durumlarda görevleri (Garrido ve Kroemer, 2004).

Kaspaz	Fenotip knock-out	Apoptozdaki Görevi	Diğer görevleri
Kaspaz-1	Hayvan gelişimi normal	Ölüm-reseptör aracılı apoptoz rolünde	IL-1 üretimi
Kaspaz-2	Hayvanlarda fazla oosit mevcut	Başlatıcı veya yürütücü kaspaz	DNA tamiri
Kaspaz-3	Perinatal fazlalıkta beyin dokusu letalitesi	Yürütücü kaspaz	Eritroblastlar, keratinositler, monositler ile epitelyum, sperm, kas, osteoblast ve trofoblast hücrelerinin farklılaşması; B hücrelerinin proliferasyonu
Kaspaz-6	Hayvan gelişimi normal	Yürütücü kaspaz	Belirlenmemiş
Kaspaz-7	Embriyonik letalite	Yürütücü kaspaz	Belirlenmemiş
Kaspaz-8	Embriyonik letalite, bozulmuş kalp kası gelişimi ve azalan hematopoietik öncüler havuzu; insanlarda, ailesel mutasyon immün yetmezlik	Ölüm reseptör yolu için başlatıcı kaspaz	T hücresi çoğalması; plasental trofoblast farklılaşması; hücre döngüsü kontrolü?
Kaspaz-9	Perinatal fazlalıkta beyin dokusu letalitesi	Başlatıcı kaspaz	Çoğu hücrede kaspaz-3'ün dâhil edildiği farklılaşma süreçleri
Kaspaz-10	İnsanlarda, ailesel mutasyonu olan hastalarda otoimmün lenfo proliferatif sendrom tip II görülür	Ölüm reseptör yolu için başlatıcı kaspaz	Belirlenmemiş
Kaspaz-11	Hayvan gelişimi normal	Ölüm reseptör yolu için başlatıcı kaspaz	IL-1 üretimi
Kaspaz-12	Hayvan gelişimi normal	Endoplazmik retikulum stresi için başlatıcı kaspaz	Enflamasyonu hafifletir; doğuştan gelen bağışıklık tepkisi
Kaspaz-14	Belirlenmemiş	Belirlenmemiş	Keratinositlerin terminal farklılaşması



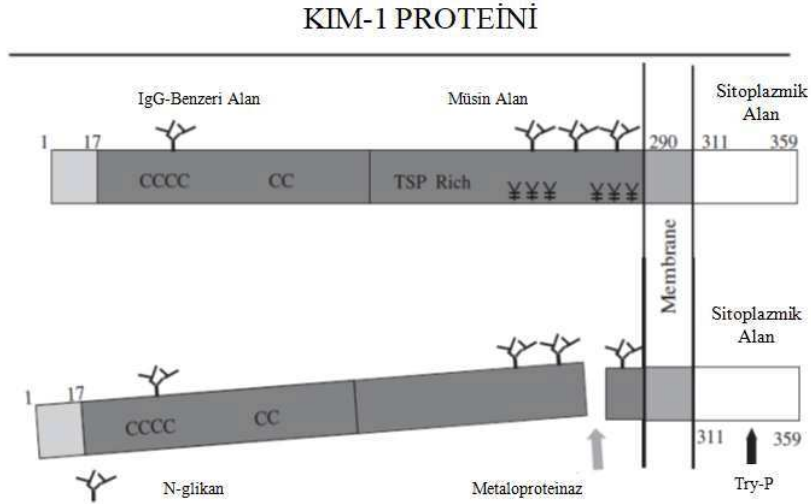
Şekil 9. Bcl ailesi üyelerinin apoptoz oluşumu üzerindeki etkisi (Adams ve ark., 2019).

Bcl ailesi üyeleri arasında yer alan Bcl-2 ve Bax proteinleri, antagonistik etkileri olan önemli moleküllerdir. Bcl-2/Bax oranının hücre sağkalımı üzerinde belirleyici bir etkisi vardır. Bu oranın artışı hücre sağkalımını arttırmaktadır. Başka bir şekilde ifade edilirse Bcl-2 'nin aşırı ekspresyonu hücre sağkalımına yol açarken Bax 'ın aşırı ekspresyonunun apoptoza neden olduğu bilinmektedir (Saghiri ve ark., 2017).

2.3.6. Böbrek Hasar Molekülü-1 (Kidney Injury Molecule-1=KIM-1)

Böbrek Hasar Molekülü-1 (Kidney Injury Molecule-1=KIM-1) tip 1 transmembran proteinlerinden birisidir. TIM-1 (T- hücreleri immunoglobulin müsin-1) veya HAVCR-1 (Hepatitis A virüs hücresel reseptör-1) olarak da bilinmekle beraber Ichimura ve ark.'ı tarafından ilk olarak post-iskemik sıçan böbreklerinde tespit edilmiştir. Ardından kronik böbrek hastalıkları için aşırı ekspresyonu prognostik belirteç olarak tanımlanmıştır.

KIM-1 proteini insanda 5p33.3 kromozomunun 14 ekzonundan kodlanmaktadır. 104 kDa'luk bir glikoprotein olmakla beraber 90 kDa'luk kısmı çözülebilir parçayken 14 kDa'luk kısmı membranla fragmente olduğu bilinmektedir. KIM-1 proteininin, glikozilmüsin, IgG-benzeri alan ve sitoplazmik alan olmak üzere üç bölgeden oluştuğu ifade edilmektedir (Bonventre, 2008; Huo ve ark., 2010; Song ve ark., 2019). Bu alanlardan Ig-benzeri alan ve glikozilmüsin alan ekstrasellüler alanda bulunmaktadır. Ayrıca KIM-1 'in müsin alanının, epitel hücrelerde koruyucu etkinlik gösterebileceği de belirtilmektedir (Ichimura ve ark., 1998).



Şekil 10. KIM-1 proteininin yapısı, alanları ve fragmente hali (Bonventre, 2008).

KIM-1 erişkin sıçanlarda normal de düşük seviyelerde eksprese edilirken yapılan çalışmalar neticesinde, böbrek hasarı sonrasında miktarının oldukça fazla arttığı ortaya koyulmuştur (Ichimura ve ark., 1998; vanTimmeren ve ark., 2007). Akut böbrek nekrozuna sahip insanların böbreklerinde yapılan biyopsilerde glomerüllerdeki KIM-1 seviyesinde değişiklik olmazken proksimal tübüllerde lokalize şekilde artış olduğu da belirlenmiştir (Han ve ark., 2002). Farklı böbrek hastalıklarında idrarda yapılan analizlerde renal fonksiyonlar ve inflamasyon ile KIM-1 düzeyleri arasında korelasyon bulunduğu ifade edilmektedir (van Timmeren ve ark., 2007).

2.4. Deneysel Modellemelerde Egzersiz

Hayvan modellemelerinde, egzersiz için en sık kullanılan deney hayvanları genellikle fare ve sıçan olmakla beraber aşağıda bahsedilen modellemelerde özellikle bu grup hayvanlarda kullanılmaktadır. Bu modellemeleri ise gönüllü egzersiz, gönüllü olmayan egzersiz, zorunlu egzersiz ve spesifik egzersizler olmak üzere dört ana başlıkta toplamak mümkündür.

Tablo 4. Deneysel modellemelerde kullanılan egzersizlerin türü, avantajları, dezavantajları ve kullanım alanları (Seo ve ark., 2014).

Egzersiz		
Gönüllü Egzersiz	Türü	Aerobik egzersiz
	Avantajları	1. Minimal müdahale gerektirir. 2. Hayvanda stres yaratmaz. 3. Uzun vadeli mekanizmalarda kullanılabilir.
	Dezavantajları	1. Egzersizin yoğunluğunun ve süresi kontrol edilemez. 2. Yorucu çalışmalarda kullanımı mümkün değildir. 3. Hayvanlarda pençe sıkışması görülebilir.
	Kullanım Alanları	Yaşlanma, davranışsal araştırmalar, iskemi, kanser, diabet, duygu durum, kas fizyolojisi, nöromusküler hastalıklar, inme rehabilitasyonu

Tablo 4. Deneysel modellemelerde kullanılan egzersizlerin türü, avantajları, dezavantajları ve kullanım alanları (Devamı)

Gönüllü Olmayan Egzersiz	Elektrik stimülasyonu	Türü	Dirençli egzersiz
		Avantajları	1. Kontralateral kasa kontrol imkânı verir. 2. Kantitatifdir. 3. Yüksek oranda tekrarlanır sonuç verir. 4. Hayvanın kooperasyona ve motivasyona ihtiyaç yoktur. 5. Tüm motor ünitlerin maksimal aktivasyonu mümkündür.
		Dezavantajları	1. Tekrarlayan anestezi gerektirir. 2. Nöronal tutulum dâhil edilmez. 3. Kas kasılması fizyolojik değildir. 4. Yüksek frekanslarda kas liflerinde transisyon muhtemeldir.
		Kullanım Alanları	Kas fonksiyonel kapasitesi, kas yaralanması, inflamasyon
Zorunlu Egzersiz	Koşu Bandı Egzersizi	Türü	Aerobik egzersiz
		Avantajları	1. Egzersizin hem yoğunluğu hem de süresi kontrol edilebilir. 2. Yapılan iş kolayca hesaplanabilir. 3. Submaksimal ve maksimal çalışmalarda total metabolik oranlar hesaplanabilir.
		Dezavantajları	1. Hayvanlarda strese yol açar. 2. Koşu bandı cihazı pahalıdır. 3. Hayvanda yaralanmalara sebep olabilir.
		Kullanım Alanları	Alkolizm, yaşlanma, ataksi, kanser, kemik metabolizması, beyin fonksiyonları, koroner arter hastalıkları, endurans kapasitesi, hipertansiyon, akciğerler, immün modülasyon, metabolik sendrom, nöromusküler hastalıklar.
	Ağırlık Kaldırma	Türü	Dirençli egzersiz
		Avantajları	1. İnsandaki ilerleyici dirençli egzersizle yakın ilişkilidir. 2. Kantitatifdir.
		Dezavantajları	1. Hayvan için stres içerir. 2. İş gücü gerektirir. 3. Bilateral egzersizdir ve veriler aynı hayvanda karşılaştırılabilir. 4. Özel ekipmana ihtiyaç vardır.
		Kullanım Alanları	Kas hipertrofisi

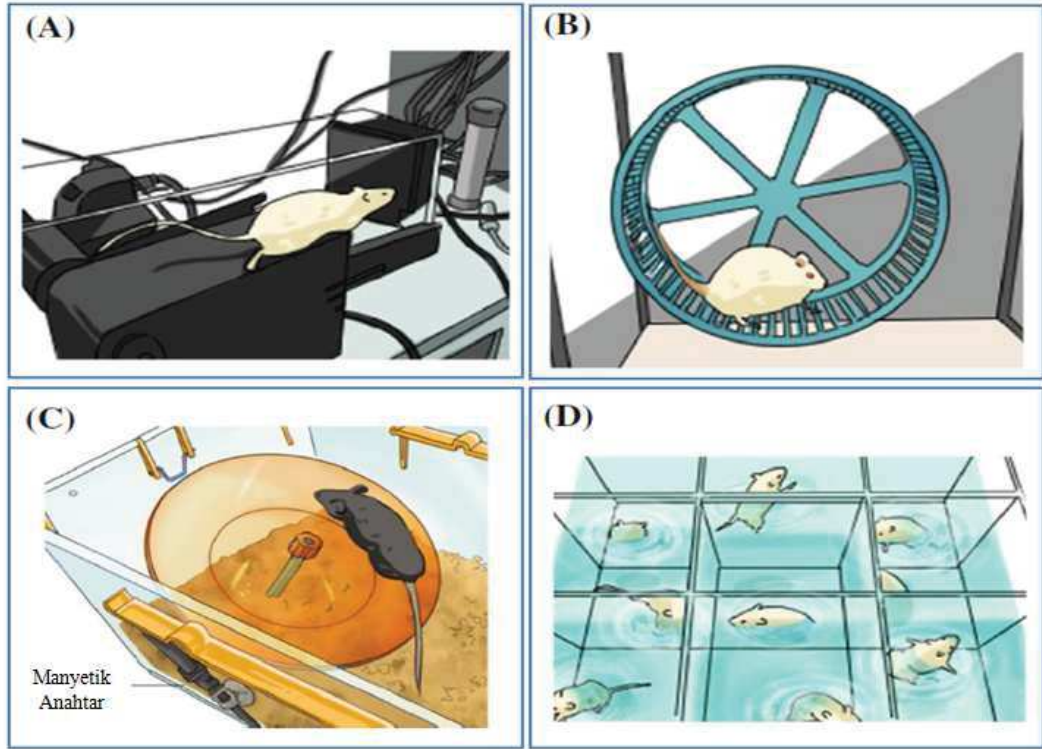
Tablo 4. Deneysel modellemelerde kullanılan egzersizlerin türü, avantajları, dezavantajları ve kullanım alanları (Devamı)

Zorunlu Egzersiz	Ağırlık Çekme Şeklinde Squat Tipi Egzersiz	Türü	Dirençli Egzersiz
		Avantajları	1. İnsandaki ilerleyici dirençli egzersizle yakın ilişkilidir. 2. Kantitatifdir.
		Dezavantajları	1. Yiyecek yoksunluğu gerektirir. 2. Bilateral egzersizdir ve veriler aynı hayvanda karşılaştırılabilir. 3. Özel ekipmana ihtiyaç vardır. 4. Yiyecek yoksunluğundan dolayı hipertrofi daha azdır.
		Kullanım Alanları	Musküler hipertrofi
	Merdiven Tırmanma Egzersizi	Türü	Dirençli Egzersiz
		Avantajları	1. İnsandaki ilerleyici dirençli egzersizle yakın ilişkilidir. 2. Alışma süresinden sonra daha az streslidir.
		Dezavantajları	1. Alışma süresi gereklidir. 2. İş gücü gerektirir. 3. Bilateral egzersizdir ve veriler aynı hayvanda karşılaştırılabilir.
		Kullanım Alanları	Diabetes mellitus, kemik metabolizması, kas hipertrofisi
	Yüzme Egzersizi	Türü	Aerobik/Dirençli Egzersiz
		Avantajları	1. Ekipmanı azdır ve daha ucuzdur. 2. Uygun şekilde yapıldığında düzgün bir fiziksel aktivitedir.
		Dezavantajları	1. Hayvanların sürekli kontrolü gereklidir. 2. Su sıcaklığının düzenli kontrolü gereklidir.
		Kullanım Alanları	Amiyotrofik lateral skleroz, kemik metabolizması, hipertansiyon, akciğer hastalıkları, ağrı kontrolü, metabolik sendrom, nöromusküler hastalıklar, spinal kord yaralanması...

2.4.1. Gönüllü Egzersiz

Hayvan modellemelerinde gönüllü egzersiz sistemik stresi aktive etmeden yapılan egzersizdir (Ke ve ark., 2011). Genellikle kafes içerisine yerleştirilmiş tekerlekle gerçekleştirilmektedir. Bu şekilde 24 saat boyunca hayvanın egzersiz yapabileceği gibi istenirse süre kısıtlamasına da gidilebilmesi mümkündür. Bunun yanı sıra tekerleklere eklenen aparatlarla tur sayısı ölçülerek hayvanın yaptığı mesafe hesaplanabilmektedir.

Yapılan çalışmalarda gönüllü egzersiz yapan hayvanların daha uzun mesafeler koştuğu belirlenmiştir. Bu nedenle genellikle koşu bandı ile yapılan karşılaştırma çalışmalarında tekerlek tur sayısı hesaplayıcılar kullanılarak mesafe hesaplanabilmektedir (Leasure ve Jones, 2008).



Şekil 11. Hayvan modellemelerinde egzersizler-1 (A) Koşu bandı egzersizi, (B) Tekerlek egzersizi, (C) Yatay tekerlek egzersizi, (D) Yüzme egzersizi (Seo ve ark., 2014).

2.4.2. Gönüllü Olmayan Egzersiz

Gönüllü olmayan egzersiz, kas kontraksiyonunun hayvandan kaynaklanmadığı egzersiz türüdür. Fonksiyonel elektrik stimülasyonu (FES) ile yaptırılan egzersiz gönüllü olmayan egzersizin uygulanmasında en çok kullanılan yöntemdir. FES'in kullanılması için elektrotlarının kaslara implante edilmesi gereklidir. Anestezi altında elektrotlar kontraksiyon alınmak istenen kasa yerleştirilir ve stimülasyon eşiği voltaj olarak belirlenir. Egzersiz yapılırken bifazik akımla kaslardan istenilen sürede kontraksiyon alınır (Ke ve ark., 2011).

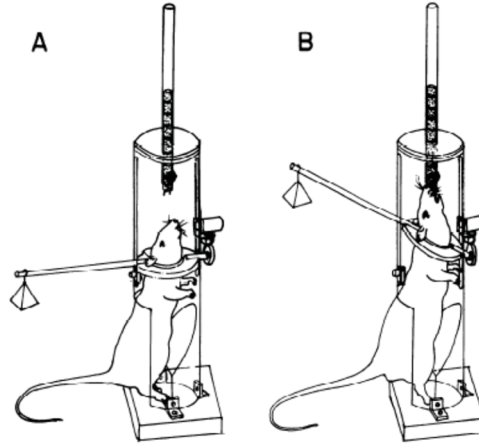
2.4.3. Zorunlu Egzersiz

2.4.3.1. Koşu Bandı Egzersizi

Koşu bandı egzersizi, araştırmalarda sıklıkla kullanılan ve treadmill egzersizi olarak da adlandırılan modeldir. Süre ve hız tayini sayesinde yapılan egzersiz kantitatifdir. Cihazın hızı ve eğimi kademeli olarak arttırılabilen insanların kullandığı cihaza benzeridir. Cihazın en arkasında motivasyonel şok ızgarası vardır. Bu şok ızgarası miliamper düzeyinde bir elektrik akımı verir. Koşmayan hayvanlar dönen bandın etkisiyle bu ızgaraya düşerler ve elektrik akımının etkisiyle tekrar koşmaya başlarlar. Koşu bandı egzersizinin yapılabilmesi için alıştırma dönemine ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun yanı sıra nokturnal hayvanlar olan ratlarda kullanımı için karanlık ortamda kırmızı ışık altında gerçekleştirilmesi egzersizin yapımını kolaylaştırdığı belirtilmektedir (Yoo ve ark., 2000; Burghardt ve ark., 2004; Soylu, 2010; Shankarappa ve ark., 2011; Zhang ve ark., 2013).

