



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KISA VE UZUN MESAFE KOŞUCULARININ EGZERSİZ ÖNCESİ
VE SONRASI LENFOSİT APOPTOZUNUN ÇOĞALMASININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

ÖĞRENCİ
HAKAN ÖZEL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MARMARA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DANIŞMAN
PROF.DR. TUNÇ AKKOÇ

2017-İSTANBUL

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı
Tez Sahibi : Hakan ÖZEL
Tez Başlığı : Kısa ve Uzun Mesafe Koşucularının Egzersiz Öncesi ve Sonrası
Lenfosit Apoptozunun Çoğalmasının Değerlendirilmesi
Sınav Yeri : Marmara Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi
Sınav Tarihi : 08.06.2017

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	Kurumu	İmza
Prof.Dr.Tunç AKKOÇ	Marmara Üniversitesi	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)	Kurumu	İmza
Prof.Dr. Salih PINAR	Marmara Üniversitesi	
Prof.Dr. Hasan Birol ÇOTUK	Marmara Üniversitesi	
Doç.Dr. Betül KARADEMİR	Marmara Üniversitesi	
Doç.Dr. Ajda ÇOKER GÜRKAN	İstanbul Kültür Üniversitesi	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 08.06.2017 tarih ve 13. sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Hakan ÖZEL

TEŞEKKÜR

Projemin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof.Dr.Tunç AKKOÇ'a,

Labratuvar çalışmalarında bilgisini ve desteklerini esirgemeyen Deniz GENÇ, Noushing ZİBANDEH, Yazgül DURAN ve Muazzez GÖKALP'a,

Çalışmada İstatistik aşamasında yardımını esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi öğretim görevlisi Araş. Gör. Mustafa ŞAHİN'e, Songül KARAASLAN ve Taner KARAMAN'a teşekkür ederim.

Fikir ve önerileri ile çalışmamda yönlendirici olan Prof.Dr.H.Birol ÇOTUK, Dr. Cengiz KAHRAMAN ve Dr.Özgül AKSU'yada teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BEYAN	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viv
TABLolar LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	xii
1. ÖZET.....	xiv
2. SUMMARY	xv
3. GİRİŞ VE AMAÇ	1
4. GENEL BİLGİLER.....	1
4.1. Egzersiz	4
4.2. Aerobik Egzersiz.....	4
4.3. Anaerobik Egzersiz	5
4.4. Apoptoz (Programlanmış Hücre Ölümü).....	5
4.5. Apoptozisin Mekanizmaları	7
4.6. Lenfosit Apoptozu.....	8
4.7. İnsan PBMC'sinde (Periferik kan mononükleer hücrelerinde) bulunan bağışıklık hücrelerinin türleri	9
4.8. Lokositler	11
4.8.1. Granülositler.....	12
4.8.1.1. Nötrofiller	12
4.8.1.2. Eozinofiller	12
4.8.1.3. Bazofiller.....	13
4.8.2. Agranülositler.....	13
4.8.2.1. Lenfositler	13
4.8.2.1.1. Lenfosit Göçü.....	14
4.8.2.1.2. Lenfosit Homing'i	14
4.8.2.1.3. T lenfositleri	14
4.8.2.1.4. B lenfositleri.....	16

4.8.2.1.5. NK Hücreler (Doğal Öldürücü Hücreler)	16
4.8.2.1.6. NKT Hücreler	17
4.9. Monositler ve Makrofajlar	17
5. Eritrositler (Alyuvarlar, Kırmızı Kan Hücreleri)	19
5.1. İnsan Eritrositleri.....	21
5.2. Yaşamsal Döngü	22
5.3. Eritropoez	22
5.4. İşlevsel Ömür	22
5.5 Yaşlılık	22
6. Trombositler.....	23
7. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
7.1 Sporcuların Temini	24
7.2 Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	25
7.2.1 Kısa ve Uzun Mesafe Koşucuları İçin	25
7.3. Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri.....	25
7.4. Antrenman Planı	25
7.4.1. Uzun Mesafe Koşucularının Antrenman Planı	25
7.4.2. Kısa Mesafe Koşucularının Antrenman Planı.....	26
7.5 Sporculardan Venöz Kan Alınması ve Periferik Kan Mononükleer Hücre (PBMC) İzasyonu	27
7.6. Lenfosit Proliferasyonunun İncelenmesi İçin Hücrelerin Carboxyfluorescein Succinimidyl Ester CFSE İle İşaretlenmesi	28
7.6.1. T Hücrelerin CFSE İle İşaretlenmesi	28
7.7. Lenfosit Proliferasyonu	28
7.8. Lenfosit Apoptozu	29
7.9. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler	29
7.10. Çalışmada Kullanılan Hücre Kültürü Malzemeler.....	30
7.11. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	31
7.12. Kullanılan Solisyonlar.....	31
7.12.1. Anti-CD3/Anti-CD28 (CDmix) uyarının hazırlanması.....	31
8. İstatistik Analiz	32
9. BULGULAR.....	32

10. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	59
11. KAYNAKLAR	63
12. ÖZGEÇMİŞ.....	66
13. EKLER.....	67



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Hücre apoptoz evresi	4
Şekil 2: İç ve dış sinyallere karşı hücrenin yanıtı	7
Şekil 3: Dendritik hücre	10
Şekil 4: Buffy Coat	11
Şekil 5: İnsan Kırmızı Kan Hücreleri (6-8µm).....	20
Şekil 6: Kırmızı kan hücreleri, trombositler ve beyaz kan hücreleri.....	20
Şekil 7: Kemik, kemik iliği, kemik iliğindeki kan ve yağ hücreleri.....	21
Şekil 8: Trombositler	23
Şekil 9: Uzun Mesafeci Erkek Koşucuların Antrenman Planı	26
Şekil 10: Uzun Mesafeci Kadın Koşucuların Antrenman Planı	26
Şekil 11: Kısa Mesafeci Koşucuların Antrenman Planı	27
Şekil 12: Kısa mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda genel lenfosit hücre düzeyinde istatistiksel analiz grafiği.	34
Şekil 13: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası genel lenfosit hücre akım sitometri sonuçları	34
Şekil 14: Kısa mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda CD3 ⁺ /CD4 ⁺ T hücre düzeyinde istatistiksel analiz grafiği	35
Şekil 15: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD3 ⁺ /CD4 ⁺ T hücrede akım sitometri sonuçları	35
Şekil 16: Kısa mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda CD3 ⁺ /CD8 ⁺ T hücrede istatistiksel analiz grafiği.....	36
Şekil 17: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD3 ⁺ /CD8 ⁺ T hücre akım sitometri sonuçları	36
Şekil 18: Kısa mesafe koşucularında lenfosit proliferasyonu istatistiksel analiz grafiği	37
Şekil 19: Kısa mesafe koşucularında lenfosit proliferasyonu akım sitometri sonuçları.	37
Şekil 20: Kısa mesafe koşucularında immun fenotiplemede CD4 ⁺ T hücrede istatistiksel analiz grafiği.....	39
Şekil 21: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD4 ⁺ T hücrede akım sitometri sonuçları	39

Şekil 22: Kısa mesafe koşucularında immun fenotiplemede CD8 ⁺ T hücrede istatistiksel analiz grafiği.....	40
Şekil 23: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD8 ⁺ T hücrede akım sitometri sonuçları	40
Şekil 24: Kısa mesafe koşucularında immun fenotiplemede B hücrede istatistiksel analiz grafiği.....	41
Şekil 25: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası B hücrede akım sitometri sonuçları	41
Şekil 26: Kısa mesafe koşucularında immun fenotiplemede NK hücrede istatistiksel analiz grafiği.....	42
Şekil 27: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası NK hücrede akım sitometri sonuçları	42
Şekil 28: Kısa mesafe koşucularında immun fenotiplemede NKT hücrede istatistiksel analiz grafiği.....	43
Şekil 29: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası NKT hücrede akım sitometri sonuçları	43
Şekil 30: Uzun mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda genel lenfosit hücrede istatistiksel analiz grafiği.....	45
Şekil 31: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası genel lenfositte akım sitometri sonuçları	45
Şekil 32: Uzun mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda CD3 ⁺ /CD4 ⁺ T hücrede istatistiksel analiz grafiği	46
Şekil 33: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD3 ⁺ /CD4 ⁺ T hücrede hücrede akım sitometri sonuçları.....	46
Şekil 34: Uzun mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda CD3 ⁺ /CD8 ⁺ T hücrede istatistiksel analiz grafiği.....	47
Şekil 35: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD3 ⁺ /CD8 ⁺ T hücrede hücrede akım sitometri sonuçları.....	47
Şekil 36: Uzun mesafe koşucularında lenfosit proliferasyonu istatistiksel analiz grafiği	48
Şekil 37: Uzun mesafe koşucularında lenfosit proliferasyonunda akım sitometri sonuçları	48

Şekil 38: Uzun mesafe koşucularında immun fenotiplemede CD4 ⁺ T hücrede istatistiksel analiz grafiği	50
Şekil 39: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD4 ⁺ T hücrede hücrede akım sitometri sonuçları.....	50
Şekil 40: Uzun mesafe koşucularında immun fenotiplemede CD8 ⁺ T hücrede istatistiksel analiz grafiği	51
Şekil 41: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD8 ⁺ T hücrede hücrede akım sitometri sonuçları.....	51
Şekil 42: Uzun mesafe koşucularında immun fenotiplemede B hücrede istatistiksel analiz grafiği.....	52
Şekil 43: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası B hücrede hücrede akım sitometri sonuçları	52
Şekil 44: Uzun mesafe koşucularında immun fenotiplemede NK hücrede istatistiksel analiz grafiği.....	53
Şekil 45: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası NK hücrede hücrede akım sitometri sonuçları	53
Şekil 46: Uzun mesafe koşucularında immun fenotiplemede NKT hücrede istatistiksel analiz grafiği.....	54
Şekil 47: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası NKT hücrede hücrede akım sitometri sonuçları	54

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Apoptozis ve genler.....	8
Tablo 2: Lenfosit alt grupları sınıflandırması.....	19
Tablo 3: Çalışmada kullanılan cihazlar	31
Tablo 4: Koşucuların yaş, boy, vücut kitle indeksi, sigara kullanımı, alkol kullanımı ve atletizm ile uğraşma ortalama ve standart sapma değerleri	32
Tablo 5: Kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve Öncesi ve sonrası değerlerinin lenfosit apoptozu yönünden istatistiksel analizi	33
Tablo 6: Kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerlerinin lenfosit proliferasyonu yönünden istatistiksel analizi	37
Tablo 7: Kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerlerinin immün fenotipleme yönünden istatistiksel analizi	38
Tablo 8: Uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerlerinin lenfosit apoptozu yönünden istatistiksel analizi	44
Tablo 9: Uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerlerinin lenfosit proliferasyonu yönünden istatistiksel analizi	48
Tablo 10: Uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerlerinin immün fenotipleme yönünden istatistiksel analizi	49
Tablo 11: Kısa ve uzun mesafe koşucularının, antrenman öncesi ve sonrası değerleri sonuçlarının karşılaştırılmasının lenfosit apoptozu yönünden istatistiksel analizi	55
Tablo 12: Kısa ve uzun mesafe koşucularının, antrenman öncesi ve sonrası değerleri sonuçlarının karşılaştırılmasının lenfosit proliferasyonu yönünden istatistiksel analizi..	56
Tablo 13: Kısa ve uzun mesafe koşucularının, antrenman öncesi ve sonrası değerleri sonuçlarının karşılaştırılmasının immün fenotipleme yönünden istatistiksel analizi.	57

Tablo 14: Lenfosit apoptozu labaratuvar verileri	67
Tablo 15: Lenfosit proliferasyonu labaratuvar verileri.....	68
Tablo 16: İmmun fenotipleme labaratuvar verileri.....	69



KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

AICD	: Aktivasyona bağılı hücre ölümü
AMP	: Adenozin monofosfat
ANT. ÖN.	: Antrenman öncesi
ANT. SON.	: Antrenman sonrası
ANT.	: Antrenmandan
APAF	: Apoptotik proteaz aktive edici faktör
ASH.	: Antijen sunucu hücre
BMI	: Vücut kitle indeks
-CD	: Yüzey farklılaşma antijenleri
CFSE	: Carboxyfluorescein succinimidyl ester
CMI	: Hücre-aracılı immünite
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DOMS	: Gecikmiş başlangıç kas ağrısı
EPO	: Eritropoietin hormonu
K	: Kısa mesafe koşucusu
KMK	: Kısa mesafe koşucusu
LGL	: Large granular lymphocyte
MAdCAM	: Mukozal adresin hücre adezyon molekülü
MB	: Miyogloblin
MDA	: Malondialdehit
MHC	: Doku uyumluluk kompleksi (majör histokompatibilite kompleksi)
MK	: Plazma kreatin kinaz
PBMC	: Periferik kan mononükleer hücreler
PMN	: Polimorfonükleer hücreler

ROS	: Reaktif oksijen türleri
-SH	: Sülfhidril
SPSS	: Statistical package for the social sciences
TAS	: Total antioksidan statüsü
TCR	: T hücre antijen reseptörü
U	: Uzun mesafe koşucusu
UA	: Ürik asit
UMK	: Uzun mesafe koşucusu
ÜSYE	: Üst solunum yolu enfeksiyonu
VO₂	: Maksimum oksijen tüketim kapasitesi

Başlık : Kısa ve Uzun Mesafe Koşucularının Egzersiz Öncesi ve Sonrası Lenfosit Apoptozunun Çoğalmasının Değerlendirilmesi

Öğrencinin Adı : Hakan ÖZEL

Danışman : Prof.Dr. Tunç AKKOÇ

Anabilim Dalı : Marmara Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı

1. ÖZET

Amaç:

Çalışmamızda uzun ve kısa mesafe koşucularında, egzersiz öncesi, sonrası lenfosit apoptozu ve lenfosit proliferasyonu değerleri farkı ile, egzersizin şiddetinin, şeklinin lenfosit apoptozu ve lenfosit proliferasyonu değerleri üzerindeki etkisi ile branşlar arasındaki farklar saptanmaya çalışılmıştır.

Gereç ve Yöntem:

Araştırmamıza 15-23 yaş arasında $19,23 \pm 2,44$ yaş ortalamasında 8 kısa ve 8 uzun mesafe koşucusu Pendik Belediyesi Çamlık Spor Tesisinde katılmıştır.

Antrenman öncesi ve sonrası kan örneklerinin alınıp, analizi Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, Çocuk İmmünoloji Laboratuvarında yapılmıştır.

Microsoft Office 2007 Excell programına aktarılan veriler, SPSS 21 istatistiksel programında analiz edilmiş, analizde wilcoxon signed ranks ve mann-whitney testten faydalanmıştır.

Bulgular ve Sonuçlar:

Kısa mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda anlamlı fark bulunmazken ($p>0,05$), uzun mesafe koşucularında $CD3^+/CD8^+$ hücre düzeyinde anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Kısa ve uzun mesafe koşucularında lenfosit proliferasyonunda anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi lenfosit değerleri antrenman sonrasında tüm koşucularda pozitif doğru yönelme gösterirken (17,02), kısa mesafe koşucularında da tüm koşucularda negatif doğru yönelme (-21,72) gözlemlenmiştir.

İmmun fenotiplemede, kısa ve uzun mesafe koşucularında $CD8^+$ T hücre ve NK hücrede ($p<0,05$) düzeyinde anlamlı fark bulunmuş olup, ek olarak uzun mesafe koşucularında B hücre düzeyinde ($p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

Kısa ve uzun mesafe koşucularının sonuçları karşılaştırıldığında, lenfosit apoptozu ve immün fenotipleme düzeyinde iki grupta istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmezken ($p>0,05$), iki grupta lenfosit proliferasyonu yönünden ($p<0,05$) düzeyinde ileri düzeyde anlamlı fark bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: Koşucu , Egzersiz, Lenfosit, Apoptoz, Proliferasyon

Assessment of Proliferation of Lymphocyte Apoptosis Before and After Exercise of Short and Long Distance Runners

Student's Name : Hakan ÖZEL

Advisor : Prof.Dr. Tunç AKKOÇ

The Department : Marmara University Faculty of Sport Sciences Sports Health Sciences
Department

2. SUMMARY

Object:

In our study, we tried to determine the difference between lymphocyte apoptosis and lymphocyte proliferation values before and after exercise in long and short distance runners, and the effect of exercise severity on lymphocyte apoptosis and lymphocyte proliferation values and branches.

Metarial and Method:

Between 15-23 ages between 19-23 $\pm$ 2,44 years, 8 short and 8 long distance runners participated in Pendik Municipality Camlik Sports Facility. Pre- and post-training blood samples were taken and analyzed at Marmara University Medical Faculty Department of Child Health and Diseases, Child Allergy and Immunology Department, Child Immunology Laboratory. The data transferred to the Microsoft Office 2007 Excell program was analyzed in the SPSS 21 statistical program, using the wilcoxon signed raks and mann-whitney test in the analysis.

Results and Conclusions:

There was no significant difference in lymphocyte apoptosis in short distance runners ($p > 0.05$), but there was a significant difference in $CD3^+$ / $CD8^+$ T cell levels in long distance runners ($p < 0.05$). There was a significant difference in lymphocyte proliferation in short and long distance runners ($p < 0.05$). In long distance runners, pre-training lymphocytes showed positive trend towards all runners after training (17.02), while negative runners (-21,72) were observed in all runners in short distance runners.

Significant differences were found in $CD8^+$ T cell and NK cell ($p < 0.05$) levels in short and long distance runners in immunophenotyping and additionally statistically significant difference was found in B cell level ($p < 0.05$) in long distance runners.

When the results of short and long distance runners were compared, there was no statistically significant difference between lymphocyte apoptosis and immunophenotyping levels in two groups ($p > 0.05$), and lymphocyte proliferation in two groups ($p < 0.05$).

Key Words: Runner, Exercise, Lymphocyte, Apoptosis, Proliferation

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Araştırmada kısa ve uzun mesafe koşucularının egzersiz öncesi ve sonrası lenfosit apoptozu ve lenfosit proliferasyonu (lenfosit çoğalması) değerlerinin kandaki analizi yapılmıştır. Bu yöntem ile sporcuların antrenman öncesi ve sonrası kan değerleri veri olarak toplanıp, yaptıkları egzersizin şiddetinin kan değerleri üzerine etkileri istatistik programı ile analiz edilerek karşılaştırılmıştır.

Egzersizin şiddeti ve süresine bağlı olarak vücutta oluşturduğu fizyolojik stres etkilerinin sporcunun doğal hücre ölümüne etkisi, egzersizin akabinde ve ileriki yaşlarda yaşam kalitesine sağlığına olumlu, olumsuz etkileri, bu etkilerin sporcunun yaşam konforuna hangi yönde yansıdığı ve bu etkilerin değerlendirilip yeni antrenman tekniklerinin ve yöntemlerinin belirlenmesine katkısının sağlanması çalışmamızın amacını oluşturmaktadır.

4. GENEL BİLGİ

Fizyolojik bir hücre ölümü olan Apoptoz, genetik anlamda kontrol edilen hücre intihar programının aktif hale getirilmesiyle yönetilir. Bu sebepten dolayı apoptoz, programlanmış hücre ölümü olarak bilinmektedir. Genellikle apoptoz, en yoğun görülen hücre ölümü olmakla birlikte sağlıklı veya fazla dokularda sıkça görülmektedir. Hücre tahribatında hücreyel litik enzimlerin rolünde büyüktür. Bazı durumlarda apoptotik uyaran olduğu halde hücre tahribatı farklı olarak meydana gelir. Tahmini olarak bu durum, sitoplazmada bulunan litik enzimler ile ya da sitoplazmada yer alan enzimlerin lizozom membranıyla temas etmesiyle oluşur (Altunkaynak ve Özbek, 2008).

Mitokondrilerde oluşan oksidatif stres yaşlanma esnasında, apoptozun intrinsik yolunun aktive olmasında da etkin role sahiptir. Çok hücreli organizmalarda normal gelişme ve homeostasi için apoptoz diğer tanımı ile programlı hücre ölümü olağan bir süreç olarak gerçekleşir. Özellikle mitokondriyal oksidasyon, hücreleri apoptoza daha yatkın hale getirmektedir. Hücre yaşına bağlı olarak makromoleküllerde oluşan harabiyet, hücrede geriye dönüşümü olmayacak biçimde arttıklarında, mitotik hücreler replikasyondan kaçınmakta ve kalıcı olarak hücre siklusunu durdurup hücre apoptozunu tetiklemektedir. Parkinson, alzheimer ve huntington gibi nörodejeneratif rahatsızlıklarda apoptozun olağandan fazla rastlanması, söz konusu durumu pekiştirmektedir. Bununla birlikte orta düzeylerde oluşan oksidatif DNA hasarlar

durumlarında, malignite oluşturma riskinde çok yüksek olduğu ifade edilmektedir. Düşük seviyede oluşan oksidatif DNA hasarı, etkili bir onarım ile hata riski minimum seviyede olacak şekilde giderilebilmektedir. DNA onarım enzimlerinde ve DNA polimerasında oksidatif stres altında oluşan hasarlar, DNA üzerinde doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını düşürmektedir. DNA meydana gelen oksidatif olarak meydana gelen hasar, hücrenin yaşamsal faaliyetlerini sürdüremeyeceği düzeye ulaştığında hücre ölümü gerçekleşmektedir (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2009).

Bir hücre birbirini takip eden 7 kırılmada kendini onarabilir ancak, apoptoziste yaklaşık olarak 300 000 kırılma oluşur ve bu durumda hücre bu kırılmaları onaramaz. Apoptozisin başlangıç dönemlerinde hücreler birleşme bölümlerinden ayrılır, hücreler kendine has yüzey organellerinde kayıplar oluşur, bariz şekilde büzülerek birkaç dakika içerisinde var olan hacminin 1/3'ünü kaybederler. Beklenen o ki bu yeni oluşum, plazma membranında var olan iyon kanalları ve pompalarında meydana gelen aktivasyon bozukluğuna bağlı olarak gelişir (Öktem ve ark., 2001).