2.4.3.2. Ağırlık Kaldırma Egzersizi

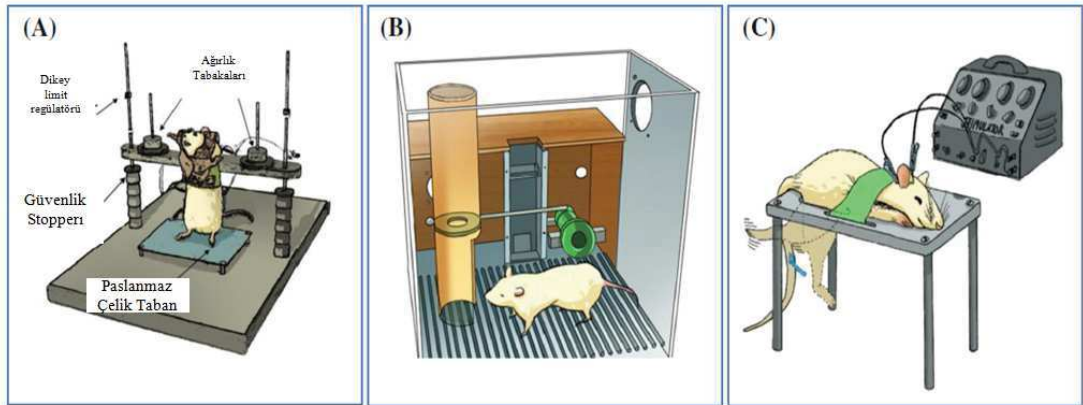
Orijinali Klitgaard (1988) tarafından yapılan mekanizma modifiye edilerek farklı şekillerde kullanılmaktadır. Mekanizmanın çalışma prensibi, hayvanların omuz kısımlarında ağırlık varken yiyeceğe ulaşmalarına dayanır. Kaldırmada plantar fleksörler, diz ve ayak bileği ekstansörleri çalıştığında egzersiz gerçekleşir. Yaklaşık 2 haftalık eğitim süreci gerekmektedir (Klitgaard, 1988; Legerlotz, 2007; Krutki, 2017).



Şekil 12. Klitgaard tarafından hazırlanan egzersiz mekanizması (Klitgaard, 1988).

2.4.3.3. Ağırlık Çekme Şeklinde Squat Tipi Egzersiz

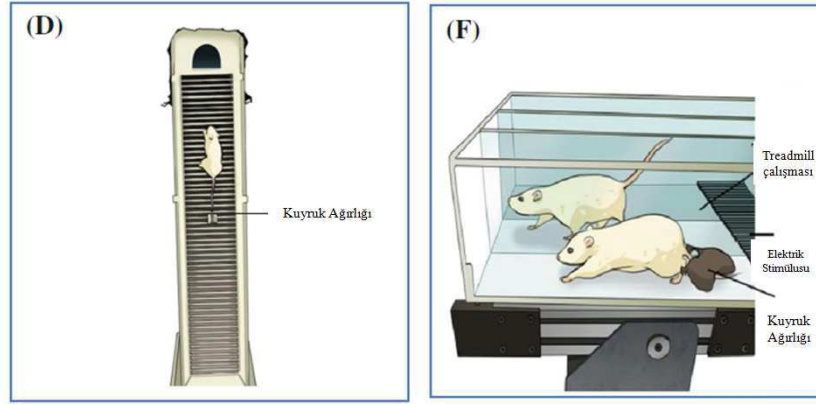
Ağırlık kaldırma egzersizi yerine yatay düzlemde ağırlığın arka bacaklara bağlanmasıyla yapılan egzersizdir. Ödül veya ceza sistemine bağlı yaptırılır. Ödül olarak yiyecek, ceza olarak ise miliamper düzeyinde elektrik şoku verilir (Seo ve ark., 2014).



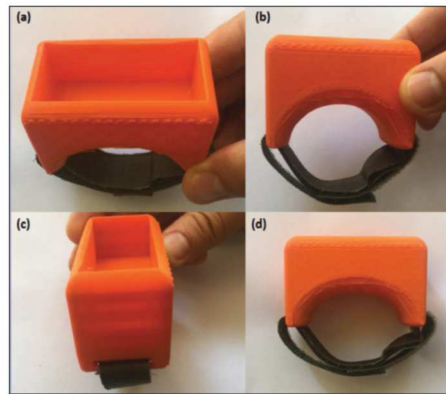
Şekil 13. Hayvan modellemelerinde egzersizler-2 (A) Ağırlık kaldırma (B) Ağırlık çekme şeklinde squat tipi egzersiz (C) Elektrik stimülasyonu (Seo ve ark., 2014).

2.4.3.4. Merdiven Tırmanma Egzersizi

Merdiven tırmanma dirençli egzersizler grubunda yer alan bir egzersiz çeşididir. Başlangıç noktası, merdiven ve varış kafesinden oluşan bir düzeneğe sahiptir. Başlangıç noktasından bırakılan hayvanın miliamper düzeyinde elektrik şoku ile uyarılarak, hayvanın canını yakmayacak tarzda arka kısmından vurularak veya varış kafesine yerleştirilen yiyecek ile tırmanması sağlanır. Belirlenen protokole göre hayvanların kuyruklarına ağırlık bağlanabilir. İstenen ağırlıklar aparat yardımıyla sırtta da yerleştirilebilir. Egzersizin yapılabilmesi için alıştırma süresine ihtiyaç vardır (Rencüzoğulları ve ark., 2018; Kelty ve ark., 2019; Zhai ve ark., 2020).



Şekil 14. Hayvan modellemelerinde egzersizler-3 (D) Merdiven tırmana egzersizi (F) Ağırlıklı koşu bandı egzersizi (Seo ve ark., 2014).



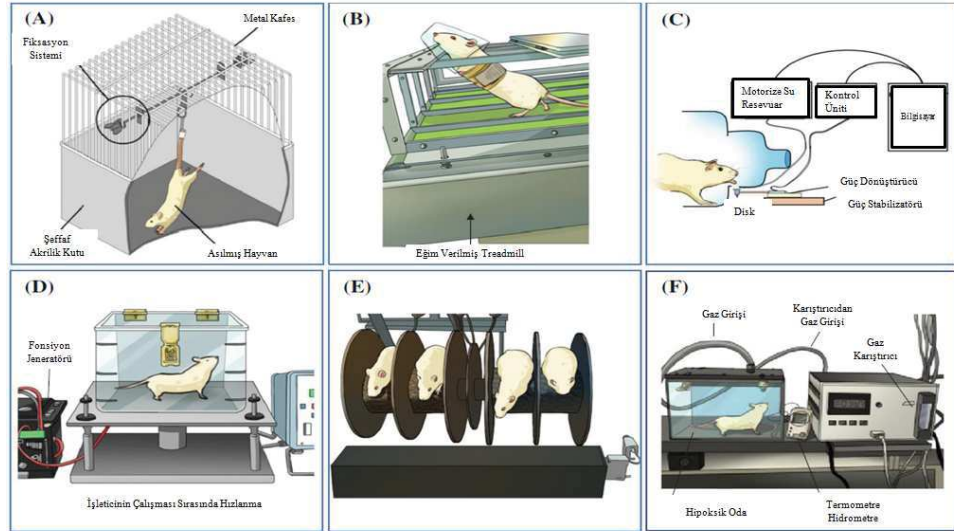
Şekil 15. Hayvanların sırtlarına bağlanarak egzersizi dirençli hale getimeyi sağlayan eyer şeklinde ağırlık taşıma aparatı (Rencüzoğulları ve ark., 2018).

2.4.3.5. Dirençli Yüzme Egzersizi

Yüzme egzersizi, yapımı diğer zorunlu egzersiz çeşitlerine göre nispeten farklı olan aerobik egzersiz olabileceği gibi ağırlıkla yapıldığında dirençli egzersize de dönüştürülebilir. Standart bir su tankına ihtiyaç yoktur. Yaklaşık 32 °C sıcaklıktaki suda yapılması idealdir. Egzersiz için hayvanların kuyruklarına, hayvan ağırlığının % 5-10 (eğitim yükü-performans testi yükü) arasında değişen ağırlıklar eklenerek egzersiz zorlaştırılır. Hayvanların ağırlıkları her hafta değişmesinden dolayı bağlanan ağırlıklar gereken direnci sağlarlar. Vieira tarafından geliştirilen protokol gibi çeşitli protokollerle uygulanması da mümkündür (Vieira ve ark., 1988; Falavigna ve ark., 2012; Campos-Ferraz ve ark., 2013). Tablo 4. 'de verilen avantaj-dezavantaj tablosunda görüldüğü gibi egzersizin dezavantajlarının kontrol edilebilir. Bunun yanı sıra yüzme egzersizi için suya bırakılan hayvanların yüzmemesi gibi bir ihtimal söz konusu değildir.

2.4.4. Spesifik Egzersizler

Spesifik egzersizler kullanımı yaygın olmayan özel amaçlarla geliştirilmiş egzersizlerdir. Tablo 5.'de egzersizler ve kullanım alanları verilmiştir.



Şekil 16. Deneyisel modellemelerde kullanılan spesifik egzersizler (A) Arka bacak askıya alınması veya immobilizasyonu (B) Bipedal yokuş aşağı (eksantrik) koşu, (C) Dil egzersizi, (D) Tüm vücut vibrasyonu, (E) Nöromuskülerin aktivite için spinal kord izolasyonu, (F) İrtifa eğitimi taklidi (Seo ve ark., 2014).

Tablo 5. Deneysel modellemelerde kullanılan spesifik egzersizler ve kullanım alanları (Seo ve ark., 2014).

Spesifik Egzersizler	Kullanım Alanları
Arka bacak askıya alınması veya immobilizasyonu	Kas atrofisi, uzay ve uçuş fizyolojisi
Nöromuskülerin aktivite için spinal kord izolasyonu	Kas iskelet fizyolojisi
Tüm vücut vibrasyonu	Kemik metabolizması, spinal kord yaralanması
Dil egzersizi	Disfaji
Bipedal yokuş aşağı (eksantrik) koşu	Aşıl tendinozis, kas hasarı, kas iskelet ağrısı
İrtifa eğitimi taklidi	Hipobarik hipoksiyle indüklenen nöronal yaralanma, insülin sensivitesi

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Yöntemi ve Prosedürü

Çalışmaya Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan alınan 2019/09-02 sayılı etik kurul izninin ardından başlandı. Araştırma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (ÇOMÜDAM) 'nden temin edilen hayvanlarla kuruluş bünyesinde yapıldı.

3.2. Araştırma Grubu

Çalışmada 24 adet 2 aylık Wistar cinsi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar, çalışma zamanına kadar yaklaşık olarak 22 °C'lik oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü ayarlanabilen ve havalandırması mevcut bir ortamda muhafaza edilip ad-libitum olarak beslendi. Sıçanların beslenmesinde yem olarak standart ticari pelet yemi, içme suyu olarak normal şebeke suyu kullanıldı. Hayvanlar rastgele 4 adet gruba her grupta 6 adet hayvan olacak şekilde ayrıldı.

Tablo 6. Çalışmada kullanılan hayvanların gruplandırılması.

Gruplar	Uygulanan İşlemler
Grup 1-Kontrol Grubu (n=6)	Kontrol grubu
Grup 2-Egzersiz Grubu (n=6)	Yüzme egzersizi yaptırılan grup
Grup 3-BCAA Grubu (n=6)	BCAA takviyesi uygulanan grup
Grup 4-Egzersiz+BCAA Grubu (n=6)	Yüzme egzersizi yaptırılıp BCAA takviyesi uygulanan grup

3.3. Veri Toplama Araçları

3.3.1. Dalı Zincir Amino Asit Takviyesinin Hazırlanışı ve Uygulanışı

L-lösin, L- izolösin ve L-valin (Sigma-Aldrich), 2:1:1 oranında karıştırılarak BCAA takviyesi hazırlandı. Takviyeye ek olarak herhangi yağ veya karbonhidrat eklemesi yapılmadı. Hazırlanan takviye Lu ve ark. (2015)'nin çalışması esas alınarak 2,5 mg/kg dozunda 1 ml serum fizyolojik içerisinde vorteks yardımıyla karıştırılarak verilmeye hazır hale getirildi. BCAA ve Egzersiz+BCAA gruplarına uygulama

yapıldı. BCAA takviyeleri oral gavaj yoluyla intragastrik olarak haftanın her gün aynı saatte egzersiz seanslarından hemen önce uygulandı.

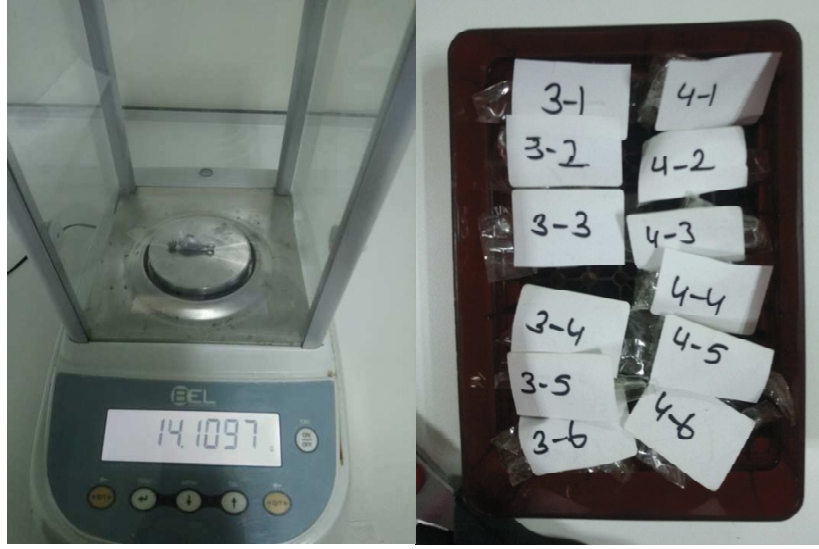
3.3.2. Yüzme Egzersizinin Yapılışı

Çalışmamızda kullandığımız sıçanlara, Vieira tarafından sıçanlar için geliştirilen yüzme egzersiz sistemi uygulandı. Egzersiz protokolü 6 hafta sürdü. Egzersizler haftanın 5 günü (pazartesten cumaya) toplamda 30 seans olarak yaptırıldı. Cumartesi ve pazar günleri dinlenme günleri olarak verildi. Çalışmanın 1. Haftası literatürlerde belirtildiği üzere alıştırma haftası olarak kabul edilerek ağırlıksız yüzdürüldü. Yüzme egzersizi 2. haftadan itibaren ağırlık kullanılarak dirençli egzersiz haline dönüştürölüp sonraki egzersizlere bu şekilde devam edildi. Kullanılacak kuyruk ağırlıklarını belirlemek için sıçanların vücut ağırlığı düzenli olarak her cumartesi günü ölçüldü. Ölçülen vücut ağırlıkları kaydedilip % 5'i alınarak kuyruğa takılacak ağırlıkların miktarı belirlendi. Hassas tartıda tartılan kurşun ağırlıklar yardımıyla kuyruk ağırlıkları oluşturuldu. Oluşturulan kuyruk ağırlıkları numaralandırılıp her sıçan için ayrı ayrı muhafaza edildi (Resim 1).

Tablo 7. Egzersiz seansları ve kullanılan ağırlıklar (Falavigna ve ark., 2012; Campos-Ferraz ve ark., 2013).

Eğitim Haftası	Seans Süresi	Kullanılan Ağırlık
1. Hafta	20 Dakika	Egzersize alıştırma
2. Hafta	20-25 Dakika	Vücut ağırlığının % 5'i
3. Hafta	25-30 Dakika	Vücut ağırlığının % 5'i
4. Hafta	35-40 Dakika	Vücut ağırlığının % 5'i
5. Hafta	45-50 Dakika	Vücut ağırlığının % 5'i
6. Hafta	55-65 Dakika	Vücut ağırlığının % 5'i

Yüzme havuzu 67,5 cm en, 94 cm boy ve 64 cm yüksekliğinde dikdörtgen PPC hammadden yaptırıldı. Havuzun dolumu hortum yardımıyla yapılıp musluk yardımıyla boşaltıldı. Yaklaşık su yüksekliği 50±2 cm olarak ayarlandı.



Resim 1. Yüzme egzersizinde kullanılan ağırlıklar ve hazırlanışları.



Resim 2. Hayvanların yüzme egzersizi için hazırlanışı.

Yüzme havuzu, egzersizler sonrasında her gün boşaltılarak temiz su ile dolduruldu. Su sıcaklığı termometre yardımıyla ölçülerek $32\pm 2^{\circ}\text{C}$ arasında tutuldu. Hayvanlar grup grup yüzdürüldü. Gruplar değiştirilirken su sıcaklığı kontrol edildi ve

suyun bir miktarı akvaryum kepçesi yardımıyla değiştirilerek temizlendi. Egzersiz+BCAA grubu gavaj sonrası yüzmeye alındı. Yüzmenin ardından sudan çıkarılan hayvanlar kuyruk ağırlıkları çıkartılarak hızlıca altlarında havlu bulunan temiz kafeslere alındı. Bu şekilde sıcak ışık kaynağı altında veya elektrikli ısıtıcının karşısında hayvanların kuruması beklendi. Esas kafeslerine ise hayvanlar havlu yardımıyla iyice kurulandıktan sonra yerleştirildi.



Resim 3. Yüzme egzersizlerinin yaptırılışı.



Resim 4. Hayvanların yüzme egzersizi sonrasında kurutulması.