Lenfosit apoptozunda genellikle egzersiz sonrası lenfopeninin katkısı kabul ediliyordu. Bu bağlamda, artan apoptoz çoğunlukla immünolojik yeterlilik kaybı ile ilişkili olduğu varsayılmıştır. Bu fikir uzun süreli yoğun egzersiz sonrasında üst solunum yolu enfeksiyonlarının (ÜSYE) geçici artışını gösteren çalışmalarla desteklenmektedir. Ancak, klinik durumlarda apoptozun kesin rolü gösterilmiş olarak kalıyor. Benzer şekilde, egzersiz sonrası lenfopeni için apoptoz katkısı halen tartışılmaktadır. Bazı çalışmalarda lenfopeni'ye doğrudan artmış apoptosis eşlik ettiğini gösterirken, diğerleri apoptotik hücrelerin toplam sayılarında değişiklik olmadan lenfositlerin azaldığı bulundu. Daha önce belirtildiği gibi, lenfopeni, lenfosit göçü ve apoptozun sonucu olduğu varsayılmaktadır. Bu nedenle, onların göreceli büyüklüğü bu çalışmalarda uygulanan farklı egzersiz protokollerine bağlı olabilir. Egzersiz etkili lenfosit apoptozun ana efektörü egzersiz yoğunluğu olarak kabul edilir. Yoğun egzersiz dolaşan apoptotik lenfositlerin hem yüzdesini hem de toplam sayısını önemli ölçüde arttırdığı tekrar tekrar ispat edilmiştir. Dayanıklılık egzersizi göz önüne alarak apoptozun artışı ultra-maratondan, maraton koşusundan, yoğun koşu bandı koşusundan, yoğun ergonometre bisikletinden ve triatlondan sonra gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, orta yoğunluklu egzersiz çalışması lenfosit apoptozu

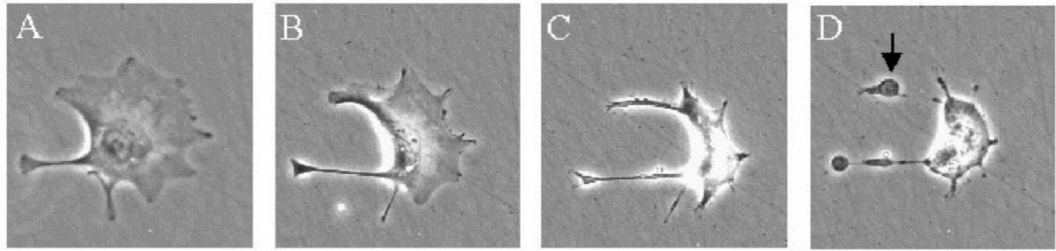
hiç veya çok az etkilemiştir. Lenfosit apoptozun artışı VO_{2max} 'ın 40-60% eşiğini geçtikten sonra meydana geldiği daha sonra anlaşılmıştır. Benzer şekilde egzersiz süresinin etkisi de şart koşulabilir. Koşucular belirli egzersiz süresini aştıktan sonra, bazı potansiyel araçların oluşumu artar ve ölüm uyarı eşiği geçilebilir. Dayanıklılık egzersizi yanı sıra direnç egzersizi sonrasında da lenfosit apoptozun artışı gösterilmiştir. Kısa süreli egzersizden sonra lenfosit apoptozu ile ilgili az bilgi bulunmaktadır. Friedman ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yapılan çalışmada sadece tekrarlı yüksek yoğunluktan sonra apoptotik hücrelerde artışın olmadığı bulunmuştur. Bu yüzden, sadece egzersiz yoğunluğu değil, aynı zamanda minimum egzersiz süresi de aşılmalı ki apoptozun önemli artışı uyarılsın. Fare modelleri kullanılarak, artmış lenfosit apoptoz bazı lenfositik organlara bağlandı. Başlangıçta, Hoffman-Goetz grubu farede hem bağırsak lenfositlerin hem de timus ve 90 dakikalık yoğun koşu bandı koşusundan sonra dalaktaki lenfositler için artmış apoptozu gösterdiler. İnsanda dolaşan lenfositlerin apoptozu içinse, orta yoğunluktaki egzersizde lenfosit doku apoptoz artışı bulunmamıştır (Krüger ve Mooren., 2014).

Apoptozun başlaması, çoğu yorucu egzersizlerle modüle edilebilen çeşitli sinyallere bağlıdır . Sonuç olarak ve muhtemelen hücre yüzeyi ölü reseptör CD95 (Fas/Apo-1) sinyali yoluyla egzersiz sonrasında apoptozun kan lenfositlerinin kaybına katkıda bulunduğu ve bunun sonucunda egzersiz sonrası lenfositopeni ortaya çıktığı ve bunun da sık ve fiziksel olarak zorlayıcı antrenman teknikleri uygulayan atletlerde bağışıklığı düşürmektedir. İnsanlarda egzersizin kan lenfositindeki apoptozun derecesine etkisini araştıran çalışmalar az sayıdadır ve bu nedenle herhangi kesin sonuç çıkarmayı zorlaştırmaktadır. Egzersiz, oksijen tüketimini artırır ve hücre içi prooksidan-antioksidan homeostazında bozulmaya neden olur (Marfe ve ark., 2010).

Yoğun spordan sonra bağışıklık sistemi bastırılır ve enfeksiyona duyarlı hale gelir. Yoğun egzersiz temposunun immün homeostasisine ve immün hücre apoptozuna neden olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda orta yoğunlukta egzersiz bağışıklık fonksiyonunu ve sigara içenlerde antioksidan savunma sistemlerini arttırdığı bilinmektedir. Ancak, orta şiddette egzersizde, kronik sigara içenlerde bağışıklığı geliştirip geliştirmediği bilinmemektedir (Park ve Lee, 2011).

Ultra maraton koşucularında kapsamlı egzersiz sonrası hücre-serbest DNA apoptotik merdivenlerinin kökeni sadece apoptotik hücreler ve iskelet kas hücreleri olduğu sonucuna değil, aynı zamanda bu fenomene lokositlerinde katkısı olduğu gözlemlenmiştir (Atamaniuk ve ark., 2008).

Koşu bandında 90 dakika submaksimal egzersize tabi tutulan farelerde 2 saat sonra apoptotik timositler yüzde olarak kontrol grubu farelere göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Kontrol grubu farelerde daha uygun timositlere rağmen plazma kortikosteroidleri daha yüksek seviyelerde gözlemlenmiştir (Phaneuf ve Leeuwenburgh, 2001).



Şekil 1: Hücre apoptoz evresi (<http://www.reading.ac.uk/nitricoxide/intro/apoptosis/>, Erişim tarihi: 22.02.2017)

4.1. Egzersiz:

Egzersiz, fiziksel aktivitenin alt grubu olarak kabul görmüştür. Egzersiz, planlı olarak yapılandırılmış, isteğe bağlı, fiziksel yetinin bir ya da bir kaç unsurunu geliştirmeyi hedefleyen düzenli bir etkinliktir. Başka bir bakış açısına göre egzersiz, fiziksel yetiyi iyileştirmek ya da korumak için düzenlen planlı, sistemli ve tekrarlı bedensel hareketler ya da fiziksel aktivite formudur (Ayçeman, ty:?).

Fiziksel aktivite, bireyin enerji dengesi ve ağırlığın kontrolünü sağlamak için enerji harcaması durumudur. Belirli aralıklarla tekrarlanan fiziksel eylem durumu egzersiz olarak nitelendirilebilir. Egzersiz, düzenli olarak yapılan ve tekrarlanan bedensel hareketleri içerisinde barındırır (Baltacı, 2008).

4.2. Aerobik Egzersiz:

Aerobik kapasite, büyük ve çizgili kasların, aerobik metabolizmayla elde edilen enerjiyi kullanarak, aktiviteye uyum sağlayabilme kapasitesi olarak tanımlanır. Aerobik kapasitenin birim zaman içerisindeki değeri aerobik güç olarak nitelendirilir.

Aerobik kapasite, egzersiz anında gerekli olan enerjinin oluşumu için kullanılacak oksijenin kaslara iletebilme kapasitesi olarak da tanımlanabilir (Yıldız, 2012).

4.3. Anaerobik Egzersiz:

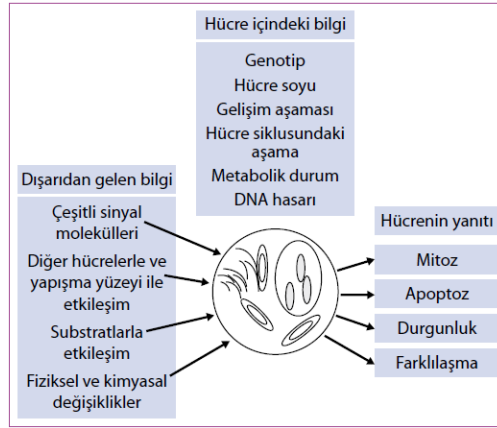
Fiziksel olarak gerçekleştirilen maksimal ve supramaksimal egzersiz anında iskelet kaslarındaki anaerobik enerji iletim mekanizmalarını kullanarak oluşturulan iş potansiyeli “anaerobik kapasite” olarak bilinmektedir. Gerçekleşen işin birim zaman içerisindeki değeri ise “anaerobik güç” olarak nitelendirilir (kgm/san, kgm/dak, watt). Anaerobik egzersiz, patlayıcı gücün açığa çıkarılmasının yanı sıra, anaerobik eşik değerin üzerine çıkılan bir egzersiz yükü olup, yorucu bir fiziksel aktivitedir (Yıldız, 2012).

4.4. Apoptoz (Proglanmış Hücre Ölümü)

Apoptozis ağaçların yapraklarını ve ya çiçeklerin taç yapraklarını dökmesine benzetilir, terimsel olarak yaprak dökümüne benzetilmektedir. Hücrenin programlı ölümü olarak bilinen bu aktif süreç, bazen hücrede yeni proteinlerin oluşumunu, hücre iskeletindeki tahribatın gerçekleşmesini, DNAz ları aktif hale geçirerek, bazı proteaz enzimlerin ve DNA'nın parçalanmasını sağlar. 19. yüzyılın sonlarında emriyologların gözlemiyle gündem oluşturan programlı hücre ölümü fikri 1965 yılında böceklerin başkalaşmasında da ifade edilmiştir, 1971'de Wylie, Kerr ve Currie, programlı hücre ölümünün yapısını ifade etmiş ve “apoptoz” kelimesini ilk defa terim olarak kullanmışlardır. Apoptoz çok hücreli bir canlının embriyonik, gelişim, erişkinlik ve yaşlanması sürecini içine alan birçok gelişim evresinde organizmada yaşamsal dengenin devam etmesini sağlayan ve yaşamsal dengede önem arzeden fizyolojik bir aşama olarak ifade edilir. Apoptoz, hücresel dengenin devamlılığında, embriyonik evre sırasında, ekstremitelerin ve içi kısmı boş olan organların oluşumu aşamasında, dişi fetüste wolf, erkek fetüste müller kanallarının işlevini yitirdiği esnada ve merkezi sinir sistemi gelişim aşamasında, sinir hücre miktarının düzenlenmesinde rol oynayarak; doğumdan sonra T ve B hücrelerinin belirlenmesinde, DNA sını aşırı dercede hasara uğramış ya da virüsler tarafından enfekte olmuş hücrelerin ölümünde işlevsel bir role sahiptir. Ayrıca büyümeyi sağlayan etkenlerinin ortamdaki uzaklaştığı durumlarda (emzirmenin sonlanması durumunda meme bezinin, gebeliğin sona ermesi durumunda uterusun) organlarda

gelişen küçülmedeki temel mekanizma, organlardaki işlevselliği sona ermiş hücrelerin apoptozla ölümüdür. Nekrotik süreç, hücredeki metabolik olayların çok hızlı gerçekleştiği, hücrenin ve membranının ağır hasar görüp, hücre membran geçirgenliğinin bozulduğu, hücrede gerçekleşen şişme ile ve membranda oluşan patlama sonucu, hücre içi maddelerin dışarı çıktığı bir süreç olup, apoptozda ise hücre membranı bütünlüğünde bozulma gerçekleşmez. Apoptoz ve nekroz haricinde, otofaji, paraptosis ve onkosis gibi farklı hücre ölümü şekilleri tanımlanmış olsada, apoptoz harici tanımlamaların biyokimyasal ya da morfolojik tanımlarda ve klinik önemiyetlerine dair ortak bir fikire ulaşılammıştır. Nekroz ve apoptoz süreçlerinde, morfolojik nitelikleri, oluşum aşamalarındaki biyokimyasal süreçler, süreçleri başlatan etkenler ve sonuçları bakımından önemli farklılıklar vardır. Apoptotik bir uyarının ardından hücre tutunduğu yüzeyden ve çevre hücrelerden uzaklaşarak hacmini kaybeder, çekirdek içiresinde yer alan kromatinlerde yoğunlaşma oluşur, ilerleyen süreçte hücre zarla sarılmış tomurcuklar şeklinde ayrılır, topmurcuk görünümlü bu parçalar komşu hücreler ya da fagositler tarafından fagosit işlemleri gerçekleşir. Apoptotik evrede inflamasyon süreci gelişmez (Solakoğlu, 2009).

Apoptosis hücrenin yaşamsal ömrünü kendi kendine sonlandırması olarak bilinen fizyolojik bir süreçtir. Embriyolojik gelişim süreci sonunda erişkinliğe ulaşan dokunun yaşamını sürdürmesinde anahtar rol oynar. Organizmanın yaşamsal faaliyetleri için gerekliliğini kaybetmiş, biyolojik olarak işlevselliği sona ermiş, hasara uğramış hücrelerin, genet olarak kontrolü apoptosis ile sağlanır ve hücre yok edilir. Apoptosisin hızında meydana gelen sorunlarda, yani yavaşlamalarda veya hızının arttığı durumlarda çeşitli hastalıklar oluşur. Apoptosis, yaygın olarak bilinen hücre ölüm biçimi olarak ifade edilen nekrozisden birçok yapısı ile farklılık taşıyan hücre ölüm oluşumudur. Nekrozis, fizyolojik olarak meydana gelen hücre ölüm biçimidir; apoptosis ise hem fizyolojik hem de patolojik olarak oluşan ölüm şeklidir (Akşit H., Bildik A.,2008).



Şekil 2: İç ve dış sinyallere karşı hücrenin yanıtı (Solakoğlu, 2009).

4.5. Apoptozisin Mekanizmaları

Hücrenin kendi içerisinde ki programlı saati, genlerin aktivasyonu ya da hücre dışından gelen uyaranlar sayesinde apoptozis tetiklenmektedir. Apoptozisin başlamasını tetikleyen hücre içi faktörler arasında sitokinler, hücredeki kalsiyum oranındaki yükseliş, tümör nekroz faktör, DNA’da meydana gelen harabiyete bağlı olarak, tümör süpressör gen olan p53’ün aktive olması, viral-bakteriyel kökenli enfeksiyonlar, glukokortikoidler ve onkojenlerin (cmyc gibi) yer aldığı bilinmektedir. Diğer taraftan hipertermi, radyasyon, sitotoksik antikanser ilaçları ve hipoksi gibi nekroza neden olan faktörler azda olsa apoptozu tetikleyebilirler. Apoptoz sürecinde hücre ölümü çevreden bağımsız olarak hücrenin kendi içerisinde gelişse de bazı durumlarda apoptozis dolaylı olarak yanında bulun dokularda nekrozu başlatabilir veya tam tersi olarak nekroz apoptozisin başlamasında tetikleyici olabilir. Apoptozis süreci; DNA hasarına genlerin cevabı, hücre zarı yolu ile ölüm uyaranlarının hücre tarafından edinilmesi (Fas ligandı), hücre içerisine direk proteolitik enzim geçişi (granzim) olmak üzere üç farklı biçimde gerçekleşebilir. Apoptoz evresinde önemli üç bileşen vardır. Bu bileşenleri, kaspazlar, Bcl-2 ailesi proteinleri ve Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) proteinleri oluşur. Bu bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu sonucu, apoptoz evresinde mitokondride harabiyet, çekirdek membranında kırılma, DNA fragmentasyonu, kromatin yoğunlaşması ve apoptotik cisimlerde şekillenme gibi morfolojik değişiklikler oluşur. Günümüzde apoptozda etkisi bulunan biyokimyasal ve genetik faktörlerin ortaya konulmasının yanı sıra apoptozun başlamasına ya da baskılanmasına yönelik

çalışmalar; kanser, AIDS ve otoimmün bozukluğu ve benzeri birçok hastalıkta güncel tedavi imkanlarını gündeme taşımıştır (Akşit ve Bildik, 2008).

Apoptozisi baskılayan genler	Apoptozisi indükleyen genler
Bcl-2 grubundan; BHRL-1, Bcl-xl, Bcl-w, Bfl-1, brag-1, Mcl-1, A1 c-abl geni ras onkogeni çözünebilir fas p35 A20	Bcl-2 grubundan; Bad, Bax, Bak, Bcl-xS, bid, bik, Hrk1 c-myc p53, p21 fas (CD95/APO1) FADD/MORT, RIP, FAST interlökin dönüştürücü enzim benzeri proteinler (İCE) LOH (MTS1/CDK41)

Tablo 1. Apoptozis ve genler (Akşit ve Bildik, 2008).

4.6. Lenfosit Apoptozu:

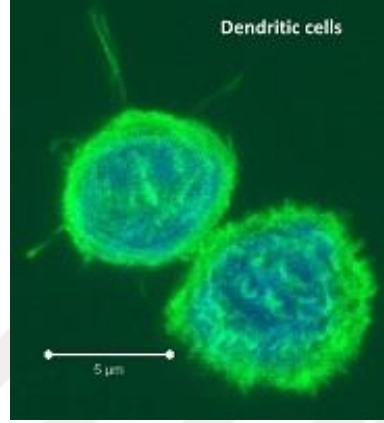
T ve B hücreleri, adaptif immün yanıtın merkezi aktörleridir. Fizyolojik koşullar altında, apoptoz, lenfosit homeostazisinin korunmasında ve yaşlı veya potansiyel olarak kendiliğinden reaksiyona giren hücrelerin ortadan kaldırılmasında önemli rol oynamaktadır. Timusta apoptozis olgunlaşmamış T hücresi gelişiminin bir parçasıdır. Böylece kendiliğinden reaktif (TCR'ler) veya fonksiyonel olmayan T hücre reseptörleri eksprese eden olgunlaşmamış timositleri ortadan kaldırır. Fonksiyonel TCR'li hücreler timusun dışına saf T hücreleri olarak göç ederler. Enfeksiyon sırasında bu hücrelerin bazıları yabancı antijeni tanır, aktive olur ve hızla genişler. Onların torunlarından bazıları efektör hücrelere ayrılırlar. Olgun T hücreleri, sitotoksik T hücrelerine, yardımcı T hücrelerine veya düzenleyici T hücrelerine ayrılabilir. Çoğunlukla, çoğalması ve farklılaşmasına eşlik eden ömrü önemli ölçüde kısalmır. Ölüm reseptörlerini apoptosise duyarlı hale getirmek, aktive olmuş lenfositlerin genel bir özelliğidir ve onları apoptoza duyarlı hale getirir. Bu homeostatik mekanizma, uyarlanabilir bağışıklık sisteminin tüm hücresel bileşenlerinin, dışsal apoptoz yolağının belirli bir formu, aktivasyona bağlı hücre ölümüyle (AICD) kontrol edilmesini sağlar. Dengeli genişleme evresinden sonra, yaklaşık olarak % 90 T hücresinin AICD tarafından yok edildiği tahmin edilmektedir. Daha önceki çalışmalar AICD'de CD95 için önemli bir rol oynamasına karşın, yakın tarihli çalışmalar, B hücresi ölümünde Bcl-2 ile etkileşen mediatörün (BIM) T hücre yanıtının kontrakondaki ana regülatörü olduğunu önermektedir. Bununla birlikte, bu sistemdeki bir başarısızlığın potansiyel olarak çapraz reaktif

aktive T hücrelerinin varlığı nedeniyle otoimmüniteye neden olduğu varsayılmaktadır (Krüger ve Mooren., 2014).