3.3.3. Örneklerin Alınması

Altı haftalık deney süresi sonunda çalışma sonlandırıldı. Çalışmanın sonunda hayvanlara bir gece boyunca besin verilmedi. Çalışmanın sonlandırılacağı gün ketamin (60 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) intramusküler şekilde uygulanarak anesteziye alındı. Sıçanların anesteziye girişi refleks kontrolü yapılarak belirlendi. Anesteziye giriş gerçekleştikten sonra hayvanın yaşamına etik kurallara uygun bir şekilde kardiyak kan alımının hemen ardından servikal omur dislokasyonu ile son verildi. Abdomen orta hattın açılarak böbrekler alındı. Genetik analizler için ayrılan örnekler “DNase/RNase free” steril cryotüpler içerisine yerleştirilerek analiz gününe kadar -80 °C ‘de saklandı (Ovalı, 2015). Böbrekler histopatolojik incelemeler için parçalandı, doku kasetlerine konularak % 10 tamponlu formaldehit çözeltisine yerleştirildi. Rutin takibin hemen ardından parafin bloklara gömülerek inceleme zamanına kadar saklandı

3.4. Veri Toplama Yöntemleri

3.4.1. Histopatolojik İncelemeler

Histopatolojik incelemeler için parafin bloklara gömülü dokulardan mikrotom cihazı yardımıyla 4 nm kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin-eozin (H-E) ve immünohistokimyasal (IHC) boyama için pozitif şarjlı lamlara yerleştirildi. Ardından aşağıda verilen protokoller kullanılarak boyamalar gerçekleştirildi. Değerlendirmesi alanında uzman bir histolog tarafından Olympus CX43 marka kamera ataçmalı mikroskopta yapıldı.

Tablo 8. Hematoksilin-Eozin Boyama Değerlendirilmesi (Öztopuz ve ark., 2019).

Tübüler Nekroz ve Vakuolizasyon Derecelendirilmesi
Grade 0: Hasar yok
Grade 1: Hafif dereceli hasar
Grade 2: Orta dereceli hasar
Grade 3: Şiddetli dereceli hasar

Tablo 9. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü (Beşeren, 2019).

Hematoksilen-Eozin Boyama

1. 70 °C’lik Etüvde- 15 dakika
2. Ksilol – 5 Dakika
3. Ksilol – 5 Dakika
4. %100’lük Alkol – 2 Dakika
5. %95’lik Alkol – 1 Dakika
6. %90’lik Alkol – 1 Dakika
7. Distile Suda Yıkama-1 Dakika
8. Hematoksilen -5 dakika
9. Çeşme Suyunda Yıkama – 1 Dakika
10. Asit Alkol (% 1’lik) – 15-20 Saniye
11. Distile Suda Yıkama -1 Dakika
12. Amonyaklı Su (% 1’lik) – 30 Saniye
13. Distile Suda Yıkama – 2 Dakika
14. Eozin-2-3 Dakika
15. % 70’lik Alkol – 1 Dakika
16. % 80’lik Alkol – 1 Dakika
17. % 95’lik Alkol – 1 Dakika
18. % 100’lük Alkol – 1 Dakika
19. Ksilol – 2 Dakika
20. Ksilol – 5 Dakika
21. Ksilol – 5 Dakika
22. Entellan ile kapatma

Tablo 10. İmmünohistokimyasal Boyama Değerlendirmesi (Kandemir ve ark., 2018).

İmmünohistokimyasal Kaspaz 3 Değerlendirmesi	
Yok (No) -	0
Zayıf(Mild) +	1
Hafif (Moderate) ++	2
Çok (Severe) +++	3

Tablo 11. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü (Adalı, 2013).

İmmünohistokimyasal Boyama
1. 80 °C’lik Etüvde- 60 dakika 2. Deparafinizasyon Aşaması a. Ksilol- 5 Dakika b. % 100’lük Alkol- 1 Dakika c. % 96’lık Alkol- 1 Dakika d. % 95’lik Alkol- 1 Dakika e. % 80’lik Alkol- 1 Dakika f. % 70’lik Alkol- 1 Dakika 3. Retrieval Aşaması a. 1250 ml distile suya 150 ml Sitrat Buffer konularak %10'luk Sitrat Buffer solüsyonu hazırlandı. b. Bu aşama düdüklü tencere ile yapıldı. 10 dakika ısıtma yapıldı, sonra distile sudan çıkan kesitler sıcak sitrat içerisine konuldu ve düdüklü tencerenin ağzı kapatılarak 10 dakika kaynatıldı. c. Kaynatma işlemi bittikten sonra lamalar düdüklüden çıkarılmadan (düdükünün kapağı açılıp yarım bırakılacak şekilde) 20 dakika oda ısında kaynamış sitrat içinde bekletildi. 4. Distile Suda Bekletme (2 Dakika) 5. PapPen ile doku etrafı çizildi.

Tablo 11. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü (Devamı).

6. 3 cc H₂O₂ ve 97 cc Distile sudan oluşan % 3 'lük H₂O₂ (Hidrojen Peroksit) çözeltisinde 10 dakika bekletildi. Ardından distile suda 1 dakika bekletildi.
7. 50 ml PBS, 950 ml distile su ile tamamlanıp PBS çözeltisi hazırlandı. PBS çözeltisinde 10 dakika bekletildi.
8. Wblock 5 dakika bekletildi (Yıkama yapılmadı).
9. Antikor damlatıldı ve kullanım kılavuzunda yazan saate göre bekletildi (Caspase 3 (CPP32) Ab-4 Rabbit Polyclonal Antibody Thermo Scientific-1:200 dilisyon).
10. PBS çözeltisinde yıkama (4 dakika)
11. Biotin (10 dakika)
12. Streptavidin (10 dakika)
13. PBS çözeltisinde (4 dakika)
14. Dapkromojen Aşaması
 - a. 1 ml dap dilüe solüsyonu, 1 damla dap karıştırıldı.
 - b. Doku üzerinde 5 dakika bekletildi.
15. Distile suda yıkama (2 dakika)
16. Mayer hematoksilende (5 dakika)
17. Çeşme suyunda yıkama (2 dakika)
18. Alkol serisinde dehidratasyon
 - a. % 70'lik Alkol- 1 dakika
 - b. % 80'lik Alkol- 1 dakika
 - c. % 95'lik Alkol- 1 dakika
 - d. % 96'luk Alkol- 1 dakika
 - e. % 100'lük Alkol- 1 dakika
19. Ksilen ile şeffaflandırma
 - a. Ksilen- 2 dakika
 - b. Ksilen- 5 dakika
20. Mount ile kapatıldı.

3.4.2. Genetik Analizler

Genetik analizler alınan böbrek doku örneklerinde gerçekleştirildi. -80 °C 'de saklanan dokular çıkarıldıktan sonra buz aküsünün üzerine konularak hazırlıklar gerçekleştirildi. Analizler üç aşamada gerçekleştirildi. İlk aşamada total RNA izolasyonu, ikinci aşamada cDNA eldesi, son aşamada ise Real-Time PCR uygulaması yapıldı.

3.4.2.1. Total RNA İzolasyonu

Ayrılan dokulardan 25-30 mg olacak şekilde 2 ml'lik steril ependorf tüplere konuldu. Ependorf tüpler yaklaşık 10 saniye sıvı azotta bekletildi. Hemen ardından homojenizatörde (Retsch MM400) dokular homojenize edildi. RNA izolasyonu için PURE Link RNA Mini Kit (CatNo.121B301BA) kullanıldı. İşlemler prosedürleri için kitte belirtilen basamaklar uygulandı. Elde edilen RNA örneklerinde NanoDrop ND-1000 kullanılarak saflık ve konsantrasyon ölçümleri yapıldı. Saflık oranını ise 260/280 nm'de ölçüm yapılan RNA'lardan 1.8-2.1 arası değerler kabul edildi (Ovalı, 2015).

3.4.2.2. cDNA Eldesi

PCR işlemi için RNA, su ve reaksiyon için gerekli tampon miktarı hesaplandı (Ovalı, 2015). Ardından cDNA kiti (High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, Applied Biosystems™) ve RNA eldeleri steril kabin içerisine buz aküsünün üzerinde konumlandırıldı.

Tampon bileşenleri ve miktarları Tablo 12.'de belirtildiği gibidir.

Toplamda 2 saat 15 dakikalık prosedürden sonra elde edilen cDNA'lar RT-PCR çalışma gününe kadar -20 °C'de depolandı.

KIM 1/ HAVCR1 (GenBank NC_000005.10 ve Rn00597703-mL), CASPASE 3 (Gen-Bank NC_005115.4 ve Rn 00563902) ve BCL-2 (NC_005112.4 ve Rn99999125_m1) genlerinin normalizasyonu için hamarat (housekeeping gene) gen olan β -Aktin (Gen-Bank NC_005111.4 ve Rn00667869_m1) için TaqMan® gen ekspresyon kiti kullanıldı (Ovalı, 2015).

Tablo 12. cDNA Sentez Protokolü (Ovalı, 2015).

cDNA sentezi	1 örnek için hacim
10 x RT Buffer	2 µl
dNTP	0.8 µl
RandomPrimerMultiScribe®	2 µl
ReverseTranscriptase	1 µl
dH ₂ O	4.2 µl
RNA	10 µl
TOPLAM	20 µl

Hazırlanan tüpler PCR cihazına (The Applied Biosystems®, 2720 Thermal Cycler) yerleştirildi ve Tablo 13. 'de verilen prosedür izlendi.

Tablo 13. PCR Koşulları (Ovalı, 2015).

PCR Koşulları	Sıcaklık	Zaman
1.Adım	25 °C	10 dakika
2.Adım	37 °C	120 dakika
3.Adım	85 °C	5 dakika
4.Adım	4 °C	∞

3.3.2.3. RT-PCR çalışması

Quantitative Real-Time PCR (StepOnePlus™ Real-Time PCR System) çalışması için elde edilen cDNA örnekleri kullanıldı. Gen ekspresyon seviyelerinin analizi için TaqMan (RealQ Plus 2x Master Mix, Ampliqon, Danimarka) kullanıldı. Belirlenen genlerin ekspresyonu için Tablo 14.' de belirtilen prosedür uygulandı (Ovalı, 2015).

Tablo 14. Real Time PCR ingradyent miktarları (Ovalı, 2015).

İngradyent	Bir örnek için hacim
RealQ Plus 2x Master Mix	5 µl
Probe	0,5µl
PCR Grade Su	3,5µl
cDNA	1µl
TOPLAM	10µl

Kaspaz-3, KIM-1 ve Bcl-2 gen ifadeleri için bu genlerin normalizasyonu hamarat gen (housekeeping gene) olan β -Aktin kullanılmıştır. Bu çalışmada PCR yöntemindeki sonuçları doğrulamak için Real-Time PCR (qRT-PCR) cihazı kullanılarak qRT-PCR çalışması yapılmıştır.

3.4.3. Verilerin Analizleri

Genetik analizler qRT-PCR yönteminden elde edilen CP (crossing points) değerleri düzenlendi. Genetik istatistikler için ise qRT-PCR sonuçları düzeltilmiş değerleri $2^{-\Delta\Delta C_t}$ formülü kullanılarak hesaplandı.

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi IBM SPSS Statistics SPSS 18 (SPSS 2009) paket programı kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırmasında OneWay ANOVA ve Mann Whitney U testleri kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmelerde $p=0,05$ ve daha küçük değerler anlamlı olarak kabul edildi.

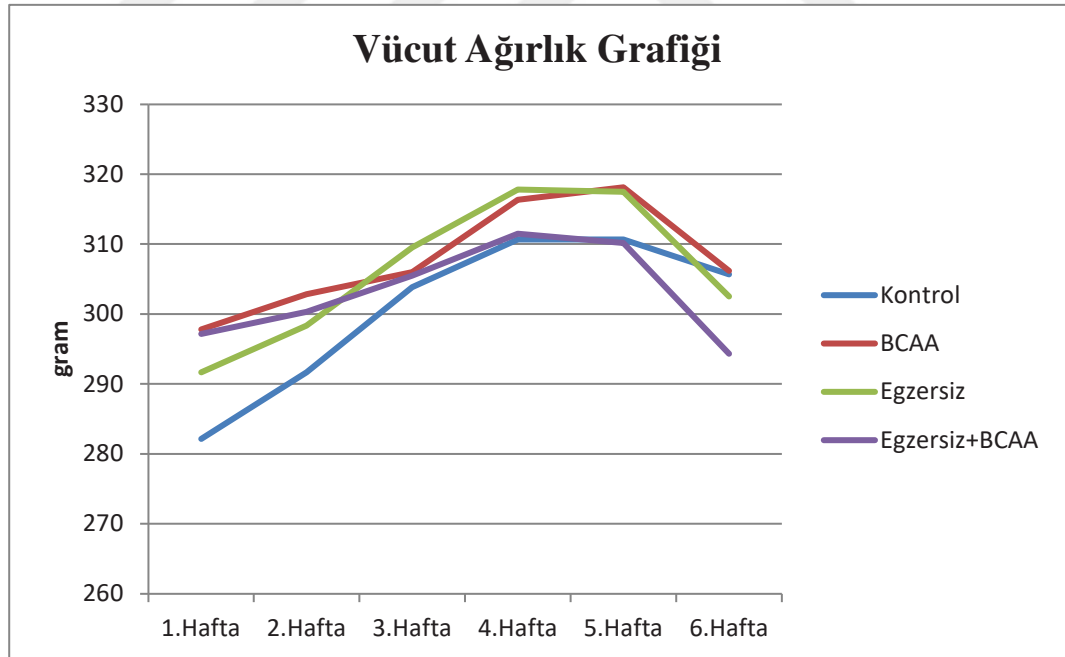
4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı Bulguları

Vücut ağırlıkları her hafta cumartesi günü yapılan ölçümlerle belirlendi. Bu verilere göre vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık belirlenmedi ($p>0,05$). Elde edilen veriler ayrıca ortalamalar ve standart sapmaları ile Tablo 15. ve Şekil 17.' de verilmiştir.

Tablo 15. Vücut ağırlıklarının haftalara göre ortalamaları.

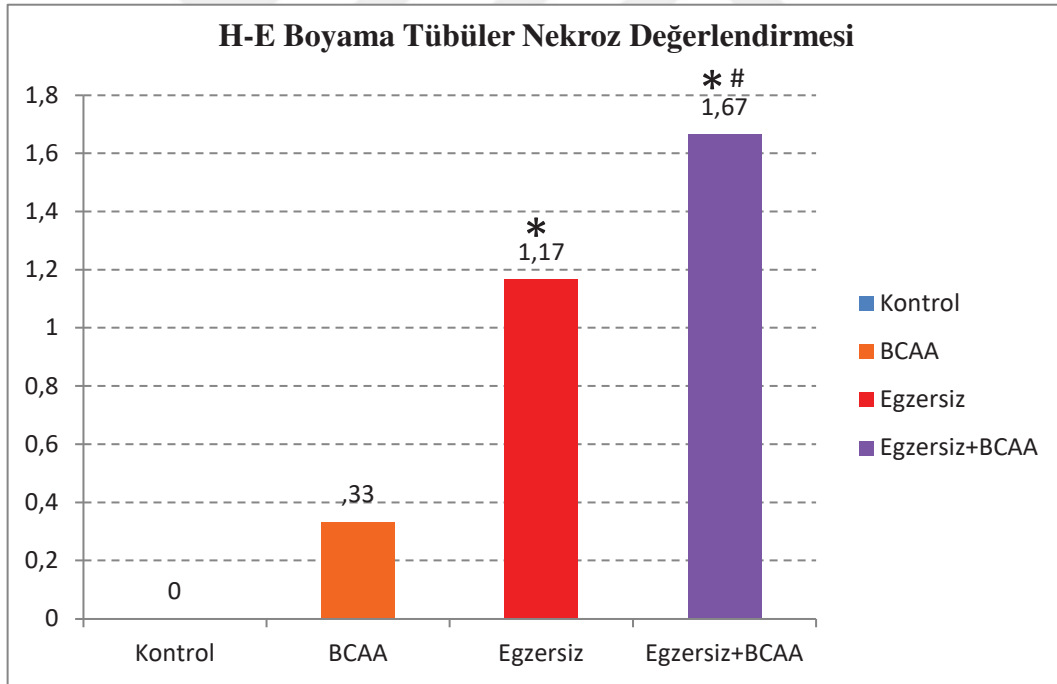
	Kontrol	BCAA	Egzersiz	Egzersiz+BCAA
1.Hafta	282,17 $\pm$ 22,95	297,83 $\pm$ 16,33	291,66 $\pm$ 14,33	297,16 $\pm$ 9,57
2.Hafta	291,66 $\pm$ 27,10	302,83 $\pm$ 24,26	298,33 $\pm$ 17,64	300,33 $\pm$ 11,21
3.Hafta	303,83 $\pm$ 30,58	306,00 $\pm$ 22,44	309,50 $\pm$ 15,94	305,50 $\pm$ 17,69
4.Hafta	310,66 $\pm$ 26,64	316,33 $\pm$ 22,63	317,83 $\pm$ 16,21	311,50 $\pm$ 23,97
5.Hafta	310,66 $\pm$ 36,36	318,16 $\pm$ 23,09	317,50 $\pm$ 13,89	310,16 $\pm$ 31,31
6.Hafta	305,66 $\pm$ 19,89	306,16 $\pm$ 20,38	302,50 $\pm$ 18,25	294,33 $\pm$ 23,88



Şekil 17. Haftalara göre ağırlık değişim ortalaması grafiği.

4.2. Histopatolojik Bulgular

Çalışma için böbreklerden alınan kesitler hematoksilen-eozin boyama sonrasında tübüler nekroz ve vakuolizasyon açısından değerlendirildi. Kontrol grubunun değerlendirme sonucunda herhangi bir tübüler nekroz ve vakuolizasyon bulgusuna rastlanmadı (Resim 3a). Aynı bulgular açısından BCAA grubunda bazı hayvanlarda minimal değişiklikler görülmekle beraber, bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Resim 3b, $p>0,05$). Değerlendirmeler sonucunda Egzersiz grubu ile Egzersiz+BCAA grubunda hem tübüler nekroz hem de vakuolizasyon görüldü. Tübüler nekroz değerlendirmesi sonucunda Egzersiz grubunda Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu ($p=0,007$). Aynı zamanda yine tübüler nekroz değerlendirme sonucuna göre Egzersiz+BCAA grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı artış bulundu ($p=0,002$). Buna ek olarak Egzersiz+BCAA grubundaki artış da BCAA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,007$).

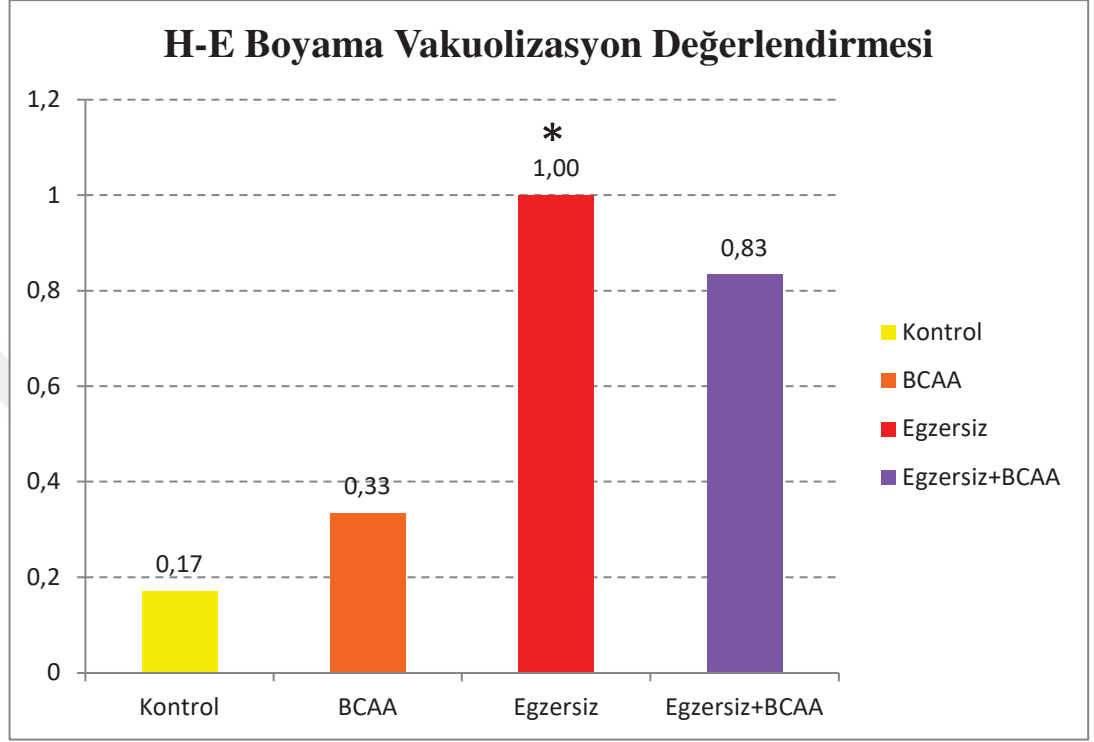


Not: * kontrol grubuna göre, # BCAA grubuna göre anlamlı $p<0,05$.

Not : y ekseninde bulunan değerler H-E boyamada belirlenen nekroz derecelendirmelerinin ortalaması alınarak oluşturulmuştur.

Şekil 18. Hematoksilen-Eozin Boyama tübüler nekroz değerlendirme sonuçları grafiği.

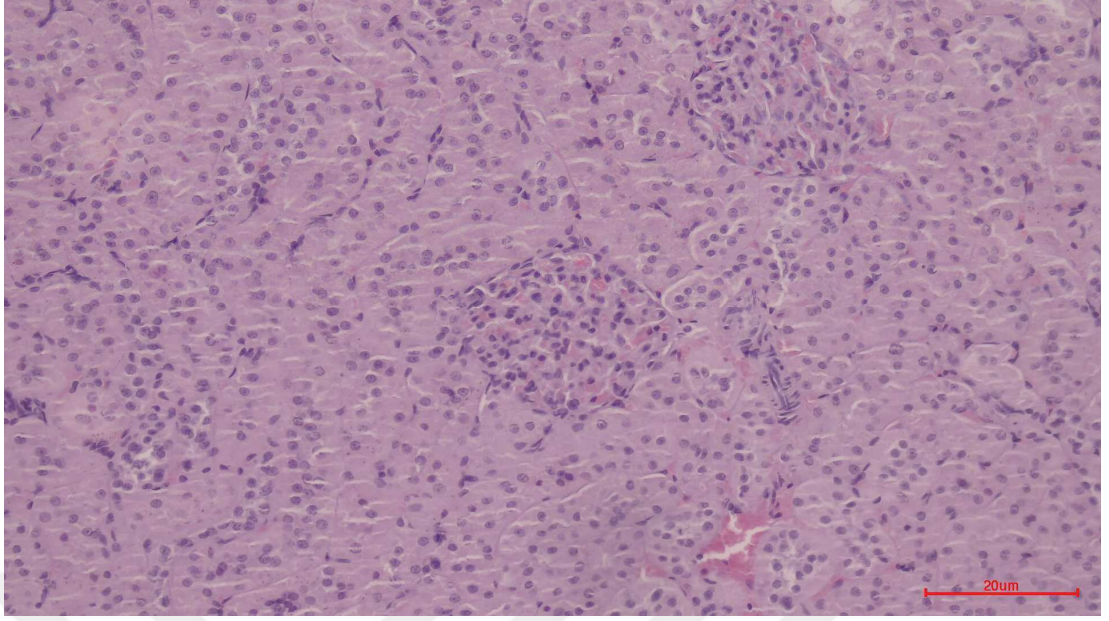
Vakuolizasyon açısından, Egzersiz grubu Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu ($p=0,026$) (Resim 3c,d). Elde edilen veriler Şekil 18. ve 19. 'da verilmiştir.



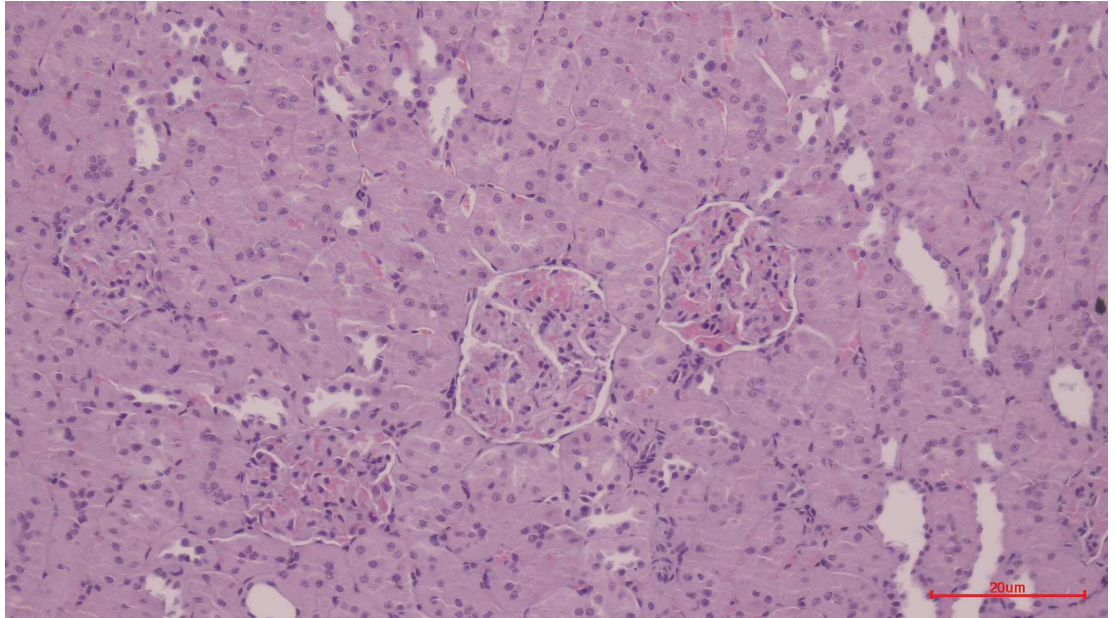
Not: * kontrol grubuna göre anlamlı $p<0,05$.

Not : y ekseninde bulunan değerler H-E boyamada belirlenen hasar derecelendirmelerinin ortalaması alınarak oluşturulmuştur.

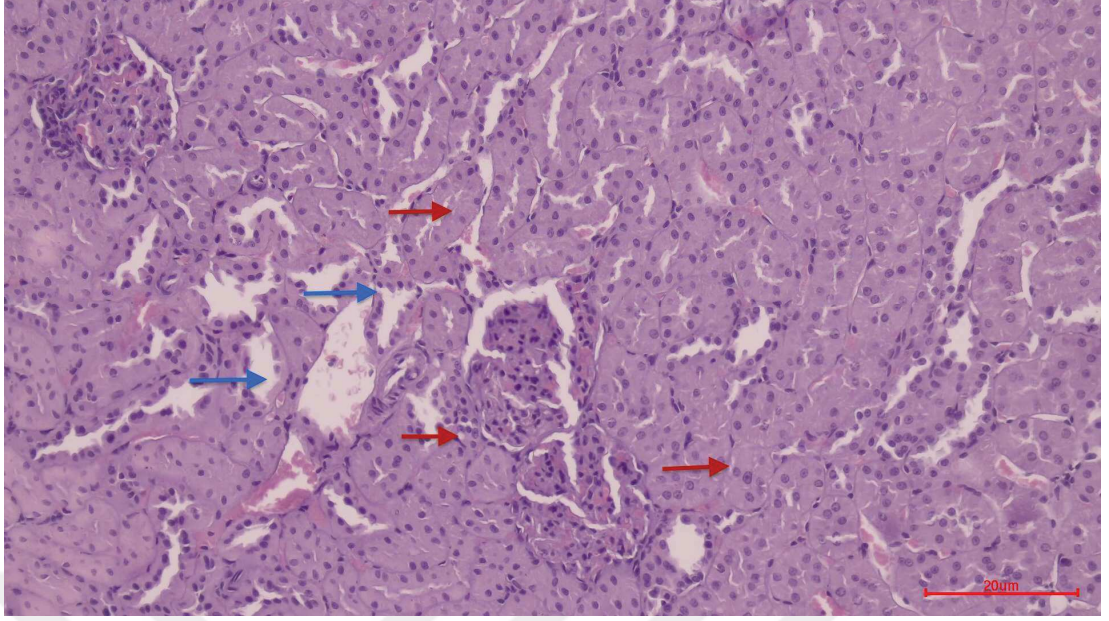
Şekil 19. Hematoksilen-Eozin boyama vakuolizasyon değerlendirme sonuçları grafiği.



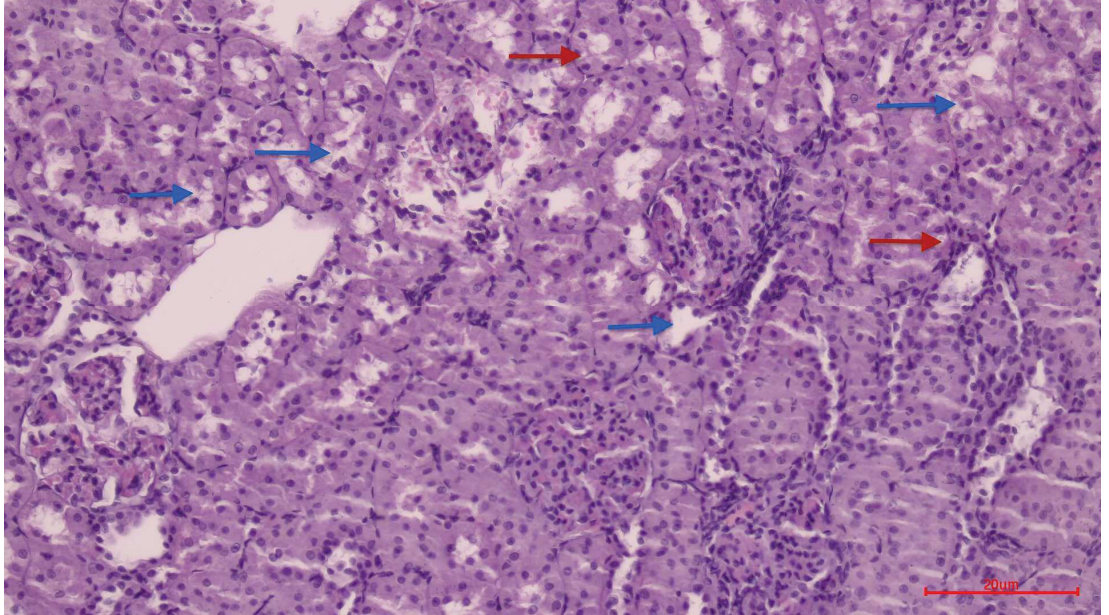
Resim 5a. Kontrol Grubuna ait böbrek dokusu kesitleri (H-E, 200x).



Resim 5b. BCAA Grubuna ait böbrek dokusu kesitleri (H-E, 200x).



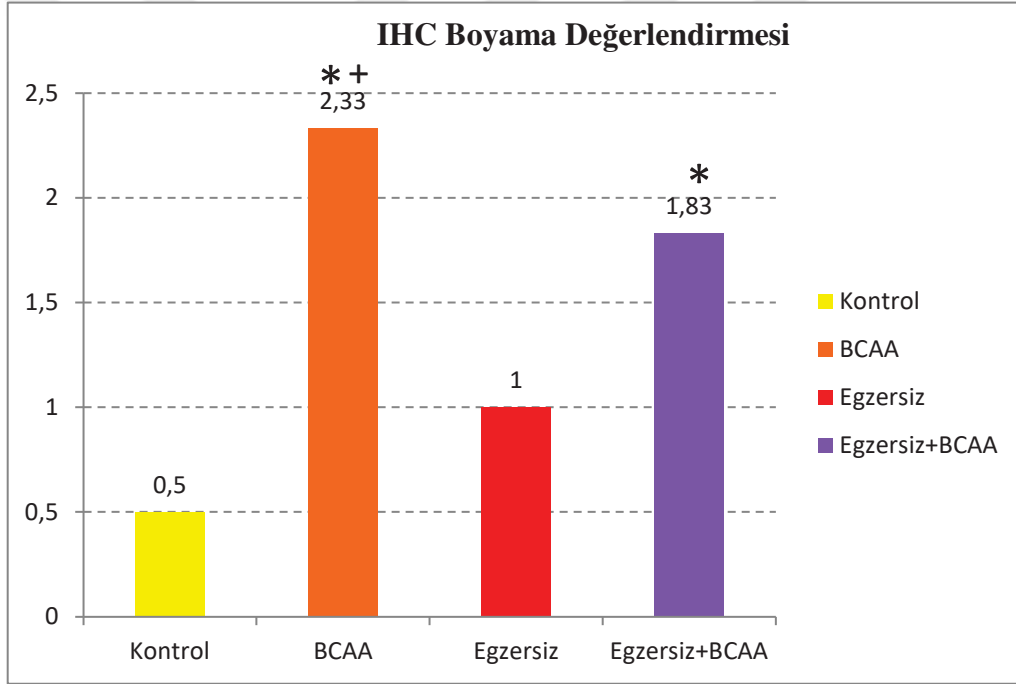
Resim 5c. Egzersiz Grubuna ait böbrek dokusu kesitleri (H-E, 200x). Kırmızı oklar vakuolizasyon alanlarını, mavi oklar ise tübüler nekroz alanlarını göstermektedir.



Resim 5d. Egzersiz+BCAA Grubuna ait böbrek dokularında kesitler (H-E, 200x). Kırmızı oklar vakuolizasyon alanlarını, mavi oklar ise tübüler nekroz alanlarını göstermektedir.

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

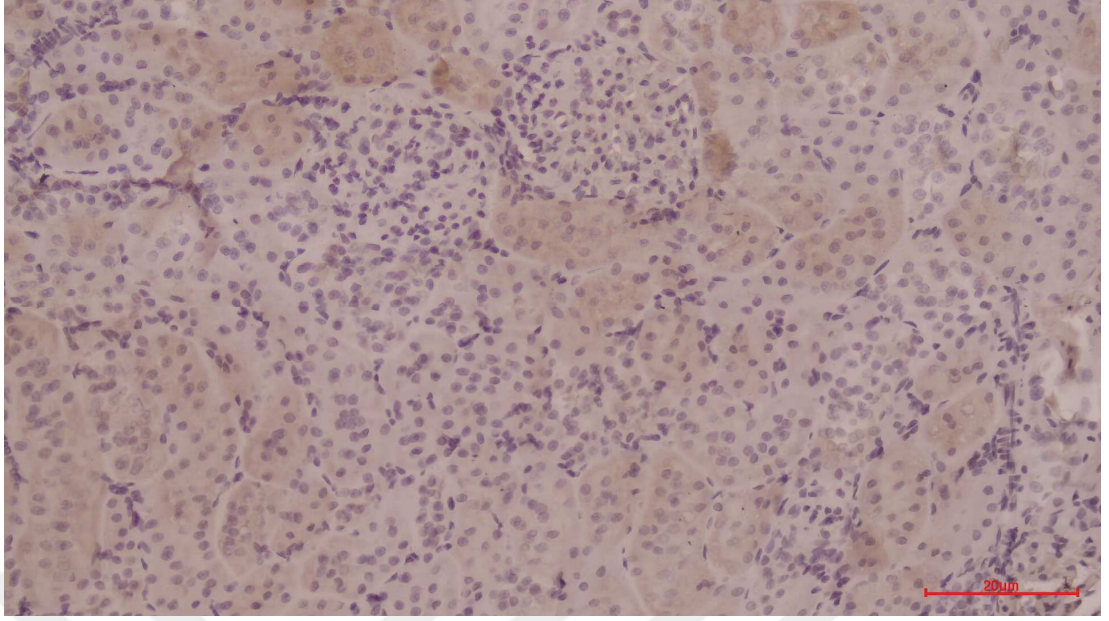
Sıçan anti-Caspase 3 primer antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimyasal boyamalar sonucunda Kontrol ve Egzersiz gruplarının bulgularında farklılığa rastlanmadı (Resim 4a,c). BCAA ve Egzersiz+BCAA gruplarında kaspaz 3 yoğunluklarında artış gözlemlendi (Resim 4b,d). Boyanan alanların derecelendirme sonuçlarına göre yapılan istatistiksel analiz sonucunda BCAA grubu Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artış mevcuttu ($p=0,011$). BCAA grubundaki artış aynı zamanda Egzersiz grubuna göre de istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,046$). Egzersiz+BCAA grubunda ise Kontrol grubuna göre anlamlı artışlar görüldü ($p=0,02$) (Şekil 20).