4.7. İnsan PBMC'sinde (Periferik kan mononükleer hücrelerinde) bulunan bağışıklık hücrelerinin türleri

Çevresel tam kan, insan bağışıklık sistemi çalışmaları için çizildiğinde, sıklıkla yoğunluk gradyanı santrifüj ile kırmızı kan hücrelerinin çıkarılması için işlenir. Çoğu zaman, bu yöntem, GE Healthcare Ltd.'nin bir ürünü olan, yüksek molekül ağırlıklı sukroz polimerleri çözeltisi olan Ficoll Paque'yi kullanır. Ficoll, kanı 1.077 g/ml yoğunluğunun üstünde ve altında iki fraksiyona ayırır. Periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC), ficoll tabakasının daha az yoğun, üst arayüzünde kalan, çoğunlukla buffy coat olarak adlandırılan ve Ficoll fraksiyonlama yöntemi kullanılırken toplanan hücreler olan immün hücrelerin popülasyonudur. Nötrofiller ve eozinofiller içeren eritrositler (kırmızı kan hücreleri) ve polimorfonükleer hücreler (PMN'ler), daha sonra 1.077 g / ml yoğunluğa sahip olduklarından, bu fraksiyonasyon sırasında çıkarılırlar. Bununla birlikte, bazofiller daha sonra 1.077 g / ml'den daha büyük ya da daha düşük yoğunlukta olabilir ve bu nedenle daha az yoğun PBMC fraksiyonunda küçük bir dereceye kadar mevcut olabilir. PBMC'ler; lenfositleri (T hücreleri, B hücreleri ve NK hücreleri), monositleri ve dendritik hücreleri içerir. İnsanlarda, bu popülasyonların frekansları bireyler arasında değişir. Lenfositler tipik olarak PBMC'lerin % 70-90'ı aralığında, monositler ise PBMC'lerin % 10-30'u arasında değişirken, dendritik hücreler, PBMC'lerin yalnızca % 1 - 2'sidirler. Lenfosit popülasyonundaki hücre tiplerinin frekansları, % 70-85 CD3 + T hücreleri (PBMC'nin % 45-70'i), % 5-20 B hücreleri (PBMC'nin % 15'ine kadar) ve % 5-20 NK hücreleri (yukarı İla% 15 PBMC). CD3 + kompartmanı, kabaca 2:1 oranında CD4 (PBMC'nin% 25 - 60'ı) ve CD8 T hücrelerinden (PBMC'nin % 5 - 30'u) oluşur. Hem CD4 hem de CD8 T hücreleri, naiflere ve antijen deneyimli merkezi bellek, efektör belleği ve dinlenme veya aktive edilmiş hallerde bulunan efektör alt tiplerine alt gruplara ayrılabilir. Değişik benzerliklere sahip olan bu bölmeleri tanımlamak için çoklu işaretleyiciler kullanılabilir ve bu nedenle farklı işaretleyicileri kullanan kişiler tarafından bildirilen sıklıklar farklılık gösterebilir. CD4 T hücreleri yardımcı T hücreleri olarak bilinir ve spesifik sitokinlerin, yüzey markörlerinin veya transkripsiyon faktörlerinin ekspresyon profillerine dayalı olarak

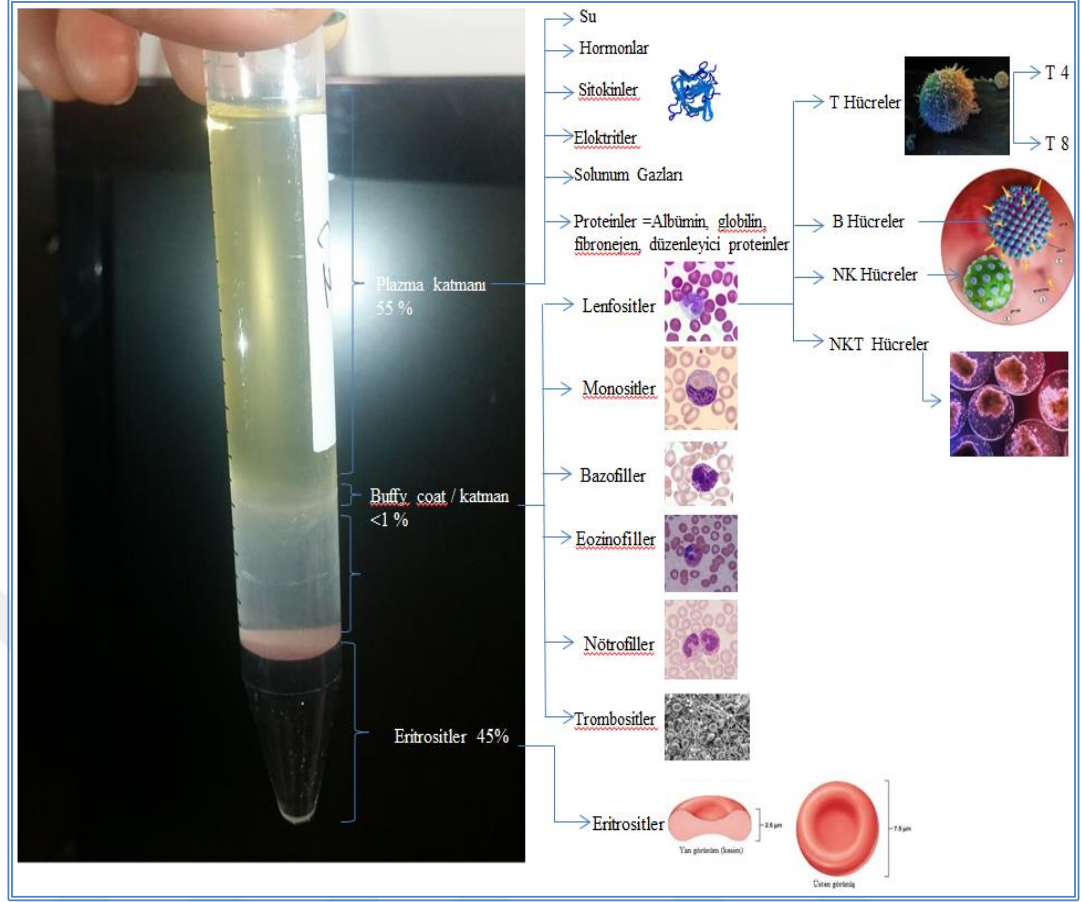
çeşitli fonksiyonel alt tiplere ayrılabilir. Bunlar düzenleyici T hücreleri, TH1, TH2 ve TH17 hücrelerini ve ayrıca TH9, folikül yardımcı ve TR1 türleri gibi tanımlanan alt popülasyonları içerir. Ancak bu sınıflandırmalar gelecekte kesinlikle daha karmaşık hale gelecektir, çünkü son zamanlarda sitotoksik CD8 T hücre bölmesinin işaretleyici ekspresyonunda ve işlevinde son derece heterojen olduğu ve kabaca 200 fonksiyonel fenotipten oluştuğu gösterilmiştir .



Şekil 3: Dendritik hücre (<http://technical.sanguinebio.com/types-of-immune-cells-present-in-human-pbmc/>, Erişim tarihi: 24 Şubat 2017)

Sirkülasyon B hücreleri arasında geçiş dönemi, naif ve hafıza alt türleri ve plazmablastlar bulunur. Bunların hepsi periferik kanda farklı popülasyonlarda bulunur. Dolaşan dendritik hücreler plazmidosit dendritik hücrelerin yanı sıra miyeloidden türeyen dendritik hücrelere dahildir. Dolaşım yapan monositler, ya klasik monositlere kıyasla, periferik kandaki monositlerin % 10'unu oluşturan ve benzersiz işlevlere sahip olan klasik monosit ya da klasik olmayan CD16 + proenflamatuvar monositler olarak tanımlanmıştır. İnsan bağışıklık sistemi çalışmaları, PBMC'lerin fenotipik ve fonksiyonel değerlendirmelerine büyük ölçüde güvenir. İnsan immün çalışmaları için PBMC'lerden yararlanmak için, popülasyonların periferik kanda nasıl temsil edildiğini ve PBMC popülasyonlarının doku bağışıklık hücrelerinden dağılım ve işlev açısından nasıl farklılaştığını bilmek önemlidir. Tanımlayıcı yüzey ve hücre içi belirteçleri ve insan PBMC çalışmaları için en uygun tahlil tiplerini bilmek önemlidir.

(<http://technical.sanguinebio.com/types-of-immune-cells-present-in-human-pbmc/>, Erişim tarihi: 24 Şubat 2017)



Şekil 4: Buffy Coat

4.8. Lokositler:

Akyuvarlar bağışıklık sistemimizin en önemli savunucu hücreleri ve immunolojik savunma mekanizmasının temelini oluştururlar. Lökositler dolaşım sisteminde dolaşır iken, tehlike uyarılarını aldıkları bölümlerde dolaşımdan uzaklaşıp ölü doku ve bakteri benzeri yabancı cisimlerin çevresini sararlar. Lokositler plazma kökenli kan proteinleri ile beraber organizmanın bütünlüğünü devam ettirirler. Lokositlerin virüs ve bakterilerin ortadan kaldırılmasında etkili çeşitleri mevcuttur. Akyuvarların %50-60 kadarı granülositlerden oluşur. Granülositlerde nötrofiller, eozinofiller ve bazofiller olmak üzere üç gruba ayrılır. (<http://www.bilimvesaglik.com/vucudumuz/bagisiklik-sistemi/akyuvarlar-lokositler.html> /, Erişim Tarihi: 26 Şubat 2017).

4.8.1. Granülositler

4.8.1.1 Nötrofiller:

Nötrofiller bakteriyel ve viral olarak gelişen enfeksiyonlara karşı metabolizmanın ilk savunma mekanizmasını meydana getirirler. Mikroorganizmaları, ölmüş doku kalıntılarını ve oluşan artıkları fagosite etme kapasitesine sahip olan nötrofiller lökositlerin %70 ini oluştururlar ve vücuttaki görevleri mikroorganizmaların fagosite edilmesi, öldürülmesi ve sindirilmesidir. Vücut savunma mekanizmasında önemli role sahip bulunan nötrofillerin periferik kandaki değerleri $3.000-7.000/\text{mm}^3$ arasındadır. Nötrofil sayısının azalması durumunda hasta bireylerde enfeksiyon riskini artabilir (Gönderen ve Kapucu, 2009).

Nötrofil hücreleri polimorfonükleer lökosit (PMN) olarak da isimlendirilirler. Nötrofiller enfeksiyonun geliştiği bölgelere göç ederek fagozitoz yapabilme ve mikroorganizmaları enzimlerle sindirme yetisine sahiptirler. Nötrofiller mm^3 de 4000 ile 10000 sayı ile, kanda en yoğun gözlemlenen hücrelerlerdir. Enfeksiyonun geliştiği zaman nötrofil üretimi kemik iliğinde artar ve kandaki değerleri mm^3 de 20000'e kadar ulaşır. Birçok hücrede enfeksiyona yanıt olarak nötrofillerin sentezi yapılır; kemik iliği bünyesinde öncül nötrofil hücrelerin çoğalmasında ve olgunlaşmalarında rol alan ve koloni stimüle eden etkenler olarak isimlendirilen sitonler tarafından uyarılır. Nötrofiller başta mantar ve bakteri enfeksiyonları olmak üzere, birçok enfeksiyona karşı cevapta görev alan en önemli savunucu hücreleri oluştururlar. Dolaşımda bulunan mikroorganizmaların yanı sıra, damar dışındaki gelişen enfeksiyona doğru hızlı bir şekilde ilerleyerek enfeksiyonun geliştiği bölgedeki mikroorganizmaları sindirip, birkaç saat içinde ölürler. (Abbas ve Lichtman, 2015).

4.8.1.2. Eozinofiller:

Vücutta ani (immediate) olarak gelişen aşırı duyarlılık reaksiyonlarında, reaksiyonun ilerleyen zamanlarında artış gösteren alerjik hastalıkta patolojik döneme pek çok yönden eşlik eden kemik iliğinde üretilen bir granülosittir. Eozinofillerde helmintler gibi hücre dışında yer alan parazitlere karşı savunmada önemli bir rol üstlenirler (Abbas ve Lichtman, 2015).

Eozinofiller parazitlerin oluşturduğu enfeksiyonlara karşı ve alerjik reaksiyonda görev alırlar (Gönderen ve Kapucu, 2009).

4.8.1.3 Bazofiller:

Dolaşım sisteminde yer alan ve mast hücrelerine yapısal ve fonksiyonel olarak benzeyen kemik iliğinde üretilen granülosit hücresidir. Benzediđi yönleri arasında mast hücrelerinin granüllerinde yer alan yüksek miktarda enflamatuvar medyatöre benzeyen granül bulundurması ve IgE'ye karşı yüksek afiniteli bir Fc reseptörünü kullanmasını söyleyebiliriz. Antijenin yer aldığı doku alanına giden bazofiller ani (immediate) aşırı duyarlılık reaksiyonlarında yer alabilmektedir (Abbas ve Lichtman, 2015). Bazofillerin tek görev aldığı yer alerjik reaksiyonlardır (Gönderen ve Kapucu, 2009).

4.8.2. Agranülositler:

Granül içermezler iki tipi vardır, bunlar lenfositler ve monositlerdir (<http://www.populermedikal.com/kan/lokosit.asp> Erişim tarihi: 26 şubat 2017).

4.8.2.1 Lenfositler

Hücre grubu içerisinde antijenlere özgül reseptörleri sadece lenfosit hücreler taşıır. Lenfositler, edinsel immüniteyi düzenleyen önemli hücre grubudur (Abbas ve Lichtman, 2015).

İmmün sistemde temel hücre grupları içerisinde yer alan lenfositler kan içerisinde yer alan çekirdekli hücrelerin yaklaşık %25'ini oluştururlar. Lenfosit sayıları yaş durumuna göre değişebilmektedir. Boyut olarak küçük olarak nitelendirilen 7-10 µm çapındaki lenfositlerin çekirdekleri daha koyu renkle boyanabilirken, hacmi büyük olan LGL (large granular lymphocyte) lenfositleri 10-12 µm çapında olup, sitoplazmaları daha geniştir ve granül yapısında olan hücrelerdir. Periferik kan dolaşım sisteminde bulunan lenfositlerin alt gruplarını T, B ve NK (Doğal öldürücü) hücreler olarak gruplandırabiliriz. Dolaşım sisteminde lenfositlerin yaklaşık %80'ini T hücreler, %10'unu B hücreler, %10'unu ise NK hücreler oluşturmaktadır. Elde edilen numunelerdeki lenfosit yüzdesi, lenfosit hücrelerinin temin edildiği dokuya göre değişiklik gösterebilmektedir. Timusta yer alan hücrelerin hemen hemen %90'ını T hücreler oluştururken, T hücrelerin dalak ve lenf nodundaki oranı ise %30-40 kadardır. B hücrelerin oranı daha yüksek olup, %60-70 olarak gözlemlenmektedir (Gülderen ve ark, 2010).

B ve T lenfositler antijenlerle ilk karşılaşmaları dışındaki diğer karşılaşmalarında, antijen maddeyi daha çabuk tanır ve antiyen maddeye verdiği tepki artar. Bellek B ve

T hücreleri, naif lenfositlerin antijenle uyarılmasıyla gelişir ve antijenleri ortadan kaldırdıktan sonra, bellek lenfositler işlevselliklerini yıllar boyunca pasif bir biçimde devam ettirirler (Abbas ve Lichtman, 2015).

4.8.2.1.1. Lenfosit Göçü:

Dolaşım sisteminde bulunan lenfositlerin dokulara hareketidir (Abbas ve Lichtman, 2015).

4.8.2.1.2. Lenfosit Homingi:

Dolan lenfosit alt gruplarının belli doku bölgelerine yönelmiş göçü. Lenfosit homingi; lenfosit üzerinde homing reseptörleri adı verilen adezyon moleküllerinin seçilmiş ekspresyonu ve farklı vasküler yataklarda bu homing reseptörlere karşı adresin adı verilen endotelyal ligantların dokuya özgül ekspresyonları tarafından düzenlenmesi. Bazı lenfositler intestinal lenfoid dokuya yönelmeyi tercih (Peyer plakları) etmektedir. Bu durum T hücre yüzeyindeki $\alpha 4\beta 1$ in tegrinin peyer plaklarının endoteli üzerinde bulunan MAdCAM (mukozal adresin hücre adezyon molekülü)'e bağlanması ile düzenlenmiştir (Abbas ve Lichtman, 2015).

4.8.2.1.3. T lenfositleri:

Kemik iliğinde bulunan kök hücrelerinden salınmanın akabinde T hücresi oluşturmak amacı ile yönlendirilmiş olan hücreler timus'a yönelirler ve timusta olgunlaşırlar. T-lenfosit adı da buradan gelir (<http://www.bilimvesaglik.com/vucudumuz/bagisiklik-sistemi/akyuvarlar-lokositler.html/>, Erişim tarihi: 26 Şubat 2017).

T lenfositleri hücresel bağışıklıkta görev alacak olan aktif lenfositlerin oluşumundan sorumlu hücrelerdir (Gönderen ve Kapucu, 2009).

T hücreleri T hücre reseptörünü (TCR) barındırırlar ve antijen sunan hücrelerin majör histokompatibilite kompleksi (MHC) molekülleri ile sundukları antijenleri tanıyan lenfositlerdir (Artım-Esen ve İnanaç, 2005).

T lenfositlerinin büyük çoğunluğu ise protein yapısındaki antijenlerin peptit parçacıklarını, ancak konak hücrelerinin özel peptit sunma moleküllerince gösterilirse, tanıyabilmektedir. T hücre-aracılı immun yanıt bu yüzden ancak mikroorganizmaların konak hücrelerinde üremesi gerçekleştirilen ya da hücre dışından alınan protein antijenlerine yönelik olarak gelişebilmektedir. T lenfositlerinin büyük çoğunluğu antijen sunucu hücre (ASH) lerde doku uyumluluk

kompleksi (MHC) moleküllerine bağlanan ve bu moleküllerce gösterilen peptit antijenlerini tanır. T lenfositleri, farklı türde mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyonlara yönelik mücadelede birçok işleve sahiptirler. T lenfositlerinin asıl görevi hücre içerisindeki mikroorganizmalardan dolayı oluşan enfeksiyon durumlarına karşı korumayı gerçekleştiren hücre-aracılı immünite (CMI)'dedir. Hücre içerisinde gizlenen mikroorganizmaların tespit edilerek hücreyel immün yanıtlarla nerede yok edilebileceği hususunda iki tip enfeksiyon yol gösterici olabilir. Birinci olarak mikroorganizmalar doğal bağışıklık sistemi mekanizmalarından olan fagositoz ile erken dönemde hücre içerisinde etkisiz hale getirilirler. Ancak bu mikroorganizmaların bir bölümü fagositlerin yok edici (mikrobisidal) etkilerine karşı direnç geliştirmiş durumdadır. Patojenik hücre içi bakteri ve potozoaların çoğu fagositlerin veziküllerinde yaşayabilme ve çoğalabilme yeteneğindedir. Fagosit olan mikroorganizmaların bir kısmı enfekte olan hücrenin sitoplazmasına geçiş yapabilirler ve bu geçiş sayesinde bulundukları hücrenin besin öğrelerini kullanır ve üreyebilirler. Hücre sitoplazmasında bulunan mikroorganizmalar mikrobisidal mekanizmalardan korunmuştur, çünkü bu mekanizmalar veziküler kompartmanlarla (konak hücrelerin zarar görmediği bölgeler) sınırlandırılmıştır. İkinci olarak, virüsler pek çok hücrenin reseptörlerine bağlanabilir ve bağlandıkları hücrelerin sitoplazmalarında enfeksiyona yol açarak üreyebilirler. Virüsler tarafından enfekte olan bu hücrelerin, virüsleri ortadan kaldırmak için genel olarak intrensek mekanizmaları mevcut değildir. Hücre aracılı immün yanıtı ek olarak, T lenfositleri ne hücrenin içinde bulunan ne de yaşayabilen bazı bakteriler, mantar ve helmintler gibi mikroorganizmalardan koruma mekanizmasında önemli işlev sahibidirler. CMI de T lenfositlerin klasik rolünün tarif edildiği dönemde varlığı bilinmeyen CD4⁺ yardımcı T lenfosit alt grupları, bu organizmalara yönelik savunmada yer alan T hücreleridir. Bu alt grubun esas görevlerinden biri humoral immün cevabın bir parçası olarak antikor üretimi aşamasında B hücrelerine destek olmaktır. Bu yardımcı T hücre alt gruplarının diğer görevi aktive olmuş lökositlerde özellikle hücre dışında yer alan mikroorganizmaların yok edilmesi aşamasında etkili enflamatuvar yanıtı uyarmaktır (Abbas, Lichtman ve Pillai, 2015).

4.8.2.1.4. B lenfositleri:

B lenfositleri antikor moleküllerinin sentezini gerçekleştirebilen tek hücre tipidir. Bu nedenden dolayı humoral immün sistemin merkezi hücresel yapısını oluştururlar. B lenfositleri ve ya B hücreleri, kemik iliğinde gelişmektedir ve olgunlaşmış B hücreleri asıl olarak ikincil lenfoid organların yapısındaki lenfoid foliküllerde, kemik iliği içerisinde ve az sayıda da dolaşımda yer almaktadırlar (Abbas ve Lichtman, 2015).

B hücreleri ise humoral bağışıkta rolü olan antikorların yapımı aşamasında sorumlu hücrelerdir (Gönderen ve Kapucu, 2009).

B hücrelerinin antijen algılayıcıları, yani zara bağlı antikorlar, birçok farklı makromolekülü (protein, polisakkarid, lipid ve nükleik asit gibi) veya küçük yapıdaki molekülleri, kimyasallarında sıvı durumda ya da hücre yüzeyinde bağlayabilir. Bu nedenden dolayı B hücre-aracılı humoral cevap mikroorganizma kökenli hücre duvarı ya da çözünür antijenlere yönelik olarak gelişebilir (Abbas, Lichtman ve Pillai, 2015).

4.8.2.1.4. NK Hücreler (Doğal Öldürücü Hücreler)

Doğal Öldürücü Hücreler de kemik iliğinde üretilmektedirler. Bu hücreler kanda, kemik iliğinde ve dalakta yer alırlar. Doğal bağışıklık sisteminde görev alırlar, yani T ve B hücreleri gibi önceden uyarılma gereksinimi içerisinde değildirler. Özellikle virüsler tarafından enfekte olmuş ya da kanserleşme eğilimi içerisinde bulunan vücut hücrelerini yok etme eylemi içerisindeyler. Bu şekilde virüslere yönelik önemli bir ilk savunma bariyerini meydana getirir ve kanserin gelişimine engel olurlar. Bu hücreler büyük görünüme sahip lenfositlerdir. En önemli görevleri, tümör hücrelerini ve virüs taşıyan hücreleri yok etmektir. Virüs taşıyan hücreleri öldürdürürler ancak sağlıklı hücreler için zarar teşkil etmezler

(<http://www.bilimvesaglik.com/vucudumuz/bagisiklik-sistemi/akyuvarlar-lokositler.html/>, Erişim tarihi: 26 Şubat 2017).

Doğal öldürücü hücreler, hızlı bir şekilde salgıladıkları sitokinler, kemokinler ve enfekte konak hücrelerini direkt olarak ortadan kaldırma yetenekleri sayesinde konak savunmasına katkıda bulunurlar. Sınıf-I MHC molekülleri eksikliğinde uyarılan NK hücreleri bu uyarana tepki gösterirler. IgG antikoru ile bezenmiş hücreler NK hücresi sathındaki Fc reseptörleri sayesinde NK hücrelerinin hedefi

durumuna gelirler. NK hücreleri infeksiyonlara karşı doğal bağışıklık tepkisi vermenin yanı sıra, dentritik hücreleriyle beraber patojenlere karşı adaptif immün yanıtı meydana getirirler. Diğer taraftan, otoimmün hastalıkların oluşmasında ve klinik seyir izlemelerinde tesirli olurlar. (Baştürk B., 2010).

4.8.2.1.5. NKT Hücreler:

CD3 antijenini eksprese etmeyen NK hücrelerine karşılık, CD3 antijenini ve NK hücrelerinde var olan reseptörlerin çoğunu eksprese eden hücreler 'NKT hücreleri' olarak tanımlanmıştır. NK hücreleri ve konvansiyonel T hücrelerinin özelliklerini barındıran T hücre altgrubu sınıflandırılmasında NKT hücreleri yer alır. Bu hücrelerin immediate immün yanıt, tümör rejeksiyonu, immün denetim ve otoimmün hastalıkların kontrolünde etkin olduklarını gösterilmiştir (Deniz, 2007).

NKT hücreleri ise hem NK hücrelerinin hem de lenfositlerin reseptörlerini ve niteliklerini bünyesinde barındıran lenfositlerdir. NKT hücreleri CD4+ veya çift negatif (CD4-CD8-) fenotipi gösteren, tümör immünitesinde ve otoimmün hastalıklarda düzenleyici işlevi olan hücrelerdir. NKT hücreleri sınırlı T hücre reseptör (THR) ekspresyonu göstermekte ve insanda CD1d ile sunulan glikolipid antijenleri tanıyan T lenfosit reseptörünü tanımaktadır. Periferik kan T hücrelerinin %0.2 ni meydana getiren ve NK hücresine eşlik eden NH1.1 (CD161) belirtecini taşıyan NKT hücreleri aktive olduklarında yüksek miktarda IL-4, interferon gamma (IFN- γ), granülosit makrofaj koloni stimule edici faktör (GM-CSF) ile IL-2 ve TNF- α benzeri çok sayıda kemokini ve sitokin oluşturabilmektedirler. CD1d bağımlı NKT hücrelerinin en iyi tanımlanan alt grubu değişmez THR- α eksprese etmekte ve Tip1 veya değişmez NKT hücreleri (iNKT) olarak adlandırılmaktadır. NKT hücrelerinin bozukluğu veya yetersizliği diyabet gibi otoimmün hastalıklara ve kansere neden olabilmektedir (Camcıoğlu, 2013).

4.9. Monositler ve Makrofajlar:

Monositler akyuvarların %7'sini oluşturmaktadır. Kemik iliğinde üretilip dolaşım sistemine geçiş yapan monositler 12 saat içerisinde doku içerisinde geçiş yaparlar ve makrofajlara dönüşürler. Büyük lökosit grubunda yer alan makrofaj ve monositler bağışıklık sisteminin en önemli hücrelerini oluştururlar. Makrofajlar dokulara özgüdürler yani dokulara özgü makrofajlar mevcuttur. Makrofajlar, büyük boyutlu hücrelerelerdir. En önemli yetileri sindirme ve hazmetme yani fagositoz yapabilme

kabiliyetleridir. Monosit ve makrofajlar vücudun ilk savunma hattını teşkil ederler, kısaca bu hücreler hazır öncü kuvvetleri oluştururlar. Bu hücreler, ayrıca T lenfosit adı verilen özel hücreleri uyarak T lenfositlerinin çoğalmasına yardımcı olurlar

(<http://www.bilimvesaglik.com/vucudumuz/bagisiklik-sistemi/akyuvarlar-lokositler.html/>, Erişim tarihi: 26 Şubat 2017).

Monositler, makrofajlara farklılaştıkları enfeksiyonun geliştiği enfekte bölgeye aktif olarak göç etmektedir. Dolaşımda yer alan fagositik hücrelerden nötrofiller ve monositler, enfeksiyonun geliştiği bölgeye ulaşarak, o bölgede mikroorganizmaları tanırlar ve içlerine alarak hücre içinde yıkım işlevini gerçekleştirirler. Nötrofillere oranla daha az sayıda bulunan monositlerin kandaki konsantrasyonu, mm³ de 500 ile 1000 arasındadır. Bu hücreler de dolaşımda yer alan mikroorganizmalara karşı etkilidirler. Monositleri nötrofillerden ayıran bir özelliği damar dışı dokularda daha uzun süre yaşamalarıdır. Dokulara yerleşen monositler farklılaşırlar ve makrofajlar olarak tanımlanırlar. Dolaşım sisteminde yer alan monositler ile, dokularda bulunan makrofajlar, mononükleer fagosit sistem olarak ifade edilen aynı hücre dizisinin bir birinden farklı iki aşaması olarak kabul görmektedir. Bağ dokular ile tüm vücutta yer alan makrofajlar, dolaşım sistemindeki mononükleer fagositik hücreler ile aynı görevi üstlenirler. Nötrofiller ve monositler, endoteldeki adezyon moleküllerine bağlanıp, mikroorganizmaların var olduğu zaman sentezlenen kemoatraktanların çağrısı üzerine dolaşım sistemi dışında yer alan enfekte bölgeye giderler. Monositler doku makrofajlarının öncülü olan kemik iliğinde üretilen ve dolaşan bir hücre çeşididir (Abbas ve Lichtman, 2015).

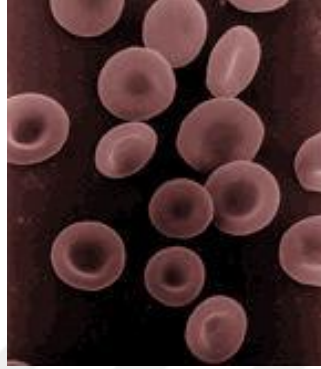
Tablo 2: Lenfosit Alt Grupları Sınıflandırması (Abbas AK ve ark. Cells and Tissues of the Adaptive System, Cellular and Molecular Immunology Int. Edition (6th ed.), 2007’den modifiye edilerek alıntılanmıştır.)

Lenfosit Tipi	İşlevleri	Antijen reseptör ve özgüllüğü	Belli başlı belirteçler	% Oran Çevre Kanı	Lenf Nodu	Dalak
$\alpha\beta$ T Hücreler						
CD4 ⁺ helper	B hücre farklılaşması (humoral immünite) Makrofaj aktivasyonu (hücre aracılı immünite)	$\alpha\beta$ heterodimerler peptid-Sınıf II MHC kompleksi için geniş bir özgüllük	CD3 ⁺ , CD4 ⁺ , CD8 ⁻	50 – 60	50 – 60	50 – 60
CD8 ⁺ sitotoksik	Enfekte hücreler ve tümör hücrelerinin öldürülmesi	Enfekte hücreler ve tümör hücrelerinin öldürülmesi	CD3 ⁺ , CD4 ⁺ , CD8 ⁻	50 – 60	50 – 60	50 – 60
Treg hücreler	Diğer T hücrelerin işlevini baskılar (immün yanıtın düzenlenmesi, öze yönelik toleransın sağlanması)	$\alpha\beta$ heterodimerler	CD3 ⁺ , CD4 ⁺ , CD25 ⁺ (En çok bilinen immünotip, farklı alt grupları var)	<%5	10	10
$\gamma\delta$ T hücreler	Helper ve sitotoksik işlevler (doğuştan bağışıklık)	$\gamma\delta$ heterodimerler Petid ve non peptid antijenler için kısıtlı kısıtlı özgüllükler	CD3 ⁺ , CD4 ⁺ , CD8 ⁻ değişken	<%5	?	?
B hücreler	Antikor oluşturma (humoral immünite)	Yüzey antikor Her tipte molekül için geniş spektrumda özgüllükler	Fc reseptörleri, Class II MHC, CD19, CD21	10 – 15	20 - 25	40 – 45
Doğal Öldürücü Hücreler (NK Hücreler)	Virüsle enfekte ya da hasarlı hücrelerin öldürülmesi (doğal bağışıklık)	Farklı aktivatör ve inhibitör reseptörler MHC ve MHC benzeri moleküller için sınırlı özgüllükler	CD16 (IgG için Fc reseptörü), CD56, bazı alt gruplarda CD57, KIR, KAR	10	Ender	10
NKT hücreler	Doğuştan ve kazanılmış immün yanıtları baskılar ya da aktive eder.	$\alpha\beta$ heterodimerler (Glikolipid-CD1 için sınırlı özgüllük)	CD16 (IgG için Fc reseptörü), CD3	10	Ender	10

5. Eritrositler (Alyuvarlar-Kırmızı Kan Hücreleri) :

Kırmızı kan hücreleri (eritrositler olarak da adlandırılır) kan hücresinin en yaygın türüdür ve omurgalı organizmanın dolaşım sistemi içerisindeki kan akışı yoluyla vücut dokularına oksijen (O₂) vermenin temel aracıdır. Akciğerler ya da solungaçlarda oksijen alırlar ve vücudun kılcal damarları boyunca tutarken serbest bırakılırlar. Bu hücrelerin sitoplazması oksijen bağlayabilen ve kanın kırmızı renginden sorumlu demir içeren bir biyomolekül olan hemoglobin açısından zengindir. İnsanlarda, olgun kırmızı kan hücreleri, hücreli çekirdekten yoksun ve

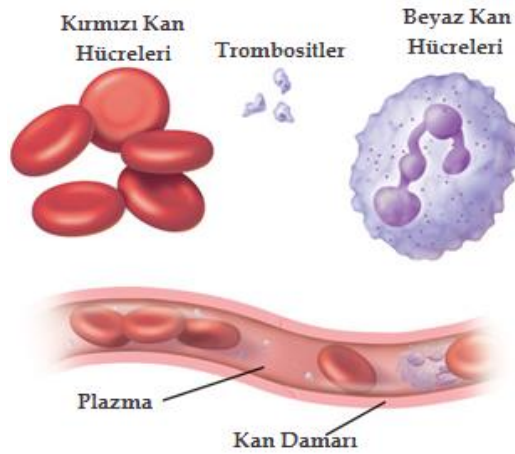
çoğu organelden yoksun, esnek iki yüzölü disklerdir. Saniyede 2,4 milyon yeni eritrosit üretilir. Hücreler kemik iliğinde gelişir ve bileşenleri makrofajlar tarafından geri dönüştürülmeden önce yaklaşık 100-120 gün boyunca vücutta dolaşır. Her dolaşım yaklaşık 20 saniye sürer. İnsan vücudundaki hücrelerin yaklaşık dörtte biri alyuvarlardır (www.saylor.org/content/epubtest/RedBloodCell.pdf /Erişim Tarihi: 26 Şubat 2017).



Şekil 5: İnsan Kırmızı Kan Hücreleri (6-8µm)

(<https://www.saylor.org/content/epubtest/RedBloodCell.pdf>

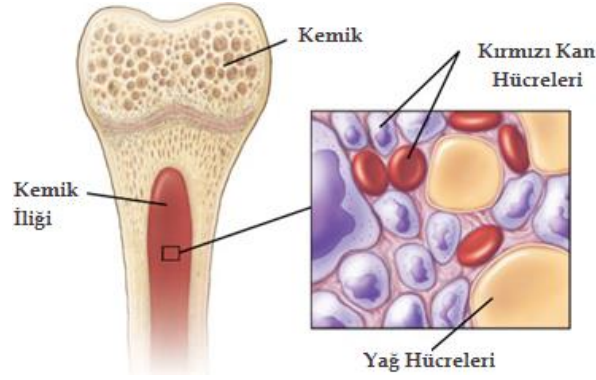
,Erişim tarihi: 26 Şubat 2017)



Şekil 6: Kırmızı kan hücreleri, trombositler ve beyaz kan hücreleri

(<https://www.urmc.rochester.edu/encyclopedia/content.aspx?ContentTypeID=160&ContentID=34>

,Erişim tarihi: 26 Şubat 2017)



Şekil 7: Kemik, kemik iliği, kemik iliğindeki kan ve yağ hücreleri

(<https://www.urmc.rochester.edu/encyclopedia/content.aspx?ContentTypeID=160&ContentID=34>, Erişim tarihi: 26 Şubat 2017)

5.1. İnsan Eritrositleri:

Tipik bir insan eritrositinin disk çapı 6-8 μm ve kalınlığı 2 μm 'dir. Bu hücrelerin yüzeyi yaklaşık 136 μm^2 olan yaklaşık 90 fL'lik bir hacmine sahiptir ve membran distansiyonu olmaksızın 150 fL içeren bir küre şekline kadar şişebilir. Yetişkin insanlar, her hangi bir zamanda yaklaşık $2-3 \times 10^{13}$ (20-30 trilyon) adet kırmızı kan hücresine sahiptirler ve toplam insan vücudu hücre sayısının yaklaşık dörtte birini oluşturmaktadırlar. İnsan kanındaki her bir mikrolitrede yaklaşık 4,000-11,000 beyaz kan hücresi ve yaklaşık 150,000-400,000 trombosit bulunur. İnsan kan hücreleri bir devir dolaşımın tamamlanması için ortalama 20 saniye sürer. Kırmızı kan hücreleri çekirdek içermediğinden, protein biyosentezinin bu hücrelerde halen mevcut olmadığı varsayılmaktadır; ancak son zamanlarda yapılan bir araştırma, insan biyolojik sisteminin protein biyosentezi için insan kırmızı kan hücrelerinde var olduğunu göstermektedir. Kanın kırmızı rengi hemoglobindeki hemik demir iyonlarının spektral özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Her insan kırmızı kan hücresi, her biri dört heme grubu taşıyan yaklaşık 270 milyon bu hemoglobin biyomolekülünü içerir; Hemoglobin, toplam hücre hacminin yaklaşık üçte birini içerir. Bu protein oksijenin % 98'den fazlasının taşınmasından sorumludur (geri kalan oksijen kan plazmasında üretilir). Ortalama bir yetişkin insan erkeğinin kırmızı kan hücreleri toplam 2.5 gram demir depolar ve vücuttaki toplam demirin yaklaşık % 65'ini temsil eder (www.saylor.org/content/epubtest/RedBloodCell.pdf , Erişim tarihi: 26 Şubat 2017).

5.2. Yaşam Döngüsü

İnsan eritrositleri, eritropoiesis adı verilen ve yaklaşık 7 gün içinde taahhüt edilen kök hücrelerden olgun eritrositlere dönüşen bir süreçle üretilir. Olgunlaştıklarında, bu hücreler yaklaşık 100 ila 120 gün boyunca kan dolaşımında yaşar. Ömrünün sonunda, yaşlanmaya başlarlar ve dolaşımdan çıkarılırlar (www.saylor.org/content/epubtest/RedBloodCell.pdf , Erişim tarihi: 26 Şubat 2017/).

5.3. Eritropoez

Eritropoez, her bir hücrenin yaklaşık 7 gün içinde olgunlaştığı yeni eritrositlerin üretildiği geliştirme sürecidir. Bu işlem sayesinde eritrositler, büyük kemiklerin kırmızı kemik iliğinde, sağlıklı bir yetişkinde saniyede yaklaşık 2 milyon oranında üretilir. (Embriyoda karaciğer, alyuvar üretiminin ana alanıdır.) Üretim, böbrekler tarafından sentezlenen eritropoietin (EPO) hormonu tarafından uyarılabilir. Kemik iliğinden ayrılmadan hemen önce ve sonra gelişmekte olan hücreler retikülosit olarak bilinir; bunlar dolaşımdaki kırmızı kan hücrelerinin yaklaşık % 1'ini oluşturur (www.saylor.org/content/epubtest/RedBloodCell.pdf , Erişim tarihi: 26.02.2017).

5.4. İşlevsel Ömür

Bu faz yaklaşık 100-120 gün sürer; eritrositler kan akışını itme (atardamarlarda), çekme (damarlarda) ve kılcal damarlar gibi mikro damarlar boyunca birbirlerine sıkıştırarak hareket ettirerek sürekli hareket ederler (www.saylor.org/content/epubtest/RedBloodCell.pdf , Erişim tarihi: 26 Şubat 2017).

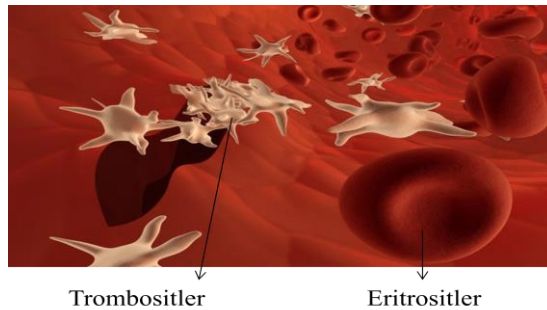
5.5. Yaşlılık

Yaşlanmaya neden olan eritrosit plazma membranında değişiklik yaparak makrofajlar tarafından seçici tanınmaya ve daha sonra retiküloendotel sisteminde (dalak, karaciğer ve kemik iliği) fagositoza duyarlı hale getirir, böylece eski ve arızalı hücreleri çıkarır ve sürekli olarak kan tasfiye eder. Bu işleme eritosis, eritrosit programlı hücre ölümü denir. Bu süreç, normal olarak eritropoez ile aynı üretim hızında oluşur ve toplam dolaşan kırmızı kan hücre sayısını dengeler. Sepsis, hemolitik üremik sendrom, sıtma, orak hücre anemi, beta talasemi, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliği, fosfat tükenmesi, demir eksikliği ve wilson hastalığı gibi çok çeşitli hastalıklarda eritropoez artar. Eritropoez, ozmotik şok, oksidatif stres, enerji tüketiminin yanı sıra çok çeşitli endojen mediyatörler ve ksenobiyotikler ile de ortaya çıkabilir. Aşırı eritropoez, cGMP'ye bağımlı protein kinaz tip I veya AMP ile

aktifleştirilmiş protein kinaz AMPK'dan yoksun eritrositlerde gözlenir. Erivitoz inhibitörleri, eritropoietin, nitrik oksit, katekolaminler ve yüksek üre konsantrasyonlarını içerir. Ortaya çıkan önemli parçalanma ürünlerinin çoğu vücuda devridaim yapıyor. Hemoglobinin heme bileşeni Fe^{3+} ve biliverdin olarak ayrılır. Biliverdin, plazmaya salınan ve albüminle bağlı olan karaciğere tekrar dolaştırılan bilirubine indirgenir. Demir, transferrin adı verilen bir taşıyıcı protein ile tekrar dolaşıma sokulmak üzere plazma içine salınır. Hemen hemen tüm eritrositler bu şekilde hemolize olabilecek yaştan önce dolaşımdan uzaklaştırılır. Hemolize hemoglobin, haptoglobin adı verilen, böbrek tarafından atılmayan bir proteine bağlıdır (www.saylor.org/content/epubtest/RedBloodCell.pdf , Erişim tarihi: 26 Şubat 2017).

6. Trombositler:

Fizyolojik şartlarda sirkülasyondaki trombositlerin işlevi damarda oluşan hasarda oluşabilecek kan kaybına engel olmaktır (Tetik Ş ve ark., 2012). Trombositler, kemik iliğinde yer alan megakaryosit olarak tanımlanan çok çekirdekli yapıda olan dev boyutlu hücrelerin sitoplazmasında oluşumunu gerçekleştirirler. Trombositlerin yaşamsal ömürleri ortalama olarak 10 gün kadardır (Küçükkaya R.D., 2010). Trombositler çekirdeksiz yapıya sahip olup, sirkülasyonda aktif olarak yer almayan diskoid şekile sahip hücrelerdir (Tetik Ş ve ark., 2012). Kanın hücresel elemanları içerisinde nitelendirilmelerine rağmen, yapılarında nüklousa sahip olmayıp, bu nedenle gerçek anlamda hücre değildirler. Trombositler May-Grünwald-Giemsa ile boyanmış periferik yayma ışık mikroskopunda incelendiklerinde mavi-gri renkte gözlemlenirler (Küçükkaya R.D., 2010).



Şekil 8: Trombositler

(<https://www.enbilgi.com/trombosit-nedir-ne-ise-yarar>, Erişim tarihi: 28 Şubat 2017)

7. GEREÇ VE YÖNTEM

7.1. Sporcuların Temini

Çalışma grubumunu İstanbul Üniversitesi Atletizm Takımı Sporcuları, Pendik Spor Kulübü Sporcuları, Üsküdar Belediyesi Atletizm Takımı ve İstanbul İlinde atletizm branşı ile lisanslı uğraşan gönüllü sporcular oluşturmuştur. 3 kısa mesafeci kadın ve 5 kısa mesafeci erkek, 5 Uzun mesafeci erkek ve 3 uzun mesafeci kadın sporcu çalışmamıza gönüllü olarak katılmışlardır.

Antrenman planı, sporcuların plana göre yönlendirilmesi Hakan ÖZEL tarafından Pendik Çamlık Spor tesislerinde, antrenman öncesi, sonrası intra venöz yöntemle kol venlerinden kan alımı ve laboratuvar çalışmaları Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, Çocuk İmmünoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Kısa mesafeci sporcular 28.10.2016 tarihinde, uzun mesafeci sporcular 04.11.2016 tarihinde 10:00-12:00 saatleri arasında antrenmana alınmıştır.