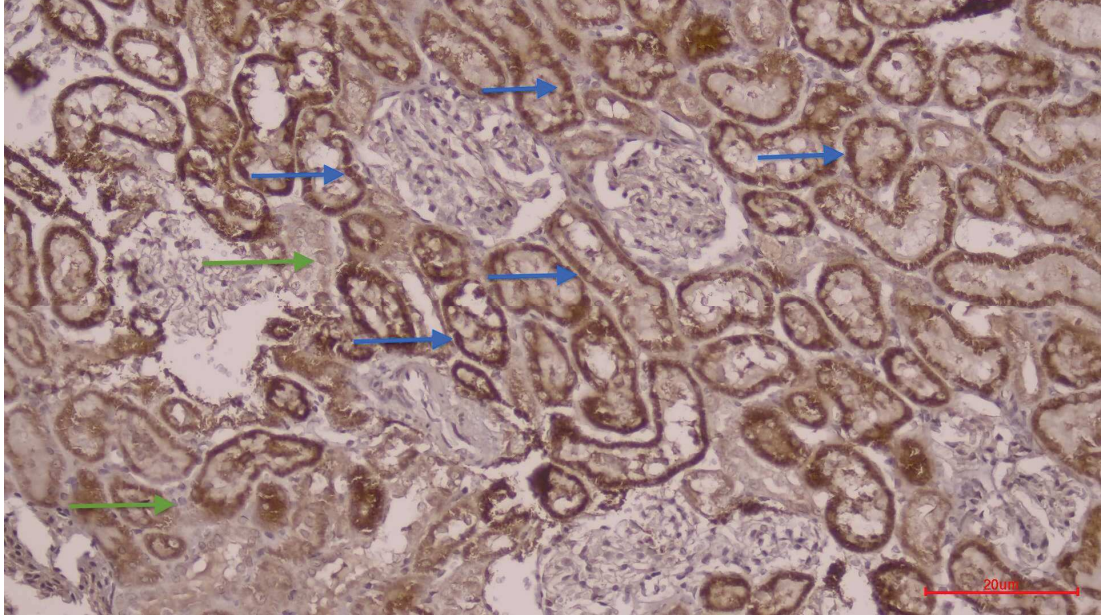
Not: * kontrol grubuna göre, + egzersiz grubuna göre anlamlı $p<0,05$.

Not : y ekseninde bulunan değerler IHC boyamada anti-Caspase-3 ile boyanma derecelendirmeleri ortalaması alınarak oluşturulmuştur.

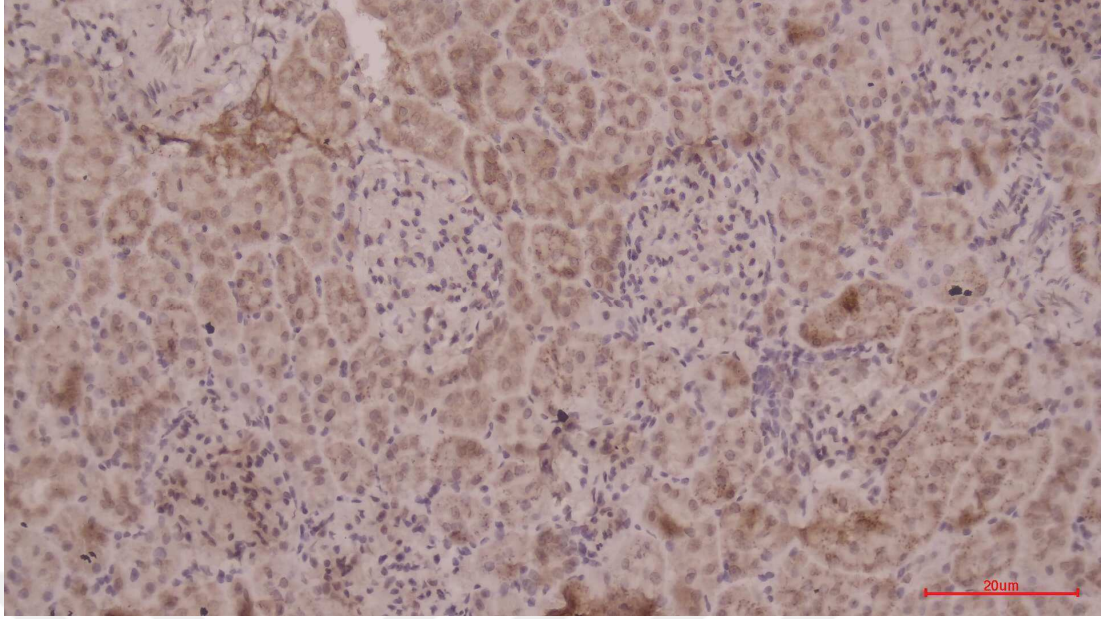
Şekil 20. İmmünohistokimyasal boyama değerlendirme sonuçları grafiği.



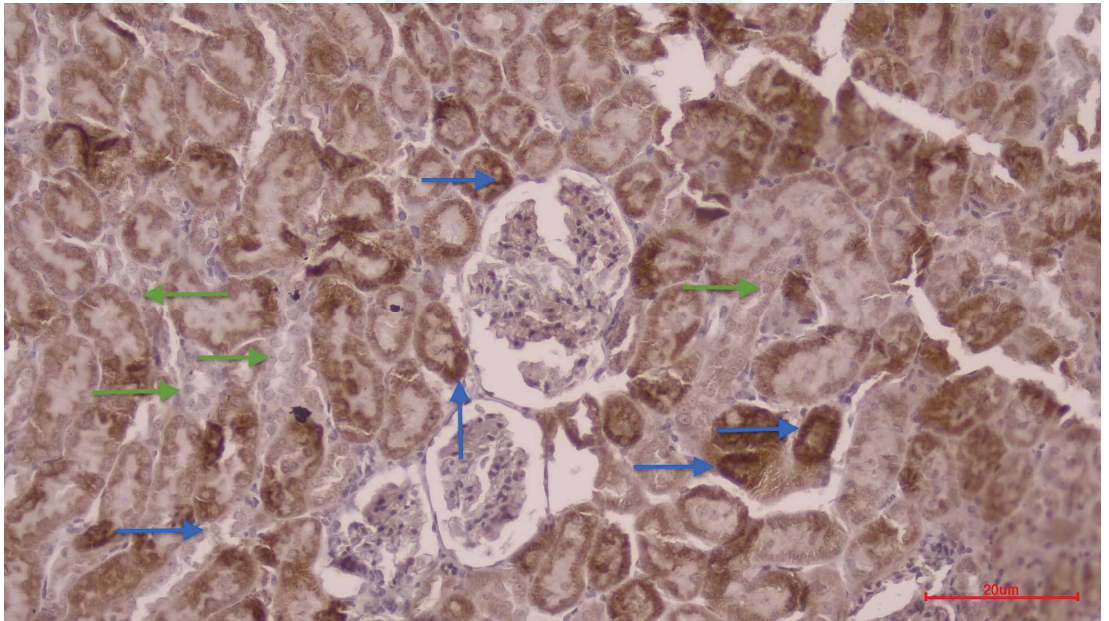
Resim 6a. Kontrol grubuna ait IHC yöntemi ile anti-Caspase-3 primer antikoru kullanılarak boyanmış böbrek dokusu kesitleri (200x).



Resim 6b. BCAA grubuna ait IHC yöntemi ile anti-Caspase-3 primer antikoru kullanılarak boyanmış böbrek dokusu kesitleri (200x). Mavi okla gösterilen hücreler pozitif boyanan apoptotik hücreler olup yeşil okla gösterilen hücreler negatif boyanan normal hücrelerdir.



Resim 6c. Egzersiz grubuna ait IHC yöntemi ile anti-Caspase-3 primer antikorunu kullanılarak boyanmış böbrek dokusu kesitleri (200x). Kontrol grubuna benzer boyanma özelliği izlenmektedir.



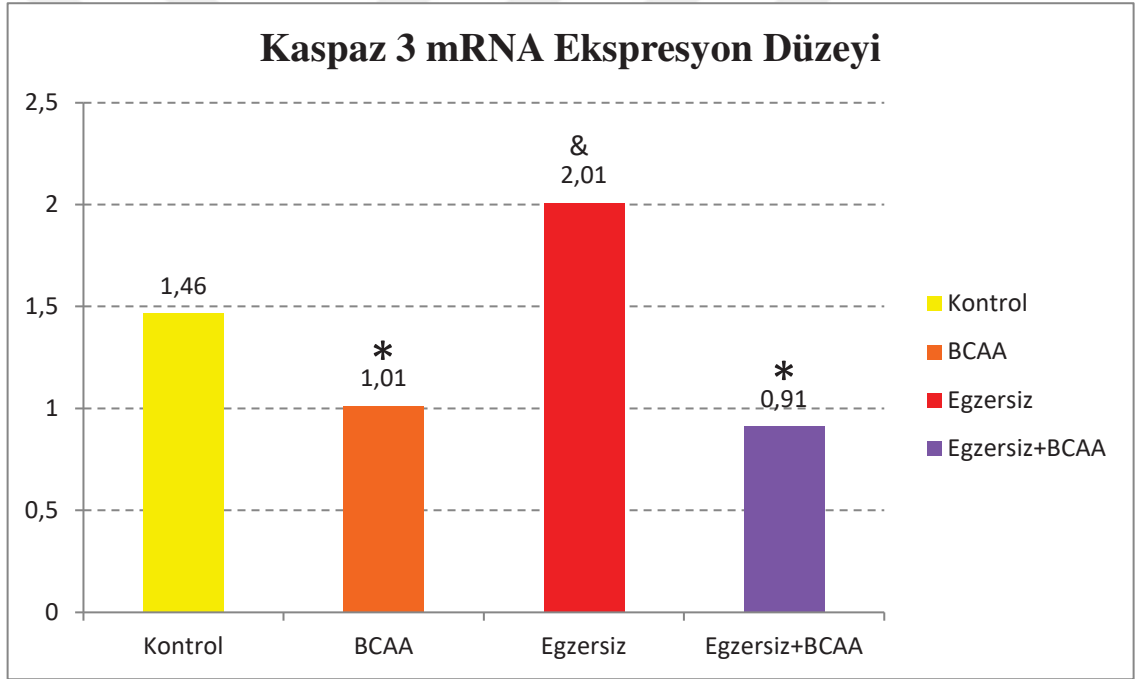
Resim 6d. Egzersiz+BCAA grubuna ait IHC yöntemi ile anti-Caspase-3 primer antikorunu kullanılarak boyanmış böbrek dokusu kesitleri (200x). Mavi okla gösterilen hücreler pozitif boyanan apoptotik hücreler olup yeşil okla gösterilen hücreler negatif boyanan normal hücrelerdir.

4.4. RT-PCR Bulguları

Çalışmamızın RT-PCR sonucunda Kaspaz 3, Bcl-2 ve KIM-1 parametreleri değerlendirildi. İstatistiksel analizlerinin grafikleri aşağıda belirtildiği gibidir.

4.4.1. Kaspaz 3 Bulguları

RT-PCR değerlendirmesi sonucunda, kaspaz 3 gen ekspresyon oranlarında istatistiksel olarak anlamlı değişimler bulundu. BCAA grubunda Kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak azalma görüldü ($p=0,01$). Bununla birlikte Egzersiz+BCAA grubu da Kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gösterdi ($p=0,01$). Egzersiz grubunda ise Egzersiz+BCAA grubuna göre anlamlı bir artış mevcuttur ($p=0,036$) (Şekil 21).



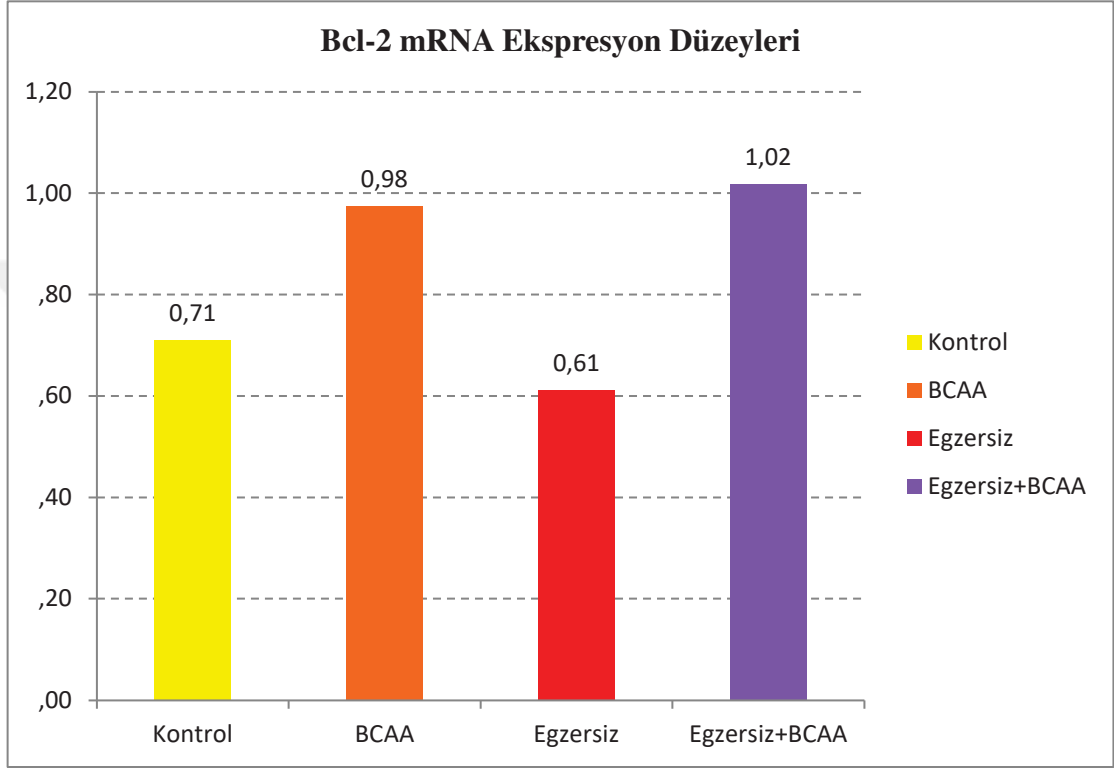
Not: * kontrol grubuna göre, & Egzersiz+BCAA grubuna göre anlamlı $p<0,05$.

Not : y ekseninde bulunan değerler β -aktine göre normalize edilmiş $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleridir.

Şekil 21. RT-PCR Kaspaz 3 ekspresyon dağılım grafiği.

4.4.2. Bcl-2 Bulguları

Yaptığımız Bcl-2 gen ekspresyon oranları analiz sonucunda gruplar arasında farklılıklar meydana gelmesine rağmen istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 22).

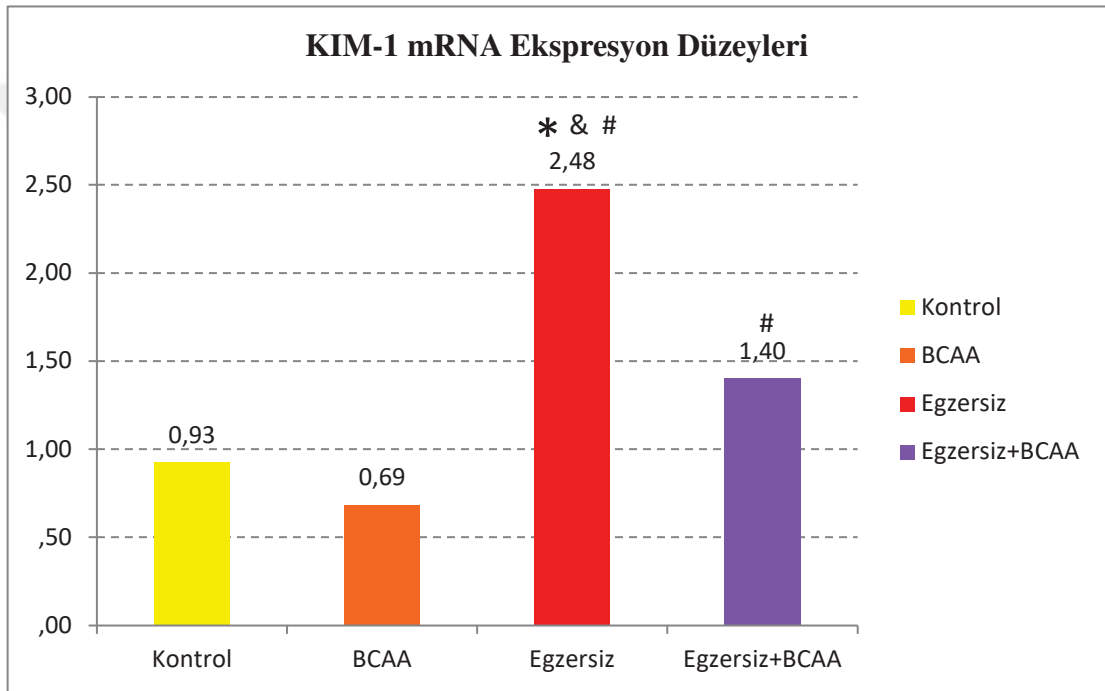


Not : y ekseninde bulunan değerler β -aktine göre normalize edilmiş $2^{-\Delta\Delta C_t}$ değerleridir.

Şekil 22. RT-PCR Bcl-2 ekspresyon dağılım grafiği.

4.4.3. KIM-1 Bulguları

KIM-1'in genetik ekspresyon oranlarının bulguları incelendiğinde ise gruplar arası istatistiksel farklılıklar bulundu. Egzersiz grubunda, Kontrol, BCAA ve Egzersiz+BCAA gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı artış mevcuttu. Kontrol, BCAA ve Egzersiz+BCAA gruplarına göre artışı gösteren p değerleri sırasıyla $p=0,004$; $p=0,003$; $p=0,008$ şeklindedir. Bunlara ek olarak Egzersiz+BCAA grubunda da BCAA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu ($p=0,043$) (Şekil 23).