Gönüllü sporcuların antrenman sırasında bir birlerinin koşu tempolarını olumsuz yönde etkilememeleri için aynı cinsiyette ve branşta olan sporcular, branşa ve cinsiyete göre gruplar halinde koşturulmuştur. Antrenman günleri farklı olan sporcuların antrenman saatleri aynı zaman diliminde gerçekleşmiştir. Farklı günlerde yapılan antrenmanla oluşabilecek ısı nem ve rüzgar parametreleri farkının katılımcılara olumsuz etkisini ortadan kaldırmak için, yakın değerler gözetilerek antrenmanlar gerçekleştirilmiştir. Antrenmandan 3 saat önce sporcular hafif gıdalar ile beslenmelerine izin verilmiş, antrenmandan sonra kan alınacak süre olan 1 saat sonrasına kadar su harici hiçbir besin maddesi sporculara verilmemiştir.

Antrenman anında sprinterlerde yüzdelik olarak istenilen koşu tempolarının zamanı, sporcunun o sene koştuğu en iyi dereceye göre belirlenmiştir. Sprinterlerin koşu zamanları koşudan sonra el kronometresi ile ölçülüp sesli olarak katılımcıya bildirilmiştir, mesafe koşucularının tur zamanları el kronometresi ile ölçülüp sesli olarak katılımcıya her tur atışında bildirilmiştir.

7.2. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Araştırmaya aşağıdaki şartları sağlayan gönüllü sporcular ve bireyler dahil edilmiştir.

7.2.1. Kısa ve Uzun Mesafe Koşucuları İçin:

- 15-23 yaş arasında,
- Atletizm branşında lisanslı sporcu olmak.
- Çalışmadan 1 ay öncesi antibiyotik ve steroid türevi ilaç kullanmayanlar.
- Çalışmadan 1 ay öncesi ateşli rahatsızlık geçirmeyenler.
- Çalışmadan 1 ay önce immün sistemi güçlendirmek için katkı maddesi almayanlar.
- Çalışmadan 3 ay önce kemik dokusunda kırık, çatlak ve kas dokusunda büyük doku yaralanması geçirmeyen ve herhangi bir travmaya maruz kalmayanlar.

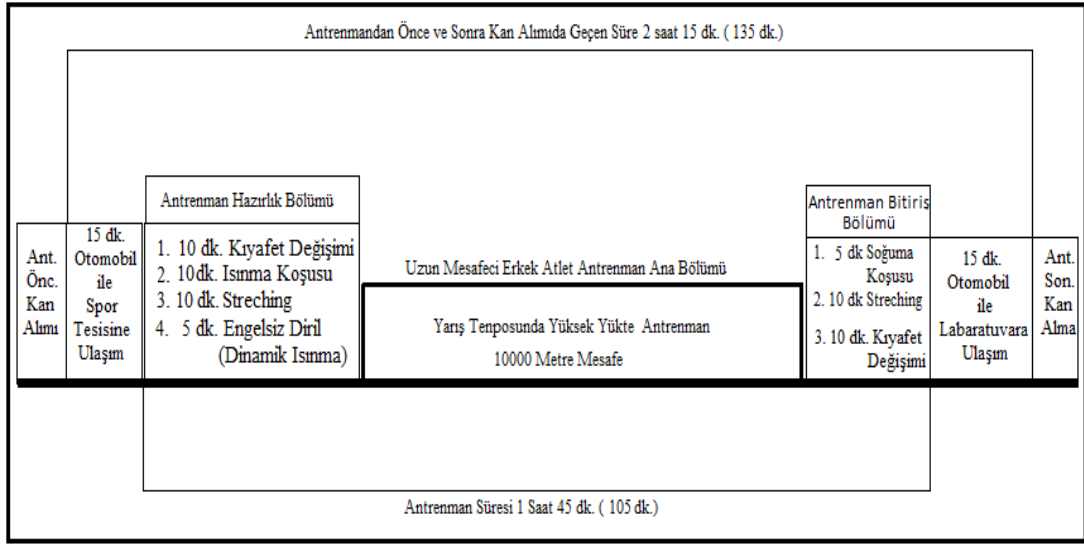
7.3. Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri

- Kan verme hususunda psikolojik hassasiyet gibi engel durumu olan sporcular.
- Ölçümlere katılmayan sporcular.
- Çalışma sırasında immün sistem güçlendirici katkı maddesi alanlar.
- Çalışma sırasında kemik ve kas doku travmasına maruz kalanlar.
- Çalışma sırasında ateşli bir rahatsızlık geçirenler.
- Kriterlere uymayan sporcular.

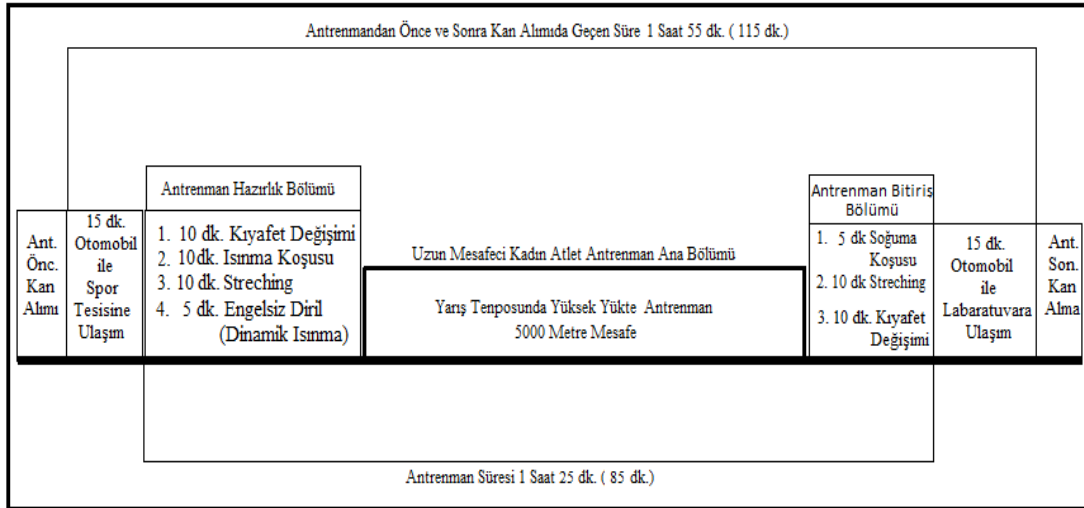
7.4. Antrenman Planı

7.4.1 Uzun Mesafe Koşucularının Antrenman Planı

Uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi venöz yol ile alınan kan örnekleri heparinli tüplere 10'ar ml olarak alınmıştır. Antrenmandan önce 10 dk. ısınma koşusu, 10 dakika stretching 5 dakika engelsiz dirillerden (dinamik ısınma) sonra kadın sporcular yarış temposuna yakın bir tempoda 5000 metre, erkek sporcular ise yine yarış temposuna yakın bir tempoda 10000 metre koşturulmuştur. Antrenmandan sonra 5 dk. soğuma koşusu ve 10 dakika stretching yaptıktan ve sıvı ihtiyaçları giderildikten sonra 15 dk. ılık yol mesafesi araçla katedilmiş ve Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, Çocuk İmmünoloji Laboratuvarında venöz yol ile antrenman sonrası kan örnekleri uzun mesafe koşucusu sporculardan 10'ar ml olarak alınmıştır.



Şekil 9 : Uzun Mesafeci Erkek Koşucuların Antrenman Planı.

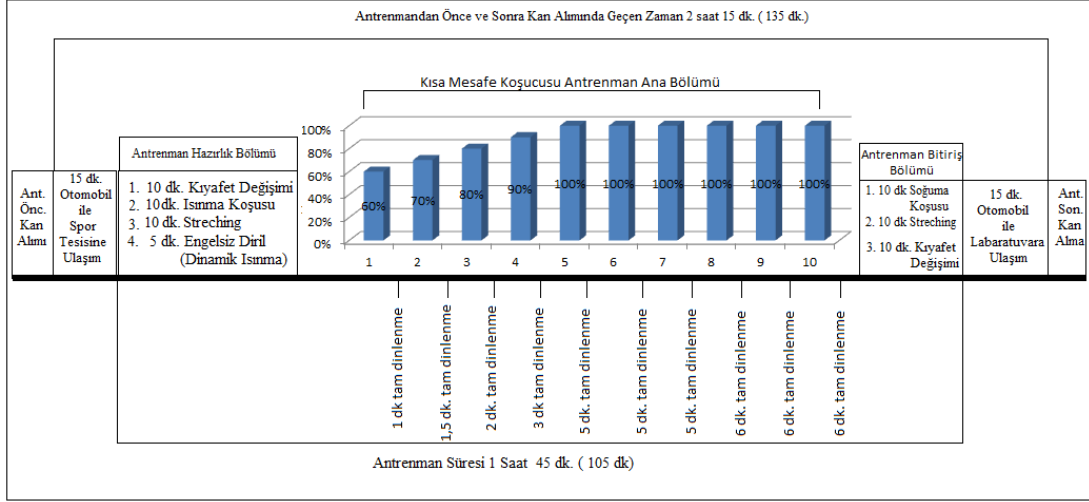


Şekil 10 : Uzun Mesafeci Kadın Koşucuların Antrenman Planı

7.4.2. Kısa Mesafe Koşucularının Antrenman Planı

Kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi venöz yol ile alınan kan örnekleri heparinli tüplere 10'ar ml olarak alınmıştır. Antrenmandan önce 10 dakika ısınma koşusu, 10 dakika streching ve 5 dakika engelsiz dirillerden (dinamik ısınma) sonra koşuculara %60 tempoda 100 metre koşturulmuş, 1 dk. dinlenme verilmiştir. %70 tempodan 100 metre koşturulmuş, 1,5 dk. dinlenme verilmiştir. % 80 tempoda 100 metre koşturulmuş 2 dk. dinlenme verilmiştir. %90 tempoda 100 metre koşturulmuş 3 dk. dinlenme verilmiştir. Akabinde 5 dk. dinlenme aralığı ile %100 tempoda 3 tekrarlı 100 metre koşusu ve 6 dk. dinlenme aralığı ile %100 tempoda 3 tekrarlı 100

metre koşusu yaptırılmıştır. Antrenmandan sonra 5 dakika soğuma koşusu, 10 dakika stretchingten sonra sıvı ihtiyaçları giderildikten sonra 15 dk. ılık yol mesafesi araçla katedilmiş ve Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, Çocuk İmmünoloji Laboratuvarında venöz yol ile antrenman sonrası kan örnekleri uzun mesafe koşucusu sporculardan 10'ar ml olarak alınmıştır.



Şekil 11 : Kısa Mesafeci Koşucuların Antrenman Planı

7.5. Sporculardan venöz kan alınması ve periferik kan mononükleer hücre (PBMC) izolasyonu)

Sporculardan antrenman öncesi ve sonrası venöz yol ile alınan kan örnekleri heparinli tüplere 5'er ml olarak alınmış ve alınan kan lenfosit izolasyonu yapılmak üzere steril ortam olan UV kabininde 15 ml'lik steril falkonlara aktarılmıştır, bu kan örnekleri 1/1 oranında steril PBS ile sulandırılmıştır. Her örnek için ayrı bir steril 15 ml'lik falkon tüp alınarak örneklere göre kodlanmış ve her tüpe 3 ml steril fikol eklenmiştir. Daha sonra fikol eklenen tüplere PBS ile volümü artırılan kan örnekleri steril pastör pipeti kullanılarak yayılmıştır. Tüpler 20 dakika sürede 2000 rpm devirde santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Santrifüj işlemi sonunda tüplerin ortasında yoğunlaşmış olan buffy-coat kısmı örneklere göre kodlanıp yeni falkon tüplere alınmıştır. Daha sonra tüplere hücre kültür besiyeri RPMI 1640 %10 konularak 1500 rpm devirde 10 dakika santrifüj edilerek yıkama işlemi yapılmıştır.

Birinci yıkama işlemi sonrasında UV kabinine alınan tüplerin üst kısımları boşaltılmış ve çökmüş olan lenfositler kaldırılarak yıkama işlemi 2 kez tekrarlamıştır. Son yıkama işleminin ardından hücreler hücre kültürü besiyeri ile 1 ml' ye tamamlanmıştır. 1 ml' de bulunan lenfosit sayısının tayini için, lenfosit süspansiyonundan 10 µl örnek alınmış yine aynı miktarda Tripan mavisi ile karıştırılmıştır. Boyayı içine almamış ve şişmemiş lenfositler canlı olarak nitelendirilerek, Thoma lamında 16 büyük kare 40x'lik büyütme altında sayılmıştır. Bulunan hücre sayıları 2×10^4 ile çarpılarak, lenfosit sayıları tüm örnekler için hesaplanmış ve hücre süspansiyonundan her kuyuda 5×10^5 hücre konulmuştur.

7.6. Lenfosit Proliferasyonunun İncelenmesi İçin Hücrelerin Carboxyfluorescein Succinimidyl Ester CFSE İle İşaretlenmesi

7.6.1. T Hücrelerinin CFSE İle İşaretlenmesi

72 saatlik kültür süresi sonunda hücreler santrifüj edilerek ve 1ml PBS de sulandırılmıştır. Üzerlerine 1 µl CFSE konularak (bu işlem ve sonrası karanlık ortamda gerçekleştirilir). CFSE konulduktan sonra 12 dakika $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ de bekletilmiştir. 12 dakika sonrasında 7 ml CRPMI (RPMI 1640 + %10 FBS + %1 penicillin streptomycin) konulmuş ve 2000 rpm de 5 dakika santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonrasında süpernatant atılarak ve 2 ml CRPMI eklenip tekrar 1200 rpm de 5 dakika santrifüj yapılmıştır. Son yıkamadan sonra 1 ml CRPMI ile sulandırılmış ve 48 kuyulu plaklara her bir kuyuya 500 mikrolitre CRPMI içinde 500.000 hücre olacak şekilde süspanse edilip kültüre alınmıştır.

7.7. Lenfosit Proliferasyonu

72 saatlik kültür süresi sonunda kuyucuklara bireylerin venöz kanlarından izole edilmiş, CFSE ile işaretlenmiş T hücreleri (proliferasyona bakmak amacıyla) her bir kuyuda 5×10^5 hücre olacak şekilde konulmuştur. Her gruptaki lenfosit hücrelerin uyaransız ve antiCD3/anti CD28 (CDmix) uyaranlı kültürleri yapılmıştır. Lenfosit hücrelerin kültür süresi sonunda proliferasyon analizleri akım sitometri ile bakılmıştır. Kültürden elde edilen lenfositler (CFSE-FITC işaretli) akan hücre ölçer (flow cytometry) cihazı yardımıyla okutulmuş ve elde edilen sonuçlar analiz edilmiştir.

7.8. Lenfosit Apoptozu

Bu çalışmada bireylerden elde edilen mononükleer hücrelerin içinde 72 saatlik kültürdeki lenfositlerin ölüm süreçlerini araştırmak amacıyla, anti-CD3/anti-CD28 ile uyarılan lenfositlerle kültür deneyi yaptığımız tüm gruplarda hücre ölümüne direkt boyama (CD4+ ve CD8+ T lenfositlere karşılık Annexin V kiti) ile akım sitometri cihazında analiz edilmiştir. Boyama prosedürleri üreticilerin hazırlamış olduğu prosedürlere göre yapılmıştır.

7.9. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler

- DPBS(Ca++ Mg++-free (Gibco, Grand Island, USA; 1419094)
- Penicillin/streptomycin (Gibco, Grand Island, USA; 15140122)
- RPMI (Gibco, Grand Island, USA; 21875034)
- Fötal sığır serumu (FBS; Gibco, Grand Island, USA; 10500064)
- % 0,5 tripan mavisi solusyonu (Gibco, Grand Island, USA; 15250061)
- CFSE Cell Proliferation Kit - For Flow Cytometry (Invitrogen, Grand Island, USA;C34554)
- Ficoll-Paque (GE Healthcare Bio- Sciences AB, Upsala; 17144003)
- Anti CD3 (LiseSpan Biosciences, USA; 50867)
- Anti CD4 (LiseSpan Biosciences, USA; 345770)
- Anti CD8 (LiseSpan Biosciences, USA; 345775)
- Anti CD28 (Millipore, California; LV1700707)
- CD45/CD14(BD Bioscience United States; 342408)
- CD3/CD16+56 (BD Biosciences,United States; 342403)
- CD3/CD19 (BD Biosciences,United States; 342404)
- CD20 (BD Biosciences,United States; 340908)
- Hücre yıkama solüsyonu (Cell Wash, BD Biosciences,United States; 349524)
- TriTEST CD4 FITC/CD8 PE/CD3 PerCP (BD Biosciences,United States; 342474)
- APC mouse anti-human CD25 (BD Biosciences,United States; 555434)
- FITC mouse anti-human CD4 (BD Biosciences,United States; 555346)
- Annexin V: FITC Apoptosis Detection Kit (eBioscience Inc., San Diego, CA; BMS500FI/100)

7.10. Çalışmada Kullanılan Hücre Kültürü Malzemeleri

- 0,22 μ m filtre (Sartorius, Goettingen, Germany; 16534)
- Heparinli Tüp (Yeşil kapaklı) (Hongyu Medical, China; 131211)
- 15 ml konik kapaklı tüp (BD Biosciences Discovery Labware, CT, USA;352096)
- 50 ml konik kapaklı tüp (BD Biosciences Discovery Labware, CT, USA; 352098)
- 48 kuyucuklu plaklar (Nest Biotech, China, 20140010415A)
- 5 ml Polystyrene tube (BD Biosciences, United States; 352052)
- 3 ml' lik pastör pipeti (Citotest Labware Manufacturing, London; 31027003US)
- Şarjlı pipet pompası (IsoLab, Germany)
- 2 μ l- 20 μ l' lik otomatik pipet (Axygen Scientific, USA)
- 20 μ l-200 μ l' lik otomatik pipet (Axygen Scientific, USA)
- 100 μ l- 1000 μ l' lik otomatik pipet (Axygen Scientific, USA)
- Hücre sayım kamerası (Thoma Lamı)
- Lamel (22x22mm)
- Buz kalıpları
- Boş beher (atık için)
- Laboratuvar kalemi
- %70 alkol
- Distile su
- Steril pudrasız cerrahi eldiveni

7.11.Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Tablo 3 : Çalışmada kullanılan cihazlar

CİHAZ	MARKA	MODEL
CO ₂ İnkübatörü	Thermo	Series II Water Jacket
CO ₂ Tüpü	Habaş	
İnvert Mikroskop	EVOS	AMG
Binoküler Araştırma Mikroskobu	Olympus	BH2-RFCA
Thoma lamı		
Lamel		
Laminar Flow Cabin	Biosafety Cabinet	Class II Tip
Buzdolabı (+4 °C)	Uğur	USS1000
Derin Dondurucu (-20 °C)	Regal	LF 2102 A+
Santrifüj	Beckman Coulter	Allegra X-22
Mikropipet Seti	Thermo	
Vorteks	Yellow line	TTS 2
Isıtmalı Manyetik Karıştırıcı	Janke&Kunkelika	IKAMAG RH
Rotator	Miltenyi Biotec	MACSmix
Sıcak Su Banyosu	Techne	TE-10A DIKLM
Akan Hücre Ölçer	BD	FACS Calibur
Cihaz	ACEA Bioscience	xCELLigence RTCA DP
Hücre Sayım Cihazı	Innovatis Cedex- XS	
Class II Tip Laminar Air Flow	Biosafety Cabinet	
Flow cytometer	BD FACSCalibur	

7.12. Kullanılan Solüsyonlar

7.12.1 Anti-CD3/Anti-CD28 (CDmix) uyarınının hazırlanması

Anti-CD3 vialinde 100 μ g /100 μ l bulunmaktaydı. Bu vialden her bir 500 μ l kültür kuyusuna 1 μ eklendi (konsantrasyon 0,5 μ g/ml). Anti-CD28 vialinde 100 μ g /100 μ l bulunmaktaydı. Bu vialden her bir 500 μ l kültür kuyusuna 1 μ eklendi (konsantrasyon 0,5 μ g/ml).

8. İstatistiksel Analiz:

Toplanan veriler Microsoft Office 2007 Excell programına aktarılmıştır. Gruplar arasındaki farklılık SPSS 21 Programı (Statistical Package for the Social Sciences) kullanılarak analiz edilmiştir. Denek grubu 30'un altında olmasından dolayı non parametrik testlerden yararlanılmıştır. Kısa mesafe ve uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası bulgularının karşılaştırılması wilcoxon signed ranks test, koşucuların antrenman öncesi ve sonrası farkları ile kısa ve uzun mesafeci koşucuların bir birleriyle karşılaştırması Mann-Whitney Test kullanılarak yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi $P < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

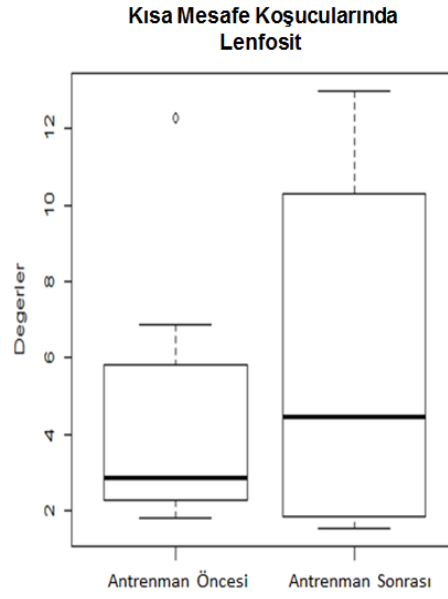
9. BULGULAR

Tablo 4 : Koşucuların yaş, boy, vücut kitle indeksi, sigara kullanımı, alkol kullanımı ve atletizm ile uğraşma ortalama ve standart sapma değerleri.

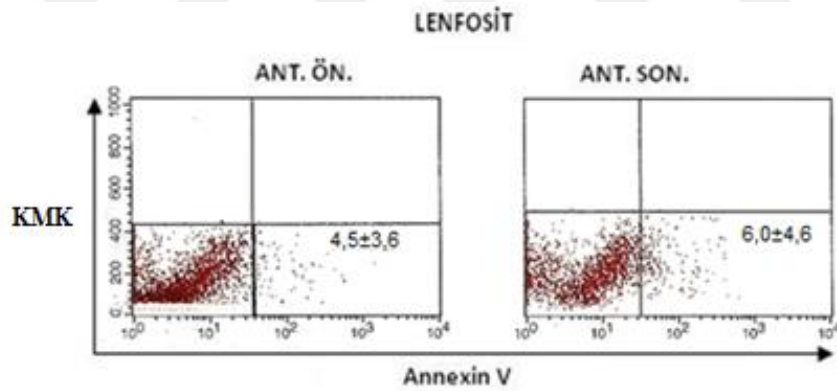
Parametre	Kısa Mesafe Koşucusu Ortalama $\pm$ Std. Sapma	Uzun Mesafe Koşucusu Ortalama $\pm$ Std. Sapma
Yaş (Yıl)	19,68 $\pm$ 2,33	18,72 $\pm$ 2,62
Boy (m)	1,72 $\pm$ 6,89	1,67 $\pm$ 7,06
Ağırlık (kg)	62,5 $\pm$ 9,06	60,13 $\pm$ 9,68
Vücut Kitle İndeks (BMI)	21,52 $\pm$ 2,02	21,83 $\pm$ 2,22
Sigara	Hayır	Hayır
Alkol	Hayır	Hayır
Kaç Senedir Atletizm İle Uğraşıyor (Yıl)	5,5 $\pm$ 2,44	4,5 $\pm$ 1,92

Tablo 5: Kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerlerinin lenfosit apoptozu yönünden istatistiksel analizi.

Parametre	N	Ortalama±Std. Sapma	Min-Max	P
Lenfosit Ant.Ön.	8	4,49±3,56	1,82-12,27	,575
Lenfosit Ant.Son.	8	5,97±4,60	1,54-12,99	
CD3 ⁺ /CD4 ⁺ T Hücre Ant.Ön.	8	4,29±2,77	2-10,28	,889
CD3 ⁺ /CD4 ⁺ T Hücre Ant.Son	8	4,17±2,84	1,12-8,69	
CD3 ⁺ /CD8 ⁺ T Hücre Ant.Son	8	4,18±2,68	1,84-9,93	,779
CD3 ⁺ /CD8 ⁺ T Hücre Ant.Son	8	4,11±2,64	1,49-8,45	

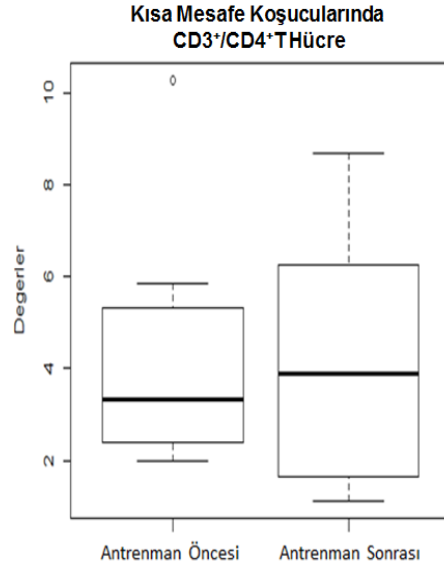


Şekil 12: Kısa mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda genel lenfosit hücrede istatistiksel analiz grafiği.

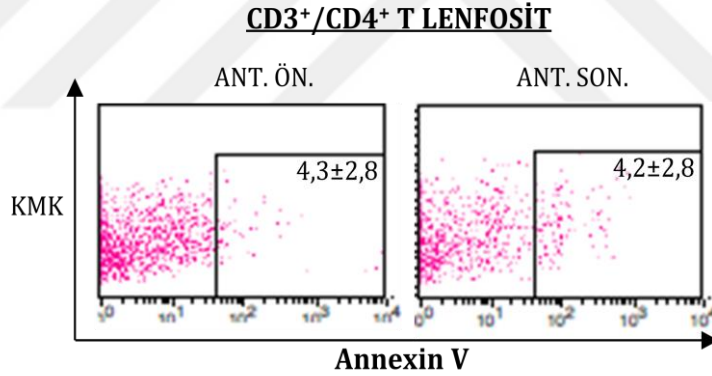


Şekil 13: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası genel lenfosit hücrede akım sitometri sonuçları.

Kısa mesafe koşucusu 8 atletin antrenman öncesi ve sonrası değerleri lenfosit apoptozu yönünden genel lenfositte istatistiksel olarak incelendiğinde, koşucuların antrenman öncesi ortalama±std. sapma değerleri $4,49 \pm 3,56$ min-max değerleri 1,82-12,27, antrenman sonrası Ortalama±Std. Sapma değerleri $5,97 \pm 4,60$ min-max değerleri 1,54-12,99 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,575$) ($p>0,05$) (Tablo 5, Şekil 12-13).

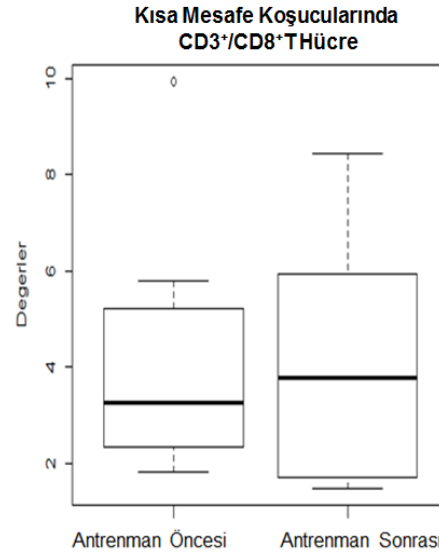


Şekil 14: Kısa mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda $CD3^+/CD4^+T$ hücrede istatistiksel analiz grafiği.

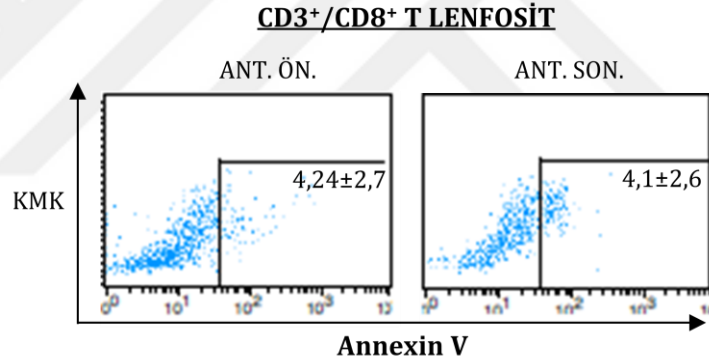


Şekil 15: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası $CD3^+/CD4^+T$ hücrede akım sitometri sonuçları.

$CD3^+/CD4^+T$ hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama $\pm$ std. sapma değeri $4,29\pm 2,77$, min-max değerleri 2-10,28, antrenman sonrası ortalama $\pm$ std. sapma değerleri $4,17\pm 2,84$ min-max değerleri 11,12-8,69 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,889$) ($p>0,05$) (Tablo 5, Şekil 14-15).



Şekil 16: Kısa mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda $CD3^+/CD8^+T$ hücrede istatistiksel analiz grafiği.

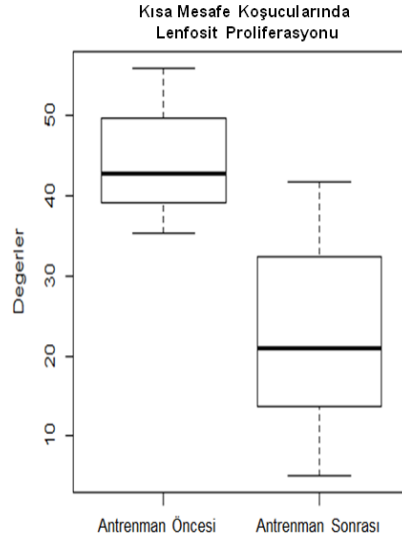


Şekil 17: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası $CD3^+/CD8^+T$ hücrede akım sitometri sonuçları.

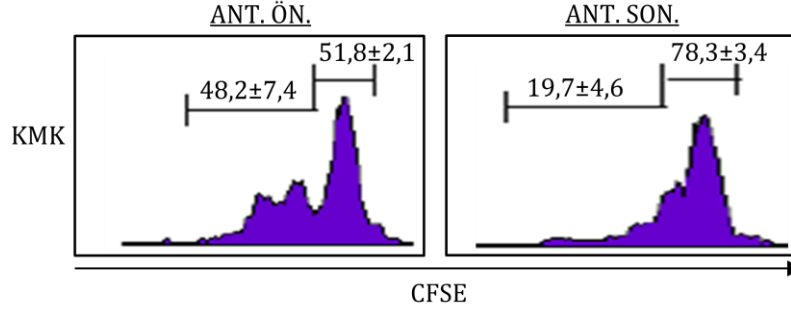
$CD3^+/CD8^+T$ hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama $\pm$ std. sapma değeri $4,18\pm2,68$, min-max değerleri 1,84-9,93, antrenman sonrası ortalama $\pm$ std. sapma değerleri $4,11\pm2,64$, min-max değerleri 1,49-8,45 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,779$) ($p>0,05$) (Tablo 5, Şekil 16-17).

Tablo 6: Kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerlerinin lenfosit proliferasyonu yönünden istatistiksel analizi.

Parametre	N	Ortalama±Std. Sapma	Min-Max	P
Proliferasyon Ant.Ön.	8	44,34±7,52	35,36-55,92	,012
Proliferasyon Ant.Son.	8	22,62±12,69	5,07-41,67	



Şekil 18: Kısa mesafe koşucularında lenfosit proliferasyonu istatistiksel analiz grafiği.

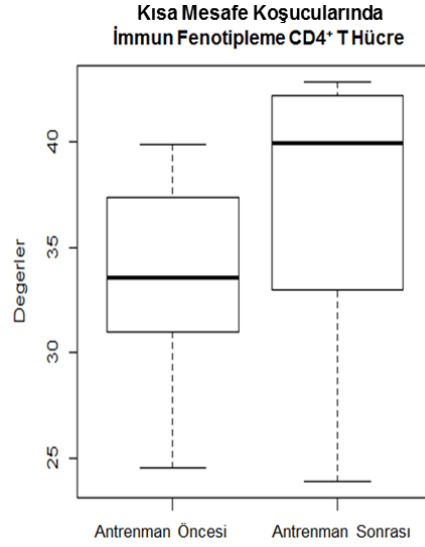


Şekil 19: Kısa mesafe koşucularında lenfosit proliferasyonu akım sitometri sonuçları.

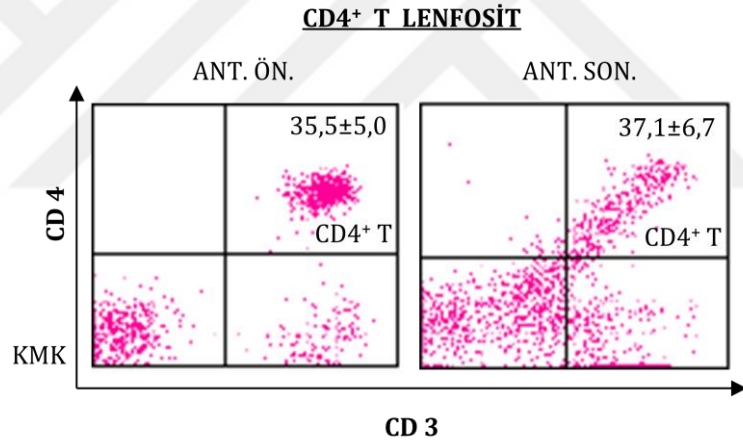
Kısa mesafe koşucusu 8 atletin antrenman öncesi ve sonrası değerleri lenfosit proliferasyonu yönünden incelendiğinde, antrenman öncesi ortalama±std. sapma değerleri 44,34±7,52 min-max değerleri 35,36-55,92, antrenman sonrası ortalama±std. sapma değerleri 22,62±12,69 min-max değerleri 5,07-41,67 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**p=0,012**) ($p<0,05$) (Tablo 6, Şekil 18-19).

Tablo 7: Kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerlerinin immun fenotipleme yönünden istatistiksel analizi.

Parametre	N	Ortalama±Std. Sapma	Min-Max	P
CD4 ⁺ T Hücre Ant.Ön.	8	33,54±4,96	24,58-39,87	,093
CD4 ⁺ T Hücre Ant.Son	8	37,12±6,66	23,92-42,84	
CD8 ⁺ T Hücre Ant.Ön.	8	27,24±4,32	22,16-35,8	,036
CD8 ⁺ T Hücre Ant.Son	8	23,25±6,95	16,83-38,52	
B HücreAnt.Ön.	8	10,30±,5,02	7,51-22,42	,161
B Hücre Ant.Son.	8	10,45±1,56	8,06-12,51	
NK Hücre Ant.Ön.	8	19,72±10,05	5,79-33,55	,012
NK Hücre Ant. Son.	8	11,87±6,93	4,07-26,68	
NKT Hücre Ant.Ön.	8	5,99±6,08	0,17-19,63	1
NKT Hücre Ant.Son.	8	8,00±13,58	0,4-41,04	

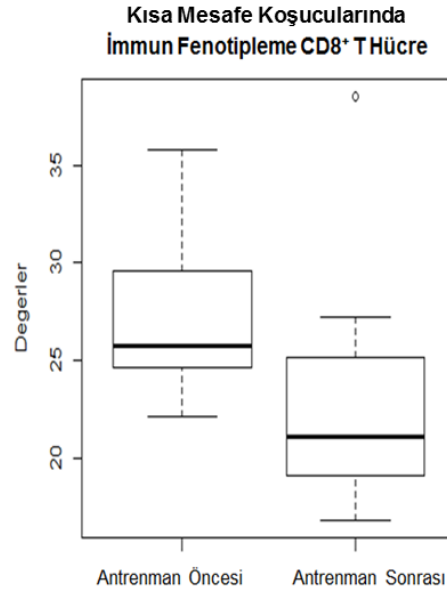


Şekil 20: Kısa mesafe koşucularında immün fenotiplemede CD4⁺T hücrede istatistiksel analiz grafiği.

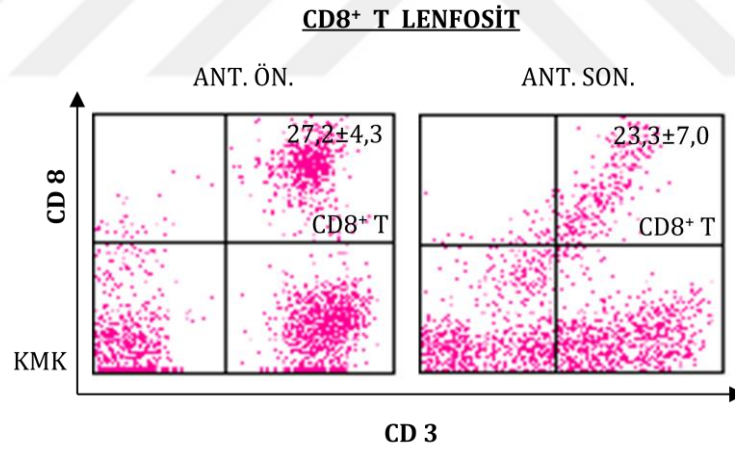


Şekil 21: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD4⁺T hücrede akım sitometri sonuçları.

Kısa mesafe koşucusu 8 atletin antrenman öncesi ve sonrası değerleri immün fenotipleme yönünden CD4⁺T hücrede istatistiksel olarak incelendiğinde, koşucuların antrenman öncesi ortalama±std. sapma değerleri 33,54±4,96 min-max değerleri 24,58-39,87, antrenman sonrası ortalama±std. sapma değerleri 37,12±6,66 min-max değerleri 23,92-42,84 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,093) (p>0,05) (Tablo 7, Şekil 20-21).

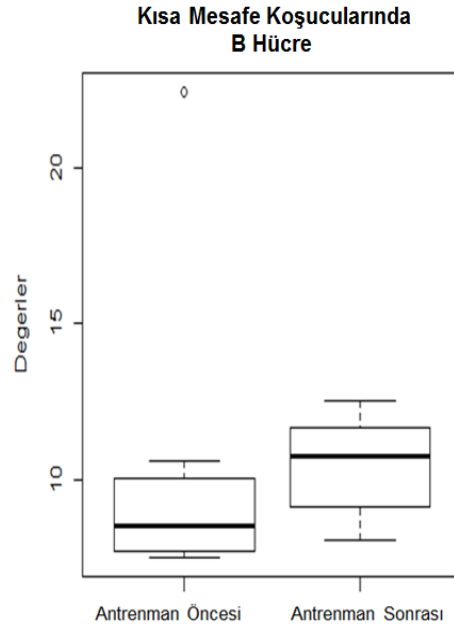


Şekil 22: Kısa mesafe koşucularında immün fenotiplemede CD8⁺T hücrede istatistiksel analiz grafiği.

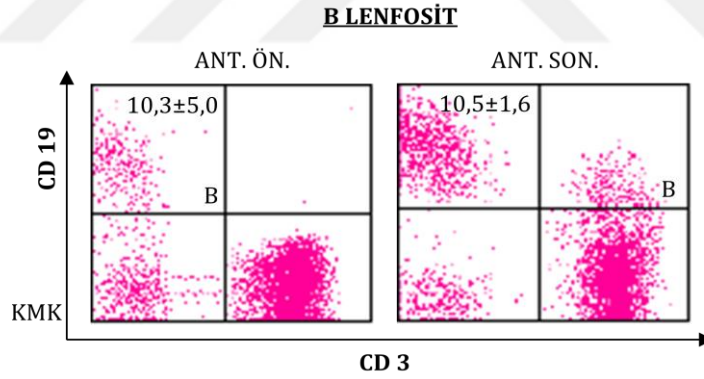


Şekil 23: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD8⁺T hücrede akım sitometri sonuçları.

CD8⁺ T hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama±std. sapma değeri 27,24±4,32, min-max değerleri 22,16-35,8, antrenman sonrası ortalama±std. sapma değerleri 23,25±6,95 min-max değerleri 16,83-38,52 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**p=0,036**) (**p<0,05**) (Tablo 7, Şekil 22-23).

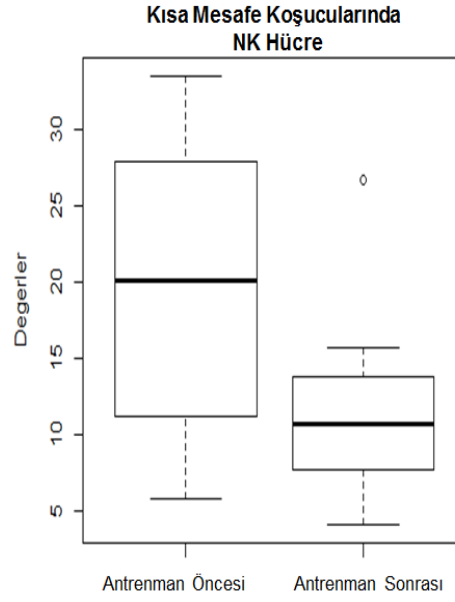


Şekil 24: Kısa mesafe koşucularında immün fenotiplemede B hücrede istatistiksel analiz grafiği.

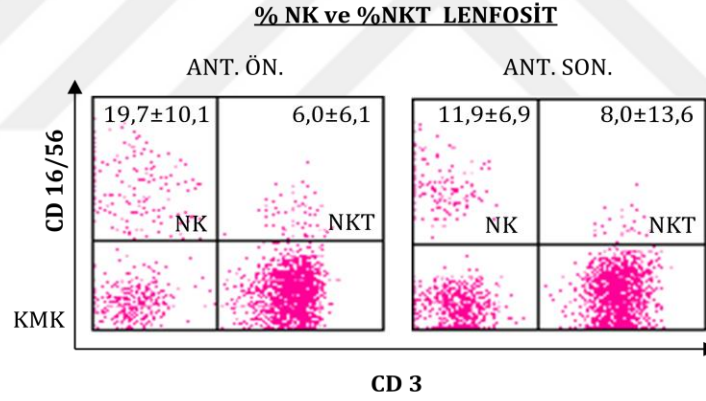


Şekil 25: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası B hücrede akım sitometri sonuçları.

B hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama±std. sapma değeri $10,30 \pm 5,02$, min-max değerleri 7,51-22,42, antrenman sonrası ortalama±std. sapma değerleri $10,45 \pm 1,56$, min-max değerleri 8,06-12,51 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,161$) ($p>0,05$) (Tablo 7, Şekil 24-25).

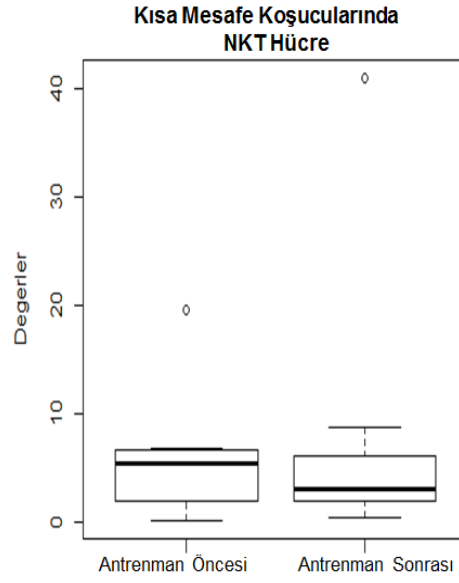


Şekil 26: Kısa mesafe koşucularında immün fenotiplemede NK hücrede istatistiksel analiz grafiği.