Not: * Kontrol grubuna göre, # BCAA grubuna göre, & Egzersiz+BCAA grubuna göre anlamlılık $p<0,05$.

Not : y ekseninde bulunan değerler β -aktine göre normalize edilmiş $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleridir.

Şekil 23. RT-PCR KIM-1 ekspresyon dağılım grafiği.

5. TARTIŞMA

Egzersiz, fiziksel aktivitenin bir türü olup planlı, tekrarlı, vücudu koruma veya geliştirme amacına yönelik yapılan hareketlerin bütünü olarak tanımlanmaktadır (Booth ve ark., 2012). Egzersiz bazı hastalıklardan korunma veya tedavi edici olarak yapılabileceği gibi kardiyovasküler sistemi, kas gücünü ve dayanıklılığını, esnekliği ve vücut kompozisyonunu geliştirmek amacıyla da yapılmaktadır (Ardıç, 2014; Idorn ve thorStraten, 2017). Gelişen dünya ile birlikte birçok insan egzersiz ihtiyaçları için spor salonlarına yönelmektedir. İnsanlar bu tercihlerinde ağırlıklı olarak kilo verme ve vücut geliştirme amacı taşımaktadır. Bu amaçlara hızlı ve daha kolay ulaşmak için spor salonları tarafından yoğun egzersiz programları uygulanmaktadır. Bu programlar düzenlenmiş beslenme, yüksek yoğunlukta egzersiz ve genellikle çeşitli katı/sıvı gıda takviyelerini içermektedir. Temelde tüm bu programların hedefi fiziksel olarak estetik hoş bir görünüme sahip olmaktır (Maier ve ark., 2019). Yine bu programlar, bazı bireylerde zamanla estetik görünümün dışına çıkarak rekabetçi vücut sporunun oluşmasına sebebiyet verebilmektedir. Özellikle vücut geliştirmeyi spor olarak yapan bu kişiler patolojik olmasa bile tuhaf görünen aşırı kas kitlelerine sahip olmaya çalışmaktadırlar (Steele ve ark., 2019). Bu amaçla bireyler spor yaparken kas gelişimini arttırıcı besin takviyeleri de kullanmaktadırlar. Kas gelişimini etkileyen bu takviyelerden birisi de BCAA'dır.

Lösin, izölösün ve valin BCAA'ları oluşturan amino asitler olup bunların arasında özellikle lösin, egzersiz sonrası kas protein sentezini arttırıcı etki gösteren bir amino asittir. Bu etkisini anabolik faktörlerin fosforilasyonunu arttırıp, katabolik faktörlerin gen ekspresyonlarını azaltarak göstermektedir. Bu mekanizmalar üzerinden kas yapımını arttırıcı ve kas yıkımını azaltıcı bir etki gösterdiği ifade edilmektedir (Estoche ve ark., 2019). Etkinliklerini kanıtlayan çalışmalar sınırlı olsa da BCAA'lar ifade edilen etkiler nedeniyle takviye olarak kullanılmaktadırlar (Kerksick ve ark., 2018). Kolay ulaşılabilir olmaları ve fiyatlarının ekonomik anlamda bireyleri zorlamamasından dolayı BCAA takviyeleri son dönemlerde yaygınlaşmıştır. Ancak buradaki temel sorun BCAA takviyelerinin hekim onayı ya da kontrolü olmaksızın kullanılması ve bilimsel anlamda olumlu/olumsuz etkinlikleri hakkındaki çalışmaların sınırlı olmasıdır.

Büyük kas gruplarını uzun süre yüksek kapasite çalıştıran aktivitelerin aşırı yüklenmeye sebep olarak böbreklerin de arasında bulunduğu bazı organlar üzerinde olumsuz etkilere yol açabileceği bildirilmektedir (Lin ve ark., 2013). Böbrekler normal vücut fonksiyonlarını sürdürmede hayati öneme sahip organlardır (Wallace, 1998). Ekzojen maddelerin hem metabolizması hem de atılımında rol oynar ve bu nedenle egzersiz durumlarında kontrolsüz uygulanan besin takviyelerinden olumsuz etkilenebilirler (Davani-Davari ve ark., 2019). Akut böbrek yetmezliği gibi kısa süreli böbrek fonksiyonlarındaki bozulmalar genellikle geri dönüşümlü olurken zamanında tedavi edilmezse geri dönüşümsüz hasarlara yol açabilir. Uzun vadede ise bu sorunlar ölümcül sonuçlar doğurabilen kronik böbrek hastalığının şekillenmesine neden olabilmektedir (Schlader ve ark., 2019). Bu nedenle egzersiz ve BCAA takviyelerinin uzun sürelerde böbrekler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi önemlidir. Ancak bu konuda literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Egzersiz ve BCAA'ların böbrek üzerindeki etkilerini ortaya koymak için düzenlenen bu çalışmada; herhangi bir diyet ayırımına gidilmeksizin sağlıklı ve normal vücut ağırlıklarına sahip genç ratlarda çalışılmasından dolayı beklendiği üzere gruplar arasında vücut ağırlığı açısından istatistiksel olarak herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir. Haftalar ile gruplar arasında artış birbirleriyle uyumluluk göstermiştir. Yüksek yoğunluklu dirençli egzersizin kas hipertrofisine yol açarak kas kütlesinde artışa neden olduğu bilinmektedir (D'Antona ve ark., 2006). Egzersiz gruplarında vücut kütlesinde değişim görülmemesini yağ kütlesi kaybı ile egzersizin neden olduğu kas kütlesi kazanımı arasındaki dengeden kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz. Altıncı haftada bütün gruplarda görülen ağırlık azalması ise hayvanların çalışmanın son gününde genel anesteziye alınacak olmalarından dolayı 12 saatlik açlığa maruz bırakılmaları sebebiyle olduğu kanaatindeyiz.

Histopatolojik bulgular incelendiğinde; tübüler nekroz değerlendirmesinde Egzersiz ve Egzersiz+BCAA gruplarında Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi. Bu durum egzersiz sırasında böbreklere gelen kan akımının azalması, egzersizin bitiminde ise artarak reperfüzyon oluşmasıyla açıklanabilir. Yapılan çalışmalarda da bu bulgumuzu destekleyecek şekilde yüksek frekanslı ve şiddetli egzersizin renal iskemi-reperfüzyon ile böbrek hasarı oluşturduğunu ifade edilmektedir (Lin ve ark., 2013). Hatta bu durumun tübüler böbrek hasarını gösteren

üriner belirteçlerde de anlamlı derecede değişikliğe sebebiyet verdiği rapor edilmektedir (Spada ve ark., 2019). Tübüler nekroz değerlendirmesi analizlerinde belirlenen bir diğer bulgumuz ise Egzersiz+BCAA grubunun BCAA grubuna göre de istatistiksel olarak anlamlı artışıdır. Diğer bulgumuzla birlikte değerlendirildiğinde bu artışın sebebinin BCAA takviyesi olduğunu düşünmekteyiz. Yüksek yoğunluklu ve dirençli egzersizin kas hasarına neden olarak kreatin ve bazı metabolitleri arttırdığı yaygın bilinen bir gerçektir (Sorichter ve ark., 2001; Baird ve ark., 2012; Tsatalas ve ark., 2013; Preston ve Wilson, 2016). Sonuç olarak da böbrek yükünde artış olması beklenen bir durumdur. Bu duruma ekzojen olarak BCAA kullanımının da eklenmesinin glomerüler filtrasyon ve geri emilim iş yükü artışına sebep olması muhtemeldir. Bütün bu bilgiler ışığında, BCAA takviyelerinin böbrekte doğrudan tübüler nekroza sebebiyet vermese bile egzersiz ile birlikte tüketiminin böbrek hasarını arttırdığı sonucuna varılmıştır.

Konu ile ilgili yapılan literatür taramasında bir çalışmada böbreklerinde problem olan kişilerde yüksek protein takviyesi alımının böbrek hasarında ilerlemeyi hızlandıracağı, herhangi bir böbrek problemi olmayan kişilerde ise risk faktörlerini artıracağı ifade edilmiştir (Gawad ve Kalawy, 2019). Ratlar üzerine yapılan bir çalışmada ise egzersiz olmaksızın sadece beslenme ile alınan amino asitlerde, miktar kadar amino asit çeşidinin de böbrek yapısında farklı etkilere yol açtığı belirtilmiştir. Bununla birlikte diğer amino asitlerin aksine BCAA'ların karaciğere gitmeden kan dolaşımı ile direkt böbreklere ulaşma özelliklerinden dolayı etkilerini hızlı gösterdikleri, glomerüler filtrasyon hızını azaltarak böbrek fibrozisinin şekillenmesine sebebiyet verdikleri rapor edilmiştir (Pillai ve ark., 2019).

Vakuolizasyon, hücrelerde meydana gelen morfolojik bir değişiklik olmakla beraber otofajinin bir unsurudur (Kroemer ve ark., 2009). Otofaji ise, hasarlı hücre bileşenlerinin temizlenmesinde rol oynayan hücre içi bir geri dönüşüm sistemidir. Egzersiz, otofajiyi indükleyen uyaranlardan biri olarak tanımlanmaktadır. Egzersizin otofajiyi indüklemeye sebebi ise egzersiz esnasında doku hasarını sınırlandırmak, doku devamlılığını sürdürmek, inflamatuvar yanıtları sınırlamak veya adaptasyonların doğrudan sinyallerini oluşturmaktır (Mooren ve Krüger, 2015). Sonuç olarak vakuolizasyon, böbrek hücrelerinde hücre etkinliğini azaltabileceği gibi otofaji sonucu hücrelerin ölümüne de sebebiyet verebilir. Bunun yanında ağır egzersiz

sonrasında sıvı-elektrolit dengesinde birtakım değişiklikler olduğu bilinmektedir (Gladden, 2004; Guyton ve Hall, 2013). Bu değişikliklerin arasında özellikle potasyumun ciddi düşüşü yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur. Potasyum kaybının ardından oluşan hipokaleminin böbrek hastalığına yol açma mekanizması açık olmamakla beraber histolojik olarak vakuolizasyon ile ilişkilendirilmektedir (Lindinger, 1995; Thomson ve ark., 2019). Çalışmamızda, vakuolizasyon için yapılan değerlendirmede Egzersiz grubunda Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edilmiştir. Belirgin vakuolizasyon artışına şiddetli egzersiz sonrası görülen potasyum kaybının yol açtığını düşünmekteyiz. Vakuolizasyon açısından bir diğer bulgumuz ise, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber Egzersiz+BCAA grubunda Egzersiz grubuna göre azalma olmasıdır. Bu durumun sebebinin mTORC1 proteininin BCAA'lar tarafından aktive etmesi olduğunu; yoğun egzersizle oluşan vakuolizasyonun ardından gerçekleşme ihtimali yüksek olan otofajik hücre ölümüne karşı BCAA'ların koruyucu bir etki sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Anti-rat Caspase 3 primer antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimyasal boyama bulgularımızda Egzersiz+BCAA grubunda Kontrol grubuna göre, Egzersiz grubunda ise hem Kontrol hem de BCAA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artışlar tespit ettik. Kaspaz 3'ün gen ekspresyon bulgularında ise Egzersiz grubunda Egzersiz+BCAA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış belirledik. Bununla birlikte yine kaspaz 3 ekspresyonlarında BCAA ve Egzersiz+BCAA gruplarında Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma belirledik. PCR metodu bir proteinin sentezlenebilmesi için, ilgili gen bölgesinin aktive olup olmadığını gösteren bir yöntemdir. IHC metodu ise gen bölgesinin aktivasyonundan bağımsız olarak, ilgili proteinin ortamda bulunup bulunmadığını gösteren bir yöntemdir. Protein sentezi için gerekli gen eksprese olduğunda sentez olayı başlar. İlgili protein yeterli miktara ulaştığında gen bölgesi tekrardan inaktive olur ve kapanır. Ancak gen ekspresyonunun azalması ve durması, ortamda ilgili proteinin olmadığı anlamına gelmemektedir. Ortamda yeteri kadar ürün/protein bulunması gen ekspresyonu üzerine negatif feedback etki gösterir. Mevcut çalışmamızda, PCR yöntemi ile belirlenen gen ekspresyon düzeylerinin azalması, apoptozun durması değil, ortamda yeterli kaspaz 3 miktarına ulaşılması anlamına gelebilir. Zira, IHC ile belirlenen

kaspaz 3 düzeyleri yüksek bulunmuştur. Bu durum da iddiamızı kanıtlar niteliktedir. Ayrıca, kaspaz 3, prokaspaz 3 şeklinde inaktif öncül olarak salınan bir maddedir. Ortamda bulunan aktif kaspaz 8 veya 9 ile aktive olarak kaspaz 3 haline dönüşür (Goldar ve ark., 2015; Bildik ve ark., 2018). IHC ile belirlenen, ortamdaki kaspaz 3'dür. Ancak gen ekspresyonu ile sentezi başlayan prokaspaz 3'dür. Bu bulgular, birlikte değerlendirildiğinde BCAA'ların hücrede mevcut bulunan prokaspaz 3'leri aktive ederek hücreleri apoptoza yönlendirici etki gösterdiğini düşündürmüştür. Benzer bir şekilde Viana ve ark. çalışmasında, zengin lösin diyetiyle beslenen ve tümör oluşturulan ratlarda, artmış lösin miktarının oksidatif stresi de arttırdığı ifade edilmektedir (Viana ve ark., 2019). Bu aktivasyonun prokaspaz 3'leri aktive eden mekanizmada etkili olabileceğini akla getirmektedir. Bunun yanı sıra prokaspaz 3 aktivasyonunu sağlayan diğer bir mekanizma ise, BCAA'lar dışındaki amino asitlerin eksikliği olabilir. Sağlıklı hücrelerde, zarar gören yapıların onarımı için gerekli olan moleküller amino asitlerdir. BCAA'ların artırılmış varlığı bu anabolizmayı aktive ederken eksik olan amino asit çeşitleri nedeniyle hücrelerin kendi onarımını sağlayamaması sonucunda hücrelerde prokaspaz 3 aktivasyonunun gerçekleştiğini düşündürmektedir. Sonuç olarak ise, BCAA'ların varlığının primer olarak olmasa da sekonder olarak apoptoza sebebiyet verebileceğini düşündürmektedir. Yine kaspaz 3 ekspresyonları IHC boyamalar ile birlikte değerlendirildiğinde, Egzersiz grubunda aktif kaspaz 3 gözlemlenmemesine rağmen, kaspaz 3 ekspresyonunda artış olması da bize apoptoz mekanizmasında egzersiz ile BCAA'ların antagonist bir etkinlik gösterdiğini işaret etmektedir. Başka bir deyişle egzersizin primer olarak apoptoza sebebiyet vermediğini, sekonder bir stresör için apoptoz oluşumu açısından ortam hazırladığını düşünmekteyiz. Bu stresör ise glikoz miktarında azalma, yetersiz oksijen oranı, artan ADP miktarı olabilir. Bu nedenle böbrek dokularında var olan problem/leri bilinmeyen kişilerde yoğun egzersizin böbrek üzerinde daha ciddi sorunlara yol açma ihtimali bulunmaktadır.

Diğer bir bulgumuz olan Bcl-2 'nin gen ekspresyonlarında, gruplar arasında herhangi bir istatistiksel farklılık bulunmamasına rağmen, BCAA ve Egzersiz+BCAA gruplarında Kontrol grubuna göre artış, Egzersiz grubunda ise bu iki gruba göre azalış görülmüştür. Bu durum bize BCAA'ların apoptoz mekanizmalarında, Bcl-2 ekspresyonu üzerinden herhangi bir etkinlik göstermediği

sonucunu vermiştir. Eğer bir etkinlik gösterecekse de, bu mekanizmada Bcl-2 ile birlikte yer alan diğer molekülleri içeren araştırmaların yapılmasıyla bu durum açığa çıkacaktır.

Akut böbrek hasarını tanımlamak için ortaya çıkan biyolojik bir belirteç olan KIM-1, özellikle proksimal tübüllerde, akut tübüler hasarın tanımlanmasında hassas bir belirteç olarak kullanılabileceği ifade edilmektedir (Yin ve Wang, 2016; Yin ve ark., 2019). Bizim elde ettiğimiz bulgular neticesinde KIM-1 ekspresyonunda, Egzersiz grubunda diğer bütün gruplara göre, Egzersiz+BCAA grubuna ise sadece BCAA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış görülmüştür. Buna ek olarak histopatolojik bulgularımız KIM-1 ekspresyonu bulgularımızla paralel bir şekilde seyretmektedir. Bu bilgiler ile KIM-1 gen ekspresyonu ve histopatolojik bulgularımızın birlikte değerlendirilmesi sonucunda, egzersizin özellikle proksimal tübüller üzerinde zarar oluşturduğunu gözlemlemiş olup, egzersizin yanında BCAA tüketiminin ise böbreğin diğer bölümleri olan bowman kapsülü ve glomerüler membranda da hasara sebebiyet verebileceği öne sürmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız BCAA takviyelerinin ve egzersiz ile birlikte böbrek dokusu üzerine etkilerini inceleyen ilk çalışma olmasından dolayı önem arz etmektedir. Bu çalışma ile günlük yaşamda sıklıkla yer alan bir konuya açıklık getirerek insanlığa katkı sağlamaya çalıştık. Bu çabamızın sonuçlarının hem insanlığa hem de literatüre katkı sağlamasını temenni etmekteyiz.

Yüksek yoğunluklu egzersiz ve BCAA takviyesi böbrekte çeşitli hasarlara neden olmaktadır. Bu etkilerini, farklı mekanizmalar neticesinde şekillenen hücre ölümleri üzerinden göstermektedirler. Egzersiz, apoptoz için hücresel düzeyde alt yapı hazırlarken, BCAA takviyeleri kaspaz 3'ün aktivasyonunu arttırmak suretiyle etki etmektedir. Elde ettiğimiz verilere bakıldığında, iki komponentin bir arada bulunması, böbrek dokusundaki hasarları arttırmaktadır. Bununla birlikte egzersizde kullanılan BCAA takviyesinin böbreklerde oluşturduğu hasar, moleküler araştırmalar yapılmaksızın mikroskop altında patolojik preparatlarda dahi gözlemlenmiş olmasından dolayı, ilerleyen süreçlerde bilim dünyasının bu konu ile alakalı olarak daha kapsamlı çalışmalar yapması gerektiği kanaatini oluşturmuştur.