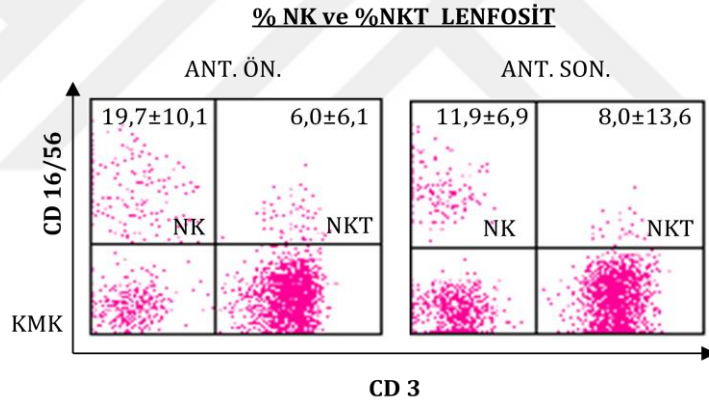


Şekil 27 : Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası NK hücrede akım sitometri sonuçları.

NK hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama $\pm$ std. sapma değeri $19,72\pm10,05$, min-max değerleri 5,79-33,55, antrenman sonrası ortalama $\pm$ std. sapma değerleri $11,87\pm6,93$ min-max değerleri 4,07-26,68 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,012$) ($p<0,05$) (Tablo 7, Şekil 26-27).



Şekil 28: Kısa mesafe koşucularında immün fenotiplemede NKT hücrede istatistiksel analiz grafiği.

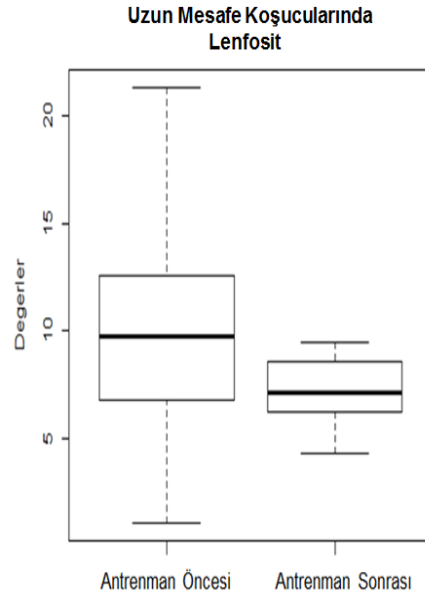


Şekil 29: Kısa mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası NKT hücrede akım sitometri sonuçları

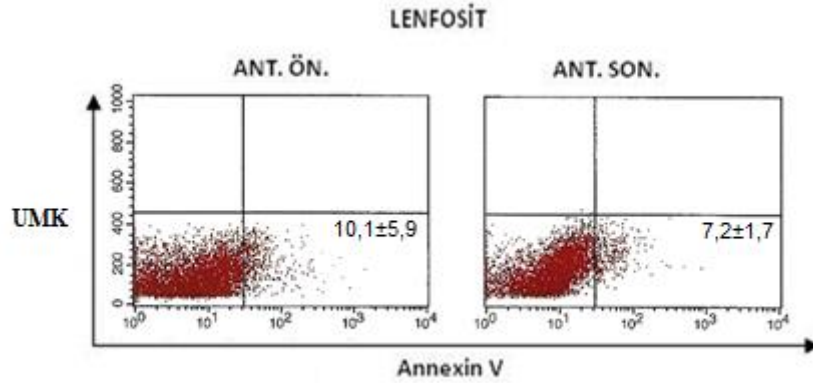
NKT hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama $\pm$ std. sapma değeri $5,99\pm6,08$, min-max değerleri 0,17-19,63, antrenman sonrası ortalama $\pm$ std. sapma değeri $8,00\pm13,58$, min-max değerleri 0,4-41,04 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=1$) ($p>0,05$) (Tablo 7, Şekil 28-29).

Tablo 8: Uzun mesafe koşucuların antrenman öncesi ve sonrası değerlerinin lenfosit apoptozu yönünden istatistiksel analizi.

Parametre	N	Ortalama±Std. Sapma	Min-Max	p
Lenfosit Ant.Ön.	8	10,08±5,90	1,12-21,28	,208
Lenfosit Ant.Son.	8	7,21±1,67	1,12-21,28	
CD3 ⁺ /CD4 ⁺ T Hücre Ant.Ön.	8	5,28±2,91	0,87-8,62	,063
CD3 ⁺ /CD4 ⁺ T Hücre Ant.Son.	8	3,27±1,43	1,17-5,24	
CD3 ⁺ /CD8 ⁺ T Hücre Ant.Ön.	8	5,33±3,17	0,87-9,1	,036
CD3 ⁺ /CD8 ⁺ T Hücre Ant.Son.	8	2,34±1,14	0,93-3,72	

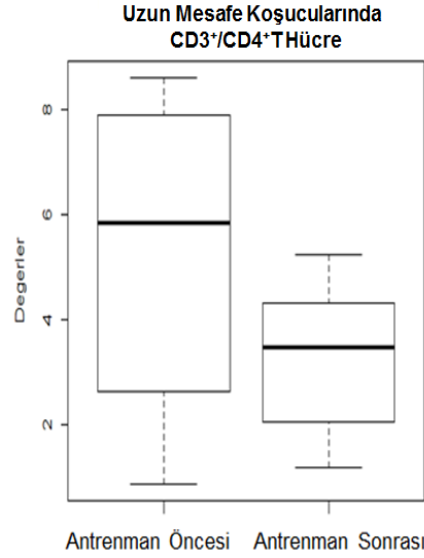


Şekil 30: Uzun mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda genel lenfosit hücrede istatistiksel analiz grafiği.

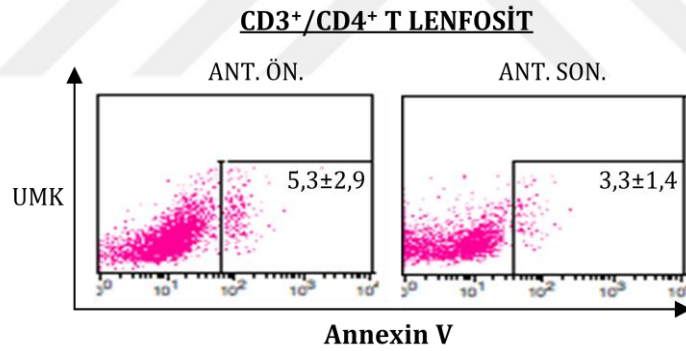


Şekil 31: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası genel lenfositte akım sitometri sonuçları.

Uzun mesafe koşucusu 8 atletin antrenman öncesi ve sonrası değerleri lenfosit apoptozu yönünden genel lenfositte istatistiksel olarak incelendiğinde, koşucuların antrenman öncesi ortalama $\pm$ std. sapma değerleri $10,08 \pm 5,90$ min-max değerleri 1,12-21,28, antrenman sonrası ortalama $\pm$ std. sapma değerleri $7,21 \pm 1,67$ min-max değerleri 1,12-21,28 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,575$) ($p>0,05$) (Tablo 8, Şekil 30-31).

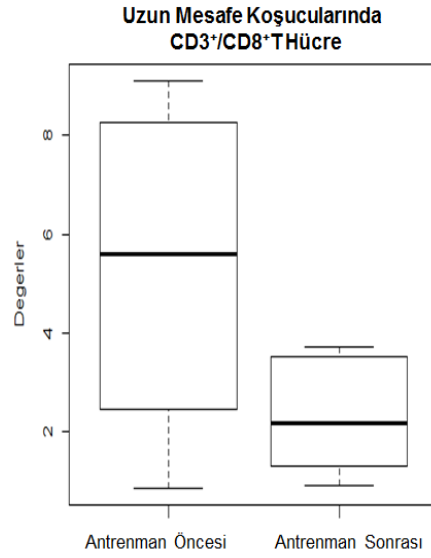


Şekil 32: Uzun mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda $CD3^+/CD4^+T$ hücrede istatistiksel analiz grafiği.

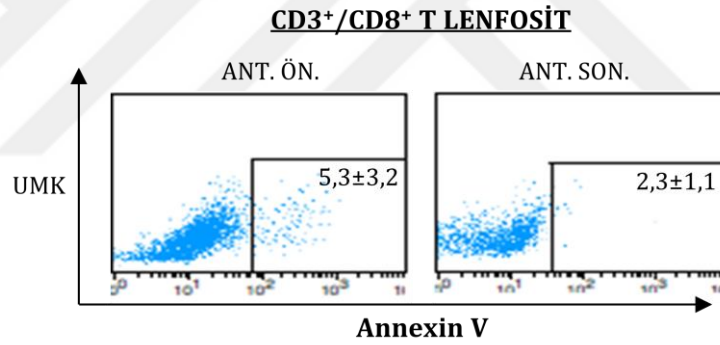


Şekil 33: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası $CD3^+/CD4^+T$ hücrede akım sitometri sonuçları.

$CD3^+/CD4^+T$ hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama $\pm$ std. sapma değeri $5,28\pm2,91$, min-max değerleri 0,87-8,62, antrenman sonrası ortalama $\pm$ std. sapma değerleri $3,27\pm1,43$ min-max değerleri 1,17-5,24 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,889$) ($p>0,05$) (Tablo 8, Şekil 32-33).



Şekil 34: Uzun mesafe koşucularında lenfosit apoptozunda $CD3^+/CD8^+T$ hücrede istatistiksel analiz grafiği.

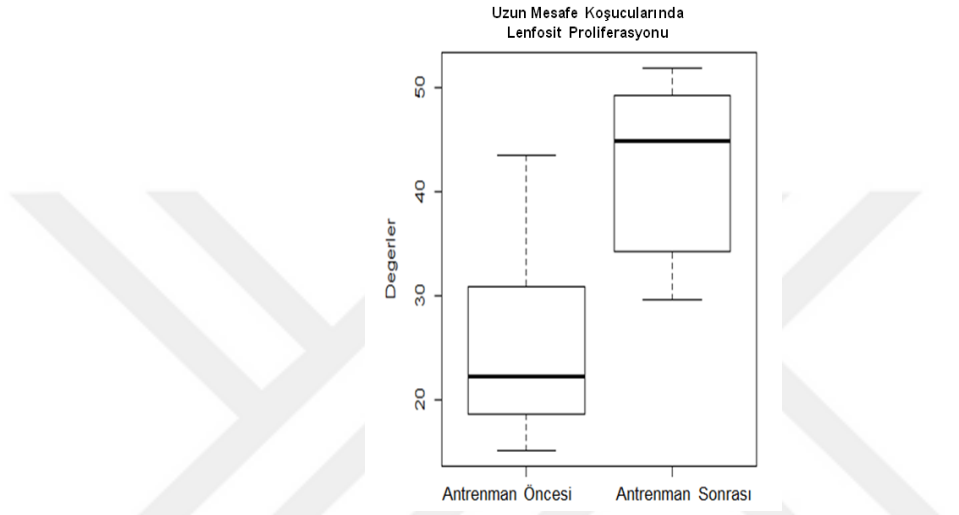


Şekil 35: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası $CD3^+/CD8^+T$ hücrede akım sitometri sonuçları.

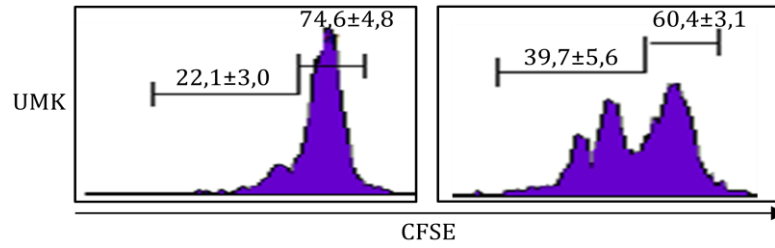
$CD3^+/CD8^+T$ hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama $\pm$ std. sapma değeri $5,33\pm3,17$, min-max değerleri 0,87-9,1, antrenman sonrası ortalama $\pm$ std. sapma değerleri $2,34\pm1,14$, min-max değerleri 0,93-3,72 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,036$) ($p<0,05$) (Tablo 8, Şekil 33-34).

Tablo 9: Uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerlerinin lenfosit proliferasyonu yönünden istatistiksel analizi.

Parametre	N	Ortalama±Std. Sapma	Min-Max	P
Proliferasyon Ant.Ön.	8	25,19±9,53	15,10-43,50	,012
Proliferasyon Ant.Son.	8	42,20±8,68	29,53-51,84	



Şekil 36: Uzun mesafe koşucularında lenfosit proliferasyonu istatistiksel analiz grafiği.

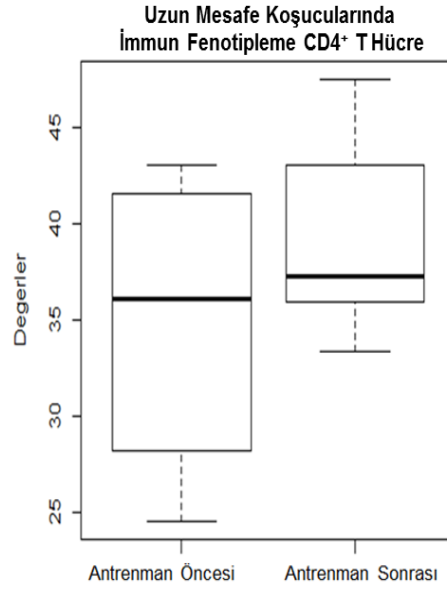


Şekil 37: Uzun mesafe koşucularında lenfosit proliferasyonunda akım sitometri sonuçları.

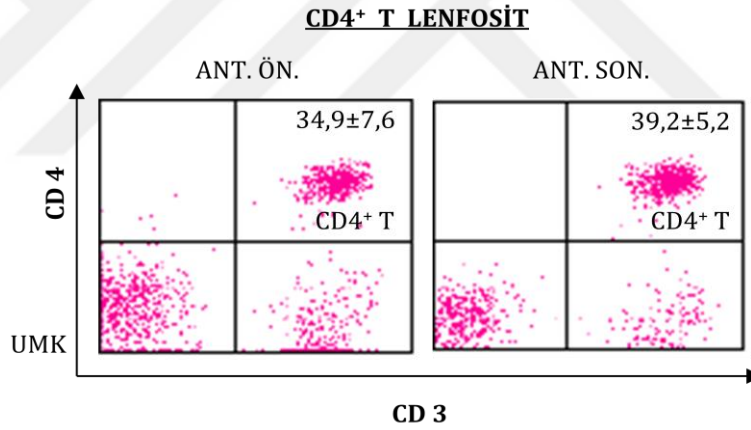
Uzun mesafe koşucusu 8 atletin antrenman öncesi ve sonrası değerleri lenfosit proliferasyonu yönünden incelendiğinde, antrenman öncesi ortalama±std. sapma değerleri 25,19±9,53 min-max değerleri 15,10-43,50, antrenman sonrası ortalama±std. sapma değerleri 42,20±8,68 min-max değerleri 29,53-51,84 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,012$) ($p<0,05$) (Tablo 9, Şekil 36-37).

Tablo 10: Uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerlerinin immun fenotipleme yönünden istatistiksel analizi.

Parametre	N	Ortalama±Std. Sapma	Min-Max	p
CD4 ⁺ T Hücre Ant.Ön.	8	34,92±7,59	24,51-43,06	,123
CD4 ⁺ T Hücre Ant.Son	8	39,20±5,18	33,32-47,55	
CD8 ⁺ T Hücre Ant.Ön.	8	30,77±7,05	20,54-40,92	,017
CD8 ⁺ T Hücre Ant.Son	8	26,35±6,47	15,33-35,61	
B HücreAnt.Ön.	8	9,40±4,50	3,25-13,81	,012
B Hücre Ant.Son.	8	11,63±5,61	4,07-18,29	
NK Hücre Ant.Ön.	8	15,17±6,74	8,35-26,34	,012
NK Hücre Ant. Son.	8	11,85±6,71	4,62-21,20	
NKT Hücre Ant.Ön.	8	5,94±4,76	1,87-13,22	,327
NKT Hücre Ant.Son.	8	4,88±3,14	1,10-9,96	

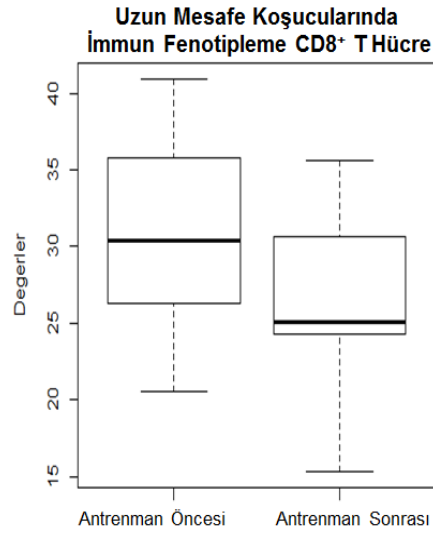


Şekil 38: Uzun mesafe koşucularında immün fenotiplemede CD4⁺T hücrede istatistiksel analiz grafiği.

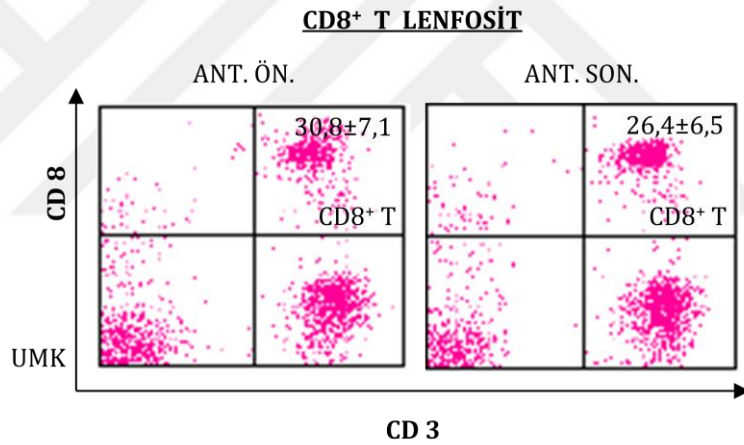


Şekil 39: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD4⁺T hücrede akım sitometri sonuçları.

Uzun mesafe koşucusu 8 atletin antrenman öncesi ve sonrası değerleri immün fenotipleme yönünden CD4⁺T hücrede istatistiksel olarak incelendiğinde, koşucuların antrenman öncesi ortalama±std. sapma değerleri 34,92±7,59 min-max değerleri 24,51-43,06, antrenman sonrası ortalama±std. sapma değerleri 39,20±5,18 min-max değerleri 33,32-47,55 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,123$) ($p>0,05$) (Tablo 10, Şekil 38-39)

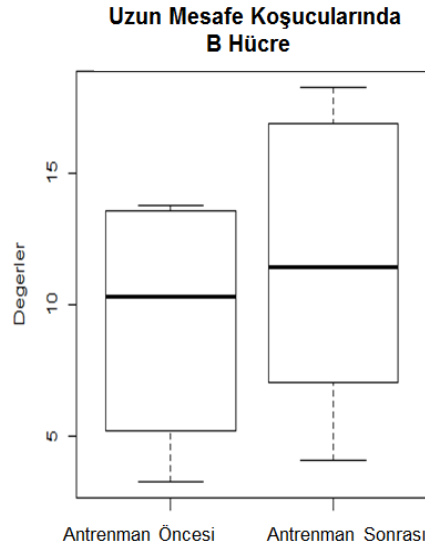


Şekil 40: Uzun mesafe koşucularında immün fenotiplemede CD8⁺T hücrede istatistiksel analiz grafiği.

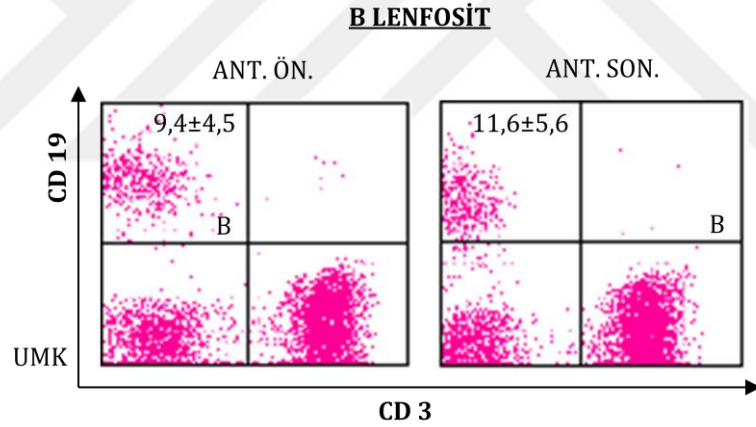


Şekil 41: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası CD8⁺T hücrede akım sitometri sonuçları.

CD8⁺ T hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama±std. sapma değeri 30,77±7,05, min-max değerleri 20,54-40,92, antrenman sonrası ortalama±std. sapma değerleri 26,35±6,47 min-max değerleri 15,33-35,61 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**p=0,017**) (**p<0,05**) (Tablo 10, Şekil 40-41)

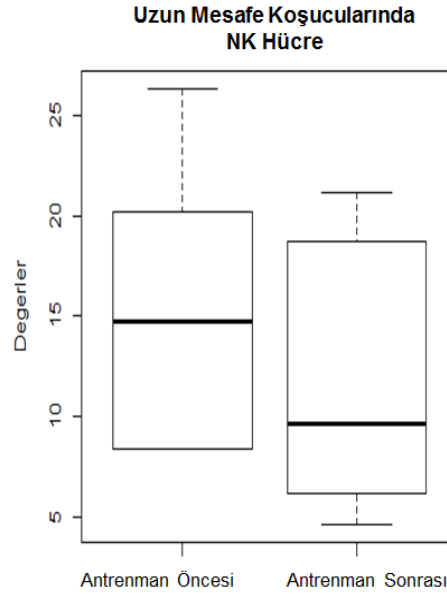


Şekil 42: Uzun mesafe koşucularında immün fenotiplemede B hücrede istatistiksel analiz grafiği.

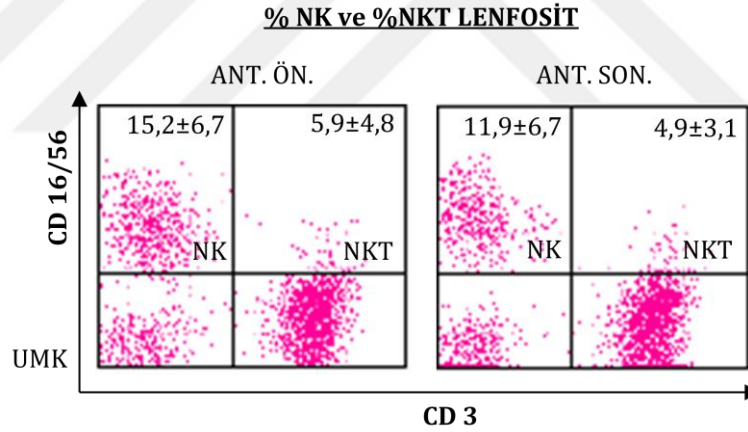


Şekil 43: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası B hücrede akım sitometri sonuçları.

B hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama±std. sapma değeri $9,40 \pm 4,50$, min-max değerleri 3,25-13,81, antrenman sonrası ortalama±std. sapma değerleri $11,63 \pm 5,61$, min-max değerleri 4,07-18,29 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,012$) ($p<0,05$) (Tablo 10, Şekil 42-43).

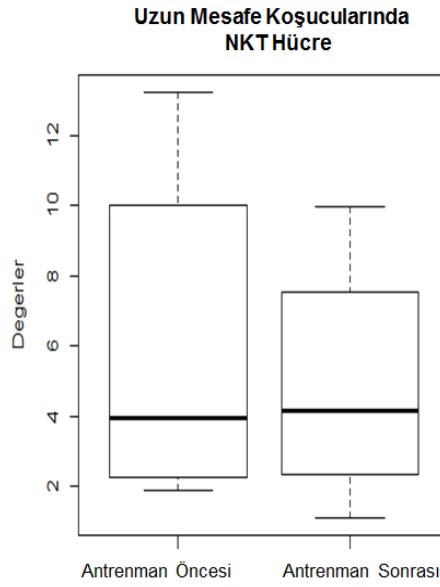


Şekil 44: Uzun mesafe koşucularında immün fenotiplemede NK hücrede istatistiksel analiz grafiği.

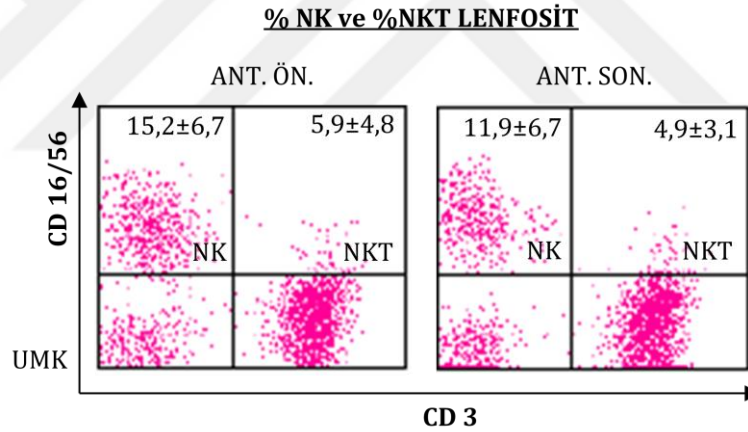


Şekil 45: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası NK hücrede akım sitometri sonuçları.

NK hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama±std. sapma değeri $15,17 \pm 6,74$, min-max değerleri 8,35-26,34, antrenman sonrası ortalama±std. sapma değerleri $11,85 \pm 6,71$ min-max değerleri 4,62-21,20 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,012$) ($p<0,05$) (Tablo 10, Şekil 44-45).



Şekil 46: Uzun mesafe koşucularında immün fenotiplemede NKT hücrede istatistiksel analiz grafiği.



Şekil 47: Uzun mesafe koşucularında antrenman öncesi ve sonrası NKT hücrede akım sitometri sonuçları.

NKT hücre’de antrenman öncesi koşucuların ortalama±std. sapma değeri 5,94±4,76, min-max değerleri 1,87-13,22, antrenman sonrası ortalama±std. sapma değerleri 4,88±3,14, min-max değerleri 1,10-9,96 olarak bulunmuş olup, antrenman öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=1$) ($p>0,05$) (Tablo 10, Şekil 47-48).

Tablo 11: Kısa ve uzun mesafe koşucularının, antrenman öncesi ve sonrası değerleri sonuçlarının karşılaştırılmasının lenfosit apoptozu yönünden istatistiksel analizi.

Parametre	Grup	N	Ortalama±Std. Sapma	Min-Max	P
Lenfosit	K	8	1,48±6,65	-10,73 - 9,23	,208
	U	8	-2,88±6,38	-16,93 - 4,57	
CD3 ⁺ /CD4 ⁺ T Hücre Ant.Ön.	K	8	-0,12±4,49	-8,77 - 5,15	,248
	U	8	-2,02±2,61	-6,94 - 0,97	
CD3 ⁺ /CD8 ⁺ T Hücre Ant.Son.	K	8	-0,08±4,30	-8,44 - 4,95	,115
	U	8	-2,98±2,89	-7,61 - 0,08	

8 kısa ve 8 uzun mesafe koşucusunun, antrenman öncesi ve sonrası değerler sonucunun, bir birleriyle lenfosit apoptozu yönünden ve genel lenfositte istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı ortalama±std. sapma değerleri 1,48±6,65 min-max değerleri -10,73 - 9,23, uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı -2,88±6,38 min-max değerleri -16,93 - 4,57 olarak bulunmuş olup, kısa ve uzun mesafe koşucularının değerleri bir biriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,208) (p>0,05) (Tablo 11).

CD3⁺/CD4⁺T hücre’de istatistiksel olarak incelendiğinde, kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı ortalama±std. sapma değerleri -0,12±4,49, min-max değerleri -8,77 - 5,15, uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı -2,02±2,61 min-max değerleri -6,94 - 0,97 olarak bulunmuş olup, kısa ve uzun mesafe koşucularının değerleri bir biriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,248) (p>0,05) (Tablo 11).

CD3⁺/CD8⁺T hücre’de istatistiksel olarak incelendiğinde, kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı ortalama±std. sapma değerleri -0,08±4,30, min-max değerleri -8,44 - 4,95, uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı -2,98±2,89 min-max değerleri -7,61 - 0,08 olarak bulunmuş olup, kısa ve uzun mesafe koşucularının değerleri bir biriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,115) (p>0,05) (Tablo 11).

Tablo 12: Kısa ve uzun mesafe koşucularının, antrenman öncesi ve sonrası değerleri sonuçlarının karşılaştırılmasının lenfosit proliferasyonu yönünden istatistiksel analizi.

Parametre	Grup	N	Ortalama±Std. Sapma	Min-Max	P
Lenfosit Proliferasyonu	K	8	-21,72±15,17	-40,15- -0,44	,001
	U	8	17,02±10,76	7,93 - 36,74	

8 kısa ve 8 uzun mesafe koşucusunun, antrenman öncesi ve sonrası değerler sonucunun kısa ve uzun mesafe koşucularında lenfosit proliferasyonu yönünden istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı ortalama±std. sapma değerleri -21,72±15,17min-max değerleri -40,15- -0,44, uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı 17,02±10,76, min-max değerleri 7,93 - 36,74 olarak bulunmuş olup, kısa ve uzun mesafe koşucularının değerleri sonuçları bir biriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı fark bulunmuştur (p=0,001) (p<0,05) (Tablo 12).

Tablo 13: Kısa ve uzun mesafe koşucularının, antrenman öncesi ve sonrası değerleri sonuçlarının karşılaştırılmasının immün fenotipleme yönünden istatistiksel analizi.

Parametre	Grup	N	Ortalama±Std. Sapma	Min-Max	P
CD4 ⁺ T Hücre	K	8	3,58±5,35	-5,25-10,04	,834
	U	8	4,28±6,25	-8,18-12,07	
CD8 ⁺ T Hücre	K	8	-3,99±4,04	-10,87-2,72	,4
	U	8	-4,42±2,09	-5,57-0,61	
B Hücre	K	8	0,16±5,84	-13,66-4,64	,599
	U	8	2,23±1,61	0,31-4,48	
NK Hücre	K	8	-7,85±6,67	-20,23--1,08	,206
	U	8	-3,31±1,87	-5,63--0,63	
NKT Hücre	K	8	2,02±8,29	-4,08-21,41	,674
	U	8	-1,06±2,31	-5,61-1,26	

8 kısa ve 8 uzun mesafe koşucusunun, antrenman öncesi ve sonrası değerler sonucunun kısa ve uzun mesafe koşucularının bir birleriyle immün fenotipleme yönünden ve CD4⁺ T hücrede istatistiksel olarak incelendiğinde, kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı ortalama±std. sapma değerleri 3,58±5,35 min-max değerleri -5,25-10,04, uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı 4,28±6,25 min-max değerleri -8,18-12,07 olarak bulunmuş olup, kısa ve uzun mesafe koşucularının değerleri bir biriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,834) (p>0,05) (Tablo 13).

CD8⁺ T hücre’de istatistiksel olarak incelendiğinde, kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı ortalama±std. sapma değerleri -3,99±4,04, min-max değerleri -10,87-2,72, uzun mesafe koşucularının antrenman

öncesi ve sonrası değerleri farkı $-4,42 \pm 2,09$ min-max değerleri $-5,57-0,61$ olarak bulunmuş olup, kısa ve uzun mesafe koşucularının değerleri bir biriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,4$) ($p>0,05$) (Tablo 13).

B hücre’de istatistiksel olarak incelendiğinde, kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı ortalama $\pm$ std. sapma değerleri $0,16 \pm 5,84$, min-max değerleri $-13,66-4,64$, uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı $2,23 \pm 1,61$ min-max değerleri $0,31-4,48$ olarak bulunmuş olup, kısa ve uzun mesafe koşucularının değerleri bir biriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,599$) ($p>0,05$) (Tablo 13).

NK hücre’de istatistiksel olarak incelendiğinde, kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı ortalama $\pm$ std. sapma değerleri $-7,85 \pm 6,67$, min-max değerleri $-20,23--1,08$, uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı $-3,31 \pm 1,87$ min-max değerleri $-5,63- -0,63$ olarak bulunmuş olup, kısa ve uzun mesafe koşucularının değerleri bir biriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,115$) ($p>0,05$) (Tablo 13) .

NKT hücre’de istatistiksel olarak incelendiğinde, kısa mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı ortalama $\pm$ std. sapma değerleri $2,02 \pm 8,29$, min-max değerleri $-4,08-21,41$, uzun mesafe koşucularının antrenman öncesi ve sonrası değerleri farkı $-1,06 \pm 2,31$ min-max değerleri $-5,61-1,26$ olarak bulunmuş olup, kısa ve uzun mesafe koşucularının değerleri bir biriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,115$) ($p>0,05$) (Tablo 13).

10. TARTIŞMA VE SONUÇ

Egzersizizn vücudta oluşturduğı fizyolojik stres etkilerinin o an ve ileri yaşlarda sporcuların yaşam kalitesine, sağlığına, olumlu olumsuz etkileri, bu etkilerin sporcunun yaşam konforuna hangi yönde yansıdığını araştırmak amacıyla kısa mesafe ve uzun mesafe koşucularında lenfosit apoptozunu ve lenfosit çoğalmasını (lenfosit proliferasyonunu) antrenmandan 25 dk. önce ve antrenmandan sonra 45-60 dk arasında aldığımız kan örneklerini izolasyonundan sonra, lenfosit apoptoz ve lenfosit proliferasyonu belirteçlerini akış sitometresi ile ölçtüğümüz çalışmamızda istatistiksel analizleri yapılmıştır. Bu çerçevede daha önce yapılmış benzer çalışmalar göz önüne alınarak aşağıda gösterilen sonuçlara ulaşılmıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular uzun ve kısa mesafe koşucusu atletlerde **immun fenotipleme** yönünden incelendiğinde antrenman öncesi ve sonrası NK ve CD8⁺T Hücre yönünden iki grupta da hücre miktarında azalma gözlemlenmekte, uzun mesafe koşucularında da B hücre miktarında dolaşım sisteminde artma gözlemlenmektedir. Kısa ve uzun mesafe koşucularındaki NK ve CD8⁺T Hücre miktarında antrenman sonrası kanda azalmanın nedeninin kaslarda oluşan oksidatif stres etkisinden dolayı söz konusu hücrelerin kaslara lenfosit göçü gerçekleştirdiğini düşündürmektedir.

Krüger ve Mooren'in yaptığı çalışmada lenfopeninin, apoptozun yanısıra lenfosit göçü sonucu olduğu varsayılmaktadır. Bu nedenle, onların göreceli büyüklüğü çalışmalarda uygulanan farklı egzersiz protokollerine bağlı olabileceği öne sürülmüştür (Krüger, K., ve Mooren, F. C., 2014)

Ascensao A. (2008), tarafından futbol maçının oksidatif stres ve kas hasarı üzerindeki etkisi üzerine yapılan araştırmada, futbol maçından 30 dakika önce ve maçtan sonra 24, 48 ve 72. saatlerde 16 futbol oyuncusunda kan örnekleri, bacak kas gücü, sprint yeteneği ve gecikmiş başlangıç kas ağrısı (DOMS) verileri elde edilmiş, plazma kreatin kinaz (MK), miyogloblin (Mb), malondialdehit (MDA), sülfhidril (-SH) grupları, total antioksidan statüsü (TAS), ürik asit (UA) ve kan lökosit sayıları belirlenmiştir. Maçtan sonra futbol maçı plazma Mb'yi 30 dakika ve CK düzeylerini 72 saatlik iyileşme süresi boyunca yükseltti. MDA iyileşme süresi boyunca artmış ve -SH, maçtan 48 saat sonraya kadar azalmıştır. TAS 30 dakikada artmış ve UA 72 saatlik iyileşme boyunca artmıştır. Kan nötrofilleri 30 dakikada artarken, lenfositler

azaldığı ve 24 saat ile 72 saat arasında bazale geri döndüğü gözlemlenmiş, futbol maçının 72 saatlik iyileşme süresi boyunca oksidatif stres ve kas hasarının seviyelerini arttırdığını düşündürmektedir.

Krüger ve Mooren., (2014) tarafından yapılan başka bir çalışmada, egzersizin, kandaki lenfosit sayı ve işlevleri üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğu belirtilmiş, dolaşımdaki lenfosit sayılarının egzersiz sırasında belirgin olarak artarken, onu egzersiz sonrası lenfopeni izlediği açıklanmıştır.

B hücrelerin uzun mesafe koşucularında antrenman sonrası kanda artmasının, dolaşımda 40 dk. ve üzeri sürdürülen steady-state aktivite süresince kemiklerde üretilen B hücrenin dolaşım sistemine yöneldiğini göstermektedir. Çalışmamızda iki grup **lenfosit proliferasyonu** yönünden değerlendirildiğinde, tüm kısa mesafe koşucularında antrenmandan önceki lenfosit canlılığının antrenman sonrası azaldığı, tüm uzun mesafe koşucularında ise lenfosit canlılığının antrenmandan sonra arttığı gözlemlenmiştir. Bu önemli bulgu kısa mesafe koşucularında anaerobik aktivite sırasında dokuda oluşan asidoz ile elektrolit değişimlerinin hücre aktivitesinin yavaşlamasına, uzun mesafe koşucularında ise dolaşım ve dokuda oksijen sunum ve kullanımının artmasıyla hücre enerji dönüşümünün homeostazın bozulmadan gerçekleştiğini düşündürmektedir. Kısa mesafe koşucularında lenfosit sayısının antrenmandan sonra düşmesi ve uzun mesafe koşucularında da lenfosit değerlerinin antrenmandan sonra yükselmesi antrenmanın şekline ve yöntemine göre değişkenlik gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Bilindiği gibi iskelet kası vücudun en büyük organlarından biridir ve büyük kas liflerinin kümelerinden oluşur. Kasın kasılma gücü miyozin filamentleri ve aktin filamentlerinin etkileşimi ile oluşur. Kasın kontraktil birime aktin filamentlerinin sonu ile içiçe geçmiş olan miyozin filamentlerini içeren sarkomer adı verilir. Esas olarak, kas kasılmasında miyozin ve aktin filamentlerinin boyunda değişiklik olmaz. Kalsiyum kasılmada en önemli elementtir ve kas kasılması sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımı ile uyarılır (Tüzün,S. ve Sargın,M., 2016).

Apoptozisin başlamasını tetikleyen hücre içi faktörler arasında sitokinler, hücredeki kalsiyum oranındaki yükseliş, tümör nekroz faktör, DNA’da meydana gelen harabiyete bağlı olarak, tümör süpressör gen olan p53’ün aktive olması, viral-bakteriyel enfeksiyonlar, glukokortikoidler ve onkojenlerin (cmec gibi) yer aldığı

bilinmektedir. Ayrıca hipertermi, radyasyon, sitotoksik antikanser ilaçları ve hipoksi gibi nekroz oluşturabilen etkenler hafif dozlarda apoptoza neden olabilmektedir. Apoptoz durumunda hücre ölümü çevreden bağımsız olarak hücrenin kendi içerisinde gelişse de bazı durumlarda apoptozis dolaylı olarak yanında bulun dokularda nekrozu başlatabilir ya da tam tersi olarak nekroz apoptozisin başlamasında tetikleyici olabilir. Apoptozis süreci; DNA hasarına genlerin cevabı, hücre zarı tarafından ölüm uyarılarının alınması (fas ligandı), hücre içerisine direk proteolitik enzim girişi (granzim) olmak üzere üç farklı biçimde gelişebilir (Akşit ve Bildik, 2008).

Apoptoz, yetkin bir bağışıklık sisteminde lenfositlerin gelişmesinde ve bakımında önemli bir rol oynamaktadır ve apoptozu tetikleyen birçok tetikleyici vardır. Bunlara oksidatif stres, sıcak stres, tümör nekroz faktörü, kortizol ve DNA hasarı dahildir. Apoptoz, lenfosit homeostazında aktive olmuş hücrelerin efektör fonksiyonlarına hizmet ettikten sonra apoptoz ile uzaklaştırıldığı aktivasyon yoluyla indüklenen hücre ölümü yoluyla da önemlidir (Mars ve ark., 1998)

Gruplar **lenfosit apoptozu** yönünden değerlendirildiğinde kısa mesafe koşucularında lenfosit apoptozu değerleri antrenman sonrası değişmezken, uzun mesafe koşucularında $CD3^+/CD8^+T$ hücre kümesinde apoptoz, hücre sayısının egzersiz öncesine göre düşmesi, maraton koşucularında yapılan benzer testte yarış sonrası oluşan lenfosit apoptozu düşmesi sonucu ile benzeşmektedir.

Mooren ve ark., (2004) 2002 Muster maratonunu başarıyla tamamlayan maraton koşucularında yarıştan önce, 0, 3 ve 24 saat önce venöz kan örnekleri alınmış. Hücre izolasyonundan sonra, hücre temelli apoptoz belirteçleri olan anneksin V, fas reseptörü ve fas ligandı akış sitometresi ile ölçülmüştür. Aynı parametreler, hem kapsamlı bir egzersiz, hem de düşük yoğunluklu koşu bandı testinden önce, 0 ve 1 saat sonra 10 denekten oluşan bir grupta araştırılmıştır. Sonuç olarak maratondan sonraki apoptotik hücrelerin yüzdesinin iki fazlı bir şekilde değiştiği, koşudan 3 saat sonra erken bir artış, 1 gün sonra belirgin bir azalma izlenmiştir. İlginç bir şekilde, yüksek eğitimli atletlerde apoptotik hücrelerde artış gözlenmemesine karşın, kötü eğitilmiş atletlerde belirgin bir şekilde belirginleştiği gözlemlenmiştir. Hem fas reseptörü hem de ligand, farklı kinetiklerle birlikte maraton sonrasında yükseldiği, fas reseptörünün 1 saatte tepe noktasına yükselirken, fas ligandı çalıştırıldıktan 3 saat

sonra arttığı gözlemlenmiştir. Koşu bandı testlerinden sonra fas reseptörü ekspresyonu her iki grupta da gelişirken, fas ligandı sadece yüksek yoğunluklu eksersizden sonra artmıştır. Maraton gibi dayanıklılık egzersizi lenfositlerde apoptozu indükleyebilmektedir. Böylece, apoptoz duyarlılığı antrenman durumu ile ters ilişki içindedir. Ölüm reseptörlerinin ve ligandlarının artmış ekspresyon seviyeleri, bu tür egzersizin yüksek apoptozu indüklemeye potansiyelini gösterebilir.

Wang ve Huang., (2005) tarafından yapılan çalışmada 18 yatılı erkek 40 dakika süreyle orta ve şiddetli eksersize (sırasıyla% 60 ve% 80 VO₂max) tabi tutulmuş, eksersiz yoğunluğunun lenfositte hücre içi redoks durumunu ve oksidatif stres kaynaklı apoptozu nasıl etkilediğini araştırılmıştır. Şiddetli egzersizden hemen ve ya 24 saat sonra, lenfosit GSH düzeyi ve MTP azaldığı; aktif kaspaz -8, -9 ve -3 içeriği ve DNA parçalanması arttığı ve (2) H₂O₂ ile uyarılan lenfosit PS'ye maruz kalma ve DNA fragmentasyonu arttığı gözlemlenmiştir. Aksine, lenfosit MTP, kaspaz aktivasyonu, PS