Böbrek dokusu üzerindeki etkileri ile bağlantılı olabilecek; kas yıkımına bağlı olarak artan kreatin miktarını ve böbrekteki etkisini, genellikle Bcl-2 proteini ile birlikte değerlendirilen Bax proteinini, glomerüler filtrasyon hızını, serum potasyum seviyelerinin değerlendirilememesi çalışmamızın kısıtlayan etkenlerdir. Çalışmamızdan yola çıkarak, farklı dozlarda ve farklı saat dilimlerinde –egzersizden birkaç saat önce, egzersizin hemen öncesinde, egzersiz anında, egzersizden hemen sonra, egzersizden birkaç saat sonra vs- BCAA takviyelerinin etkilerini de inceleyen daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

Bu çalışmanın sonuçlarıyla, özellikle spor salonlarında aktivitelere başlama kararından önce ve aktivite süreçlerinde hekim kontrolünde böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesini tavsiye etmekteyiz. BCAA takviyesi kullanımına gereksinim olan durumlarda ise oral alımının yavaş ve hekimin en uygun gördüğü zaman diliminde diğer amino asitlerle desteklenerek tüketilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Adalı Y. Serviks Karsinomunda Prognozu ve Tedaviye Yanıtı Etkileyen Bazı Prognostik Faktörlerin Araştırılması. 2013, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 69 sayfa, İzmir, (Prof. Dr. Meral Koyuncuoğlu).
- Agarwal A, Sengupta P, Durairajanayagam D. Role of L-carnitine in Female Infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2018; 16(1): 5.
- Arany Z, Neinast M. Branched Chain Amino Acids in Metabolic Disease. *Current Diabetes Reports*. 2018; 18(10): 76.
- Ardıç F. Egzersiz Reçetesi. *Türk Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Dergisi*. 2014; 60: 1-8.
- Arınsoy T, Güngör Ö, Koçyiğit İ. Böbrek Fizyopatolojisi. *Reaktif*, 2017: s 1-6.
- Baird MF, Graham SM, Baker JS, Bickerstaff GF. Creatine Kinase and Exercise-Related Muscle Damage Implications for Muscle Performance and Recovery. *Journal of Nutrition and Metabolism*. 2012.
- Beşeren H. Sığırlarda Oküler Yassı Hücreli Karsinomların Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması. 2019, Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 95 sayfa, Kars, (Prof. Dr. Enver Beytut).
- Bifari F, Nisoli E. Branched Chain Amino Acids Differently Modulate Catabolic and Anabolic States in Mammals: A Pharmacological Point of View. *British Journal of Pharmacology*. 2017; 174(11): 1366-1377.
- Bildik A, Bayar İ. Kanserde Apoptotik Yolakların İnhibisyonu. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*. 2018; 9(2): 42-51.
- Birkinshaw RW, Czabotar PE. The BCL-2 Family of Proteins and Mitochondrial Outer Membrane Permeabilisation. In *Seminars In Cell & Developmental Biology*. 2017; 72: 152-162.
- Booth FW, Roberts CK, Laye MJ. Lack of Exercise is a Major Cause of Chronic Diseases. *Comprehensive Physiology*. 2012; 2(2): 1143-1211.
- Brown AC. An Overview of Herb and Dietary Supplement Efficacy, Safety and Government Regulations in The United States With Suggested Improvements Part1 of 5 Series. *Food and Chemical Toxicology*. 2016; 107: 449-471.
- Burghardt PR, Fulk LJ, Hand GA, Wilson MA. The Effects of Chronic Treadmill and Wheel Running on Behavior in Rats. *Brain Research*. 2004; 1019(1-2): 84-96.

- Butts J, Jacobs B, Silvis M. Creatine Use in Sports. *Sports Health*. 2018; 10(1): 31-34.
- Campos-Ferraz PL, Bozza T, Nicastro H, Lancha Jr AH. Distinct Effects of Leucine or A Mixture of The Branched Chain Amino Acids (Leucine, Isoleucine and Valine) Supplementation on Resistance to Fatigue, and Muscle and Liver -Glycogen Degradation, in Trained Rats. *Nutrition*. 2013; 29(11-12): 1388-1394.
- Clarke PGH, Developmental Cell Death: Morphological Diversity and Multiple Mechanisms. *Anatomy and Embryology*. 1990; 181: 195–213.
- Coşkun G, Özgür H. Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*. 2011; 20(3): 145-158.
- Daenen L, Varkey E, Kellmann M, Nijs J. Exercise, Not to Exercise, or How to Exercise in Patients With Chronic Pain? Applying Science to Practice. *The Clinical Journal of Pain*. 2015; 31(2): 108-114.
- D'Antona G, Lanfranconi F, Pellegrino MA, Brocca L, Adami R, Rossi R et al. Skeletal Muscle Hypertrophy and Structure and Function of Skeletal Muscle Fibres in Male Body Builders. *The Journal of Physiology*. 2006; 570(3): 611-627.
- Davani-Davari D, Karimzadeh I, Khalili, H. The Potential Effects of Anabolic-Androgenic Steroids and Growth Hormone as Commonly Used Sport Supplements on The Kidney: A Systematic Review. *BMC Nephrology*. 2019; 20(1): 198.
- Deniz İ. Sıçanlarda Diethylnitrosamine ile Oluşturulan Deneysel Böbrek Hasarı Üzerine Curcumin'in Etkilerinin Stereolojik Yöntemlerle Araştırılması. 2018, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 62 sayfa, Van, (Prof. Dr. Murat Çetin Rağbetli).
- Devries MC, Phillips SM. Supplemental Protein in Support of Muscle Mass and Health: Advantage Whey. *Journal of Food Science*. 2015; 80(S1): A8-A15.
- Dutton KR, Laura RS. Towards A History of Bodybuilding. *Sporting Traditions*. 1989; 6(1): 25-41.
- Eaton DC, Pooler JP. Süleymanlar G, Sifil A (Editörler). *Vander'in Böbrek Fizyolojisi*. Altıncı Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara; 2005: s. 2-16.
- Ebrahim AS, Sabbagh H, Liddane A, Raufi A, Kandouz M, Al-Katib A. Hematologic Malignancies: Newer Strategies to Counter The BCL-2 Protein. *Journal of Cancer Research And Clinical Oncology*. 2016; 142(9): 2013-2022.

- El-Galley RE, Keane TE. Embryology, Anatomy, And Surgical Applications of The Kidney And Ureter. *Surgical Clinics*. 2000; 80(1): 381-401.
- Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology*. 2007; 35(4): 495-516.
- Eröz R, Karakaş A, Alkoç OA, Baltacı D, Oktay M, Çolakoğlu S. Apoptozis Hakkında Bilinenler (Literatür Taraması). *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*. 2012; 14(2): 87-101.
- Estoche JM, Jacinto JL, Roveratti MC, Gabardo JM, Buzzachera, CF. de Oliveira EP, et al. Branched-Chain Amino Acids Do Not Improve Muscle Recovery From Resistance Exercise in Untrained Young Adults. *Amino Acids*. 2019; 51(9): 1387-1395.
- Falavigna G, Junior J, Rogero M, Pires I, Pedrosa R, Junior E, et al. Effects of Diets Supplemented With Branched Chain Amino Acids On The Performance And Fatigue Mechanisms of Rats Submitted To Prolonged Physical Exercise. *Nutrients*. 2012; 4(11): 1767-1780.
- Fielding R, Riede L, Lugo JP, Bellamine A. L-Carnitine Supplementation in Recovery After Exercise. *Nutrients*. 2018; 10(3): 349.
- Fouré A, Nosaka K, Gastaldi M, Mattei JP, Boudinet H, Guye M, et al. Effects of Branched-Chain Amino Acids Supplementation on Both Plasma Amino Acids Concentration and Muscle Energetics Changes Resulting From Muscle Damage: A Randomized Placebo Controlled Trial. *Clinical Nutrition*. 2016; 35(1): 83-94.
- Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, et al. Molecular Mechanisms of Cell Death: Recommendations of The Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death & Differentiation*. 2018; 25(3): 486.
- Garrido C, Kroemer G. Life's Smile, Death's Grin: Vital Functions of Apoptosis-Executing Proteins. *Current Opinion in Cell Biology*. 2004; 16(6): 639-646.
- Gawad MA, Kalawy HA. Gym Nephropathy Bodybuilding Versus Kidney Damaging. *Journal of The Egyptian Society of Nephrology and Transplantation*. 2019; 19(4): 124.
- Gladden LB. Lactate Metabolism: A New Paradigm For The Third Millennium. *The Journal of Physiology*. 2004; 558(1): 5-30.
- Goldar S, Khaniani MS, Derakhshan SM, Baradaran B. Molecular Mechanisms of Apoptosis And Roles in Cancer Development and Treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*. 2015; 16(6): 2129-2144.

- Gonzalez-Ramirez M, Salvesen GS. A Primer on Caspase Mechanisms. In *Seminars In Cell & Developmental Biology*. 2018; 82: 79-85.
- Goron A, Moinard C. Amino Acids and Sport: A True Love Story?. *Amino Acids*. 2018; 50(8): 969-980.
- Guyton AC, Hall JE. Çağlayan Yeğen B, Alican İ, Solakoğlu Z (Editörler). *Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji*. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul; 2013: s 285-409.
- Hall M, Trojian TH. Creatine Supplementation. *Current Sports Medicine Reports*. 2013; 12(4): 240-244.
- Hagiwara A, Nishiyama M, Ishizaki S. Branched-Chain Amino Acids Prevent Insulin-Induced Hepatic Tumor Cell Proliferation by Inducing Apoptosis Through mTORC1 and mTORC2-Dependent Mechanisms. *Journal of Cellular Physiology*. 2012; 227(5): 2097-2105.
- Holeček, M. Branched-Chain Amino Acids in Health And Disease: Metabolism, Alterations in Blood Plasma, and As Supplements. *Nutrition&Metabolism*. 2018; 15(1): 33.
- <https://courses.lumenlearning.com/wm-biology2/chapter/kidneys/> Erişim tarihi: 04.03.2020 (Resim).
- <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/sports-nutrition-market>. Erişim tarihi: 26.05.2020 (Araştırma).
- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=branched+chain+amino+acid+supplement&timeline=expanded> Erişim tarihi: 04.03.2020 (Tarama).
- Huang WC, Chang YC, Chen YM, Hsu YJ, Huang CC, Kan NW, et al. Whey Protein Improves Marathon-Induced Injury and Exercise Performance in Elite Track Runners. *International Journal of Medical Sciences*. 2017; 14(7): 648.
- Idorn M, ThorStraten P. Exercise and Cancer: From “Healthy” to “Therapeutic”?. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2017; 66(5): 667-671.
- Ignéy FH, Krammer, PH. Death and Anti-Death: Tumour Resistance to Apoptosis. *Nature Reviews Cancer*. 2002; 2(4): 277-288.
- Jackman SR, Witard OC, Jeukendrup AE, Tipton KD. Branched-Chain Amino Acid Ingestion Can Ameliorate Soreness From Eccentric Exercise. *Medicine And Science In Sports and Exercise*. 2010; 42(5): 962-970.

- Jouvet P, Rustin P, Taylor DL, Pocock JM, Felderhoff-Mueser U, Mazarakis ND, et al. Branched Chain Amino Acids Induce Apoptosis in Neural Cells Without Mitochondrial Membrane Depolarization or Cytochrome C Release: Implications For Neurological Impairment Associated With Maple Syrup Urine Disease. *Molecular Biology of The Cell*. 2000; 11(5): 1919-1932.
- Kandemir FM, Yildirim S, Kucukler S, Caglayan C, Mahamadu A, Dortbudak MB. Therapeutic Efficacy of Zingerone Against Vancomycin-Induced Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis and Aquaporin 1 Permeability in Rat Kidney. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018; 105: 981-991.
- Ke Z, Yip SP, Li L, Zheng XX, Tong KY. The Effects of Voluntary, Involuntary, and Forced Exercises on Brain-Derived Neurotrophic Factor and Motor Function Recovery: A Rat Brain Ischemia Model. *PloS One*. 2011; 6(2): e16643.
- Kelty TJ, Schachtman TR, Mao X, Grigsby KB, Childs TE, Olver TD, et al. Resistance-Exercise Training Ameliorates LPS-Induced Cognitive Impairment Concurrent With Molecular Signaling Changes in The Rat Dentate Gyrus. *Journal of Applied Physiology*. 2019; 127: 254–263.
- Kephart WC, Wachs TD, Mac Thompson R, Mobley CB, Fox CD, McDonald JR, et al. Ten Weeks of Branched-Chain Amino Acid Supplementation Improves Select Performance and Immunological Variables in Trained Cyclists. *Amino Acids*. 2016; 48(3): 779-789.
- Kerasioti E, Stagos D, Tsatsakis AM, Spandidos DA, Taitzoglou I, Kouretas, D. Effects of Sheep/Goat Whey Protein Dietary Supplementation on The Redox Status of Rats. *Molecular Medicine Reports*. 2018; 17(4): 5774-5781.
- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon With Wide-Ranging Implications in Tissue Kinetics. *British Journal of Cancer*. 1972; 26: 239–57.
- Kerksick CM, Wilborn CD, Roberts MD, Smith-Ryan A, Kleiner SM, Jäger R, et al. ISSN Exercise & Sports Nutrition Review Update: Research&Recommendations. *Journal of The International Society of Sports Nutrition*. 2018; 15(1): 38.
- Keskin E, Hatipoğlu D. Granzimlerin Apoptotik ve Non-Apoptotik Etkileri. *Kocatepe Veteriner Dergisi*. 2018; 11(1): 96-103.
- Kile BT. The Role of The Intrinsic Apoptosis Pathway in Platelet Life and Death. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2009; 7: 214-217.

- Kimball SR, Jefferson LS. New Functions For Amino Acids: Effects on Gene Transcription and Translation. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2006; 83(2): 500-507.
- Klitgaard, H. A Model For Quantitative Strength Training of Hindlimb Muscles of The Rat. *Journal of Applied Physiology*. 1988; 64(4): 1740-1745.
- Knapik JJ, Steelman RA, Hoedebecke SS, Austin KG, Farina EK, Lieberman HR. Prevalence of Dietary Supplement Use by Athletes: Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine*. 2016; 46(1): 103-123.
- Krutki P, Mrówczyński W, Bączyk M, Łochyński D, Celichowski J. Adaptations of Motoneuron Properties After Weight-Lifting Training in Rats. *Journal of Applied Physiology*. 2017; 123(3): 664-673.
- Kuwahata M, Kubota H, Kanouchi H, Ito S, Ogawa A, Kobayashi Y, et al. Supplementation With Branched-Chain Amino Acids Attenuates Hepatic Apoptosis in Rats With Chronic Liver Disease. *Nutrition Research*. 2012; 32(7): 522-529.
- Leasure JL, Jones M. Forced and Voluntary Exercise Differentially Affect Brain and Behavior. *Neuroscience*. 2008; 156(3): 456-465.
- Legerlotz K, Schjerling P, Langberg H, Bruggemann GP, Niehoff A. The Effect of Running, Strength, and Vibration Strength Training on The Mechanical, Morphological, and Biochemical Properties of The Achilles Tendon in Rats. *Journal of Applied Physiology*. 2007; 102(2): 564-572.
- Li J, Yuan J. Caspases in Apoptosis and Beyond. *Oncogene*. 2008; 27(48): 6194-6206.
- Lin X, Jiang C, Luo Z, Qu S. Protective Effect of Erythropoietin on Renal Injury Induced in Rats By Four Weeks of Exhaustive Exercise. *BMC Nephrology*. 2013; 14(1): 130.
- Lindinger MI. Potassium Regulation During Exercise and Recovery in Humans: Implications For Skeletal and Cardiac Muscle. *Journal of Molecular And Cellular Cardiology*. 1995; 27(4): 1011-1022.
- Lu M, Zhang X, Zheng D, Jiang X, Chen Q. Branched-Chain Amino Acids Supplementation Protects Streptozotocin-Induced Insulin Secretion and The Correlated Mechanism. *BioFactors*. 2015; 41(2): 127-133.
- Maier MJ, Haeussinger FB, Hautzinger M, Fallgatter AJ, Ehli AC. Excessive Bodybuilding As Pathology? A First Neurophysiological Classification. *The World Journal of Biological Psychiatry*. 2019; 20(8): 626-636.

- Majno G, Joris I. Apoptosis, Oncosis and Necrosis. An Overview of Cell Death. The American Journal of Pathology. 1995; 146: 3–15.
- Mayers JR, Wu C, Clish CB, Kraft P, Torrence ME, Fiske BP, et al. Elevation of Circulating Branched-Chain Amino Acids is an Early Event in Human Pancreatic Adenocarcinoma Development. Nature Medicine. 2014; 20(10): 1193.
- McAdam JS, McGinnis KD, Beck DT, Haun CT, Romero MA, Mumford PW, et al. Effect of Whey Protein Supplementation on Physical Performance and Body Composition in Army Initial Entry Training Soldiers. Nutrients. 2018; 10(9): 1248.
- Ooi, HK, Ma L. Modeling Heterogeneous Responsiveness of Intrinsic Apoptosis Pathway. BMC Systems Biology. 2013; 7(1): 65.
- Ovalı MA. Melatoninin Deneysel Hipertansiyon Oluşturulan Erkek Sıçanlarda KCNQ1, KCNH2 Gen Ekspresyonları ile QT Süresi Üzerine Etkileri. 2015, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 104 sayfa, Çanakkale, (Prof. Dr. Metehan Uzun).
- Öztopuz Ö, Türkön H, Sehitoglu MH, Büyük B, Uzun M, Ovalı MA, et al. Hyperbaric Oxygen Treatment Ameliorates Gentamicin-Induced Nephrotoxicity and Expression of Kidney Injury Molecule 1 in The Rat Model. Undersea&Hyperbaric Medicine: Journal of The Undersea and Hyperbaric Medical Society. 2019; (46): 125-133.
- Pillai SM, Herzog B, Seebeck P, Pellegrini G, Roth E, Verrey, F. Differential Impact of Dietary Branched Chain and Aromatic Amino Acids on Chronic Kidney Disease Progression in Rats. Frontiers in Physiology. 2019; 10.
- Pitkänen HT, Oja SS, Rusko H, Nummela A, Komi PV, Saransaari P, Saransaari P, Takala T, Mero AA. Leucine Supplementation Does Not Enhance Acute Strength or Running Performance But Affects Serum Amino Acid Concentration. Amino Acids. 2003; 25(1): 85-94.
- Preston RR, Wilson TE. İşoğlu-Alkaç Ü, Ermutlu N, Yılmaz B (Editörler). Lippincott Görsel Anlatımlı Çalışma Kitapları: Fizyoloji. Tıpkı Basım, Nobel Tıp Kitapevi, 2016: s 313-333.
- Priante G, Ganesello L, Ceol M, Del Prete D, Anglani F. Cell Death in The Kidney. International Journal of Molecular Sciences. 2019; 20(14): 3598.
- Rencüzoğulları İ, Karabağ Y, Çağdaş M, Adalı Y, Karakoyun S, Erkılıç EE, et al. Impact of Supplementation with Branched Chain Amino Acids on Myocardium and Coronary in

- Regularly and Intensively Exercising Rats. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2018; 24(3).
- Ruiz-Canela M, Toledo E, Clish CB, Hruby A, Liang L, Salas-Salvadó J, et al. Plasma Branched-Chain Amino Acids and Incident Cardiovascular Disease in The PREDIMED Trial. *Clinical Chemistry*. 2016; 62(4): 582-592.
- Saghiri MA, Asatourian A, Gurel Z, Sorenson CM, Sheibani N. Bcl-2 Expression is Essential for Development and Normal Physiological Properties of Tooth Hard Tissue And Saliva Production. *Experimental Cell Research*. 2017; 358(2): 94-100.
- Sallis RE. Exercise is Medicine and Physicians Need to Prescribe It!. *British Journal of Sports Medicine*. 2009; 43(1): 3-4.
- Schlader ZJ, Hostler D, Parker MD, Pryor RR, Lohr JW, Johnson BD, et al. The Potential for Renal Injury Elicited by Physical Work in the Heat. *Nutrients*. 2019; 11(9): 2087.
- Sorichter S, Mair J, Koller A, Calzolari C, Huonker M, Pau B, et al. Release of Muscle Proteins After Downhill Running in Male and Female Subjects. *Scandinavian Journal of Medicine&Science In Sports*. 2011; 11(1): 28-32.
- Shalini S, Dorstyn L, Dawar S, Kumar S. Old, New and Emerging Functions of Caspases. *Cell Death And Differentiation*. 2015; 22(4): 526.
- Seo DY, Lee SR, Kim N, Ko KS, Rhee BD, Han, J. Humanized Animal Exercise Model for Clinical Implication. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2014; 466(9): 1673-1687.
- Shankarappa SA, Piedras-Rentería ES, Stubbs Jr EB. Forced-Exercise Delays Neuropathic Pain in Experimental Diabetes: Effects on Voltage-Activated Calcium Channels. *Journal of Neurochemistry*. 2011; 118(2): 224-236.
- Sharp CP, Pearson DR. Amino Acid Supplements and Recovery From High-Intensity Resistance Training. *The Journal of Strength&Conditioning Research*. 2010; 24(4): 1125-1130.
- Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of Apoptosis in Health and Disease: The Balancing Act of BCL-2 Family Proteins. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2019; 20(3): 175-193.
- Soylu SM. Rat Fizyolojisi. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*. 2010; 23: 22-25.
- Steele IH, Pope Jr HG, Kanayama G. Competitive Bodybuilding: Fitness, Pathology, or Both?. *Harvard Review of Psychiatry*. 2019; 27(4): 233-240.

- Spada TC, Silva JM, Francisco LS, Marcal LJ, Antonangelo L, Zanetta DM, et al. High Intensity Resistance Training Causes Muscle Damage and Increases Biomarkers of Acute Kidney Injury in Healthy Individuals. *PloS One*. 2018; 13(11).
- Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis Signaling. *Annual Review of Biochemistry*. 2000; 69(1): 217-245.
- Tărlungeanu DC, Deliu E, Dotter CP, Kara M, Janiesch PC, Scalise M, et al. Impaired Amino Acid Transport At The Blood Brain Barrier Is A Cause of Autism Spectrum Disorder. *Cell*. 2016; 167(6): 1481-1494.
- Thent ZC, Das S, Henry L J. Role of Exercise in The Management of Diabetes Mellitus: The Global Scenario. *PloS One*. 2013; 8(11): e80436.
- Thomson MN, Schneider W, Mutig K, Ellison DH, Kettritz R, Bachmann S. Patients With Hypokalemia Develop WNK Bodies in The Distal Convolute Tubule of The Kidney. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2019; 316(2): F292-F300.
- Tsatalas T, Giakas G, Spyropoulos G, Sideris V, Lazaridis S, Kotzamanidis C, Koutedakis Y. The Effects of Eccentric Exercise-Induced Muscle Damage on Running Kinematics at Different Speeds. *Journal Of Sports Sciences*. 2013; 31(3): 288-298.
- Van Cruchten S, Van Den Broeck W. Morphological and Biochemical Aspects of Apoptosis, Oncosis And Necrosis. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 2002; 31(4): 214-223
- Van Dusseldorp TA, Escobar KA, Johnson KE, Stratton, MT, Moriarty T, Cole N, et al. Effect of Branched-Chain Amino Acid Supplementation on Recovery Following Acute Eccentric Exercise. *Nutrients*. 2018; 10(10): 1389.
- Viana LR, Tobar N, Busanello ENB, Marques AC, de Oliveira AG, Lima TI, et al. Leucine-Rich Diet Induces a Shift in Tumour Metabolism From Glycolytic Towards Oxidative Phosphorylation, Reducing Glucose Consumption and Metastasis in Walker-256 Tumour-Bearing Rats. *Scientific Reports*. 2019; 9(1): 1-11.
- Vieira R, Haebisch H, Kokubun E, Hell NS, Curi R. Sistema De Natação Para Exercício Físico De Ratos. Swimming System For Physical Exercise of Rats. *Arquivos De Biologia E Tecnologia*. 1988; 31(3): 387-394.
- Yadav JSS, Yan S, Pilli S, Kumar L, Tyagi RD, Surampalli RY. Cheese Whey: A Potential Resource to Transform Into Bioprotein, Functional/Nutritional Proteins And Bioactive Peptides. *Biotechnology Advances*. 2015; 33(6): 756-774.
- Yaylalı A. Böbrek Embriyolojisi. *Derman Tıbbi Yayıncılık*, 2015: s 1-6.

- Yin C, Wang, N. Kidney Injury Molecule-1 in Kidney Disease. *Renal Failure*. 2016; 38(10): 1567-1573.
- Yin Y, Yao K, Liu Z, Gong M, Ruan Z, Deng D, et al. Supplementing L-Leucine to A Low-Protein Diet Increases Tissue Protein Synthesis in Weanling Pigs. *Amino Acids*. 2010; 39(5): 1477-1486.
- Yin W, Kumar T, Lai Z, Zeng X, Kanaan HD, Li W, Zhang PL. Kidney Injury Molecule-1, A Sensitive And Specific Marker for Identifying Acute Proximal Tubular Injury, Can Be Used to Predict Renal Functional Recovery in Native Renal Biopsies. *International Urology And Nephrology*. 2019; 51(12): 2255-2265.
- Yıldırım M. İnsan Anatomisi 2. Nobel Tıp Kitap Evi, 2006: s 157-166.
- Yoo HS, Bunnell BN, Crabbe JB, Kalish, LR, Dishman RK. Failure of Neonatal Clomipramine Treatment to Alter Forced Swim Immobility: Chronic Treadmill or Activity-Wheel Running and Imipramine. *Physiology&Behavior*. 2000; 70(3-4): 407-411.
- Zhai G, Wang-Sattler R, Hart DJ, Arden NK, Hakim AJ, Illig T, et al. Serum Branched-Chain Amino Acid to Histidine Ratio: A Novel Metabolomic Biomarker of Knee Osteoarthritis. *Annals of The Rheumatic Diseases*. 2010; 69(6): 1227-1231
- Zhai L, Liu Y, Zhao W, Chen Q, Guo T, Wei W, et al. Aerobic and Resistance Training Enhances Endothelial Progenitor Cell Function Via Upregulation of Caveolin-1 in Mice With Type 2 Diabetes. *Stem Cell Research&Therapy*. 2020; 11(1): 1-11.
- Zhang P, Yu H, Zhou N, Zhang J, Wu Y, Zhang Y, et al. Early Exercise Improves Cerebral Blood Flow Through Increased Angiogenesis in Experimental Stroke Rat Model. *Journal of Neuroengineering And Rehabilitation*. 2013; 10(1): 43.
- Zhang L, Han J. Branched-Chain Amino Acid Transaminase 1 (BCAT1) Promotes The Growth of Breast Cancer Cell Sthrough Improving mTOR-mediated Mitochondrial Biogenesis and Function. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2017; 486(2): 224-231.
- Zhenyukh O, Civantos E, Ruiz-Ortega M, Sánchez MS, Vázquez C, Peiró C, et al. High Concentration of Branched-Chain Amino Acids Promotes Oxidative Stress, Inflammation and Migration of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells Via mTORC1 Activation. *Free Radical Biology and Medicine*. 2017; 104: 165-177.
- Zhou H, Yu B, Gao J, Htoo JK, Chen, D. Regulation of Intestinal Health By Branched-Chain Amino Acids. *Animal Science Journal*. 2018; 89(1): 3-11.

Xiao W, Chen P, Liu X, Zhao L. The Impaired Function of Macrophages Induced By Strenuous Exercise Could Not Be Ameliorated By BCAA Supplementation. *Nutrients*. 2015; 7(10): 8645-8656.

Waller MC, Kerr DA, Binnie MJ, Eaton E, Wood C, Stenvers T, Gucciardi DF, et al. Supplement Use and Behaviors of Athletes Affiliated With an Australian State-Based Sports Institute. *International Journal of Sport Nutrition And Exercise Metabolism*. 2019; 29(5): 518-525.

Widmaier EP, Raff H, Strang KT, Demirgören S (Editör). *Vander İnsan Fiziyojisi*. İzmir Güven Kitapevi, İzmir; 2010: s 525-539.

Wolfe RR. Branched-Chain Amino Acids and Muscle Protein Synthesis in Humans: Myth Or Reality? *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2017; 14(1): 1-7.

EK-1 Etik Kurul Onay Formu



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

Karar Tarihi : 29.11.2019

Karar No :2019/09

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	:29.11.2019
TOPLANTI SAYISI	:2019/09
DOSYA KAYIT NUMARASI	:2019- 1900173052
KARAR NUMARASI	:2019/09-02
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	:Cemre AYDEĞER
HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	:Çalışmanın 24+8 hayvan üzerinde yürütülmesi planlanmaktadır.

Proje yürütücüsü Dr. Öğretim Üyesi Hüseyin Avni EROĞLU, tarafından Etik Kurulumuza sunulan "Sağlıklı Sıçanlarda Dallı Zincirli Aminoasit Takviyesi ve Yüzme Egzersizinin Böbrek Üzerine Etkileri" başlıklı proje Hayvan Deneylerine ilişkin ilgili mevzuat hükümleri çerçevesinde Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna; oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Ali İŞMEN
Üye
(Başkan)

Prof. Dr. Yonca YÜCEER
Üye

Prof. Dr. Murat TOSUNOĞLU
Üye

Prof. Dr. Zevfik Murat KOŞAN
Üye

Doç. Dr. Cemil TÖLÜ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Canan AKMAN
Üye

Vet. Hek. Sait ELMAS
Üye

Tayfun TAŞBİLEK
Sivil Üye
(Mazeretli)

Erdoğan GÜRSEL
Sivil Üye
(Mazeretli)

EK-2 Özgeçmiş**ÖZGEÇMİŞ****Kişisel Bilgiler**

Adı	Cemre	Soyadı	AYDEĞER
Doğum Yeri	Çanakkale	Doğum Tarihi	10.10.1992
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	13348054772
E-mail	cemre.ayd@hotmail.com	Tel	0507 653 49 77

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji (YL)	2018-Devam ediyor
Lisans	Pamukkale Üniversitesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu, Fizyoterapi Bölümü	2010-2015

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1. Fizyoterapist	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi	2016-Devam ediyor

Yabancı Dil Sınav Notu[#]

KPDS	ÜDS	YÖK DİL	YDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE
		71,25	51, 25						

A-Uluslararası ve Ulusal Yayınları/Bildirileri/Diğer:

- Büyük B, Eroğlu HA, Aydeğer C. “Parkinson Hastalığı Histopatolojisi”. 2. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, Ankara.
- Büyük B, Eroğlu HA, Aydeğer C.” Gamet ve Embriyo Kriyoprezervasyon Yöntemleri”. 2. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, Ankara.
- Aydeğer C, Eroğlu HA, Büyük B. “Duchenne Muskular Distrofi Hastalığına Fizyolojik Yaklaşım” Union of Thrace Universities 3. International Health Sciences Congress, Çanakkale.
- Aydeğer C, Eroğlu HA, Büyük B. “Metanol Patofizyolojisi” Union of Thrace Universities 3. International Health Sciences Congress, Çanakkale.
- Eroğlu HA, Aydeğer C. “Osteoartritte Plateletten Zengin Plazma (PRP) Uygulamasına Fizyolojik Bir Yaklaşım” The International Medical Congress Of Izmir Democracy University, İzmir.
- Eroğlu HA, Aydeğer C. “Beyin-Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF) İle Uyku Arasındaki İlişkinin İncelenmesi” The International Medical Congress Of Izmir Democracy University, İzmir.

B-Katıldığı Uluslararası ve Ulusal Konferans ve Kongreler:

- 2. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 28-29 Haziran 2019, Ankara.
- Union of Thrace Universities 3. International Health Sciences Congress, 24-26 Ekim 2019, Çanakkale.
- International Medical Congress of Izmir Democracy University, 6-8 Aralık 2019, İzmir.

C-Sertifikalar:

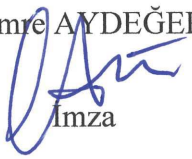
- Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Kursu

EK-3 Spiralli Tez Kontrol Formu**SPIRALLİ TEZ KONTROL FORMU**

	Evet	Hayır
1) Amblem renkli ve 2x2 cm boyutunda olmalıdır.	✓	
2) Kapakta sadece başlık bold ve 14 punto, diğer yazılar normal renkte ve 12 punto yazılmalıdır.	✓	
3) Tez savunma sınavında kabul edilmiş tezler için, tezin sırtı tez yazım kılavuzuna uygun olarak düzenlenmiş olmalıdır.	✓	
4) Kabul edilmiş tez konusu ile tezin baş sayfasındaki tez konusu aynı olmalıdır.	✓	
5) Beyan eksiksiz ve imzalı olarak Tez Yazım Kılavuzundaki gibi konmalıdır.	✓	
6) Özet ve Summary 250'şer kelimeyi aşmamalıdır. (1 sayfa)	✓	
7) Anahtar kelimeler (en fazla) 5 adet olmalıdır.	✓	
8) İngilizce özetin başında konu başlığı yazılmalıdır.	✓	
9) Metin ve kaynakların tümü 1,5 aralıklı olmalıdır.	✓	
10) Tezde yazım karakteri olarak "Times New Roman" kullanılmalıdır.	✓	
11) Web sayfa kaynakları metin içinde de geçmelidir (parantez içinde güncelleme tarihi ile birlikte). Kaynaklar bölümünde de cümlelerin sonunda Erişim adresi ve Erişim tarihi sırasıyla verilmelidir.	✓	
12) Çalışmanın Etik Kurul onayı, varsa kurum onayı tezin en arkasına konmalıdır.	✓	

Tarih: 19/06/2020 Öğrenci Cemre AYDEĞER İmza	Tarih: 19/06/2020 Danışman Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Avni EROĞLU İmza
---	--

EK- 4 Spiralli Tez Yazım Listesi

KONTROL BAŞLIĞI	ÖĞRENCİ	DANIŞMAN
Tez yazımında kullanılan yazı tipi	✓UYGUN	✓UYGUN
Sayfa kenar boşlukları	✓UYGUN	✓UYGUN
Kapak sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
İç kapak sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Onay sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Beyan sayfası içeriği ve düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
İçindekiler sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Teşekkür sayfası	✓UYGUN	✓UYGUN
Türkçe özet	✓UYGUN	✓UYGUN
İngilizce özet	✓UYGUN	✓UYGUN
Simgeler ve kısaltmalar dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Şekiller dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Tablolar dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Tezin ön sayfalarının sıralaması	✓UYGUN	✓UYGUN
Ön sayfaların numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Sayfalarının numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Başlıklarının numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Şekil, resim ve tablo numaralandırması	✓UYGUN	✓UYGUN
Yöntem ve Gereç	✓UYGUN	✓UYGUN
Bulgular	✓UYGUN	✓UYGUN
Tartışma	✓UYGUN	✓UYGUN
Sonuç ve Öneriler	✓UYGUN	✓UYGUN
Kaynaklar	✓UYGUN	✓UYGUN
Atıflar (alıntı ve göndermeler)	✓UYGUN	✓UYGUN
Ekler (etik kurul onayı, vs)	✓UYGUN	✓UYGUN
Tez planı	✓UYGUN	✓UYGUN
Dil (anlatım, yazım –imla)	✓UYGUN	✓UYGUN
Kâğıt ve baskı özelliği	✓UYGUN	✓UYGUN
Tezin son şeklinin elektronik kopyası	✓UYGUN	✓UYGUN
Tarih: 19/06/2020 Öğrenci Cemre AYDEĞER  İmza	Tarih: 19/06/2020 Danışman Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Avni EROĞLU  İmza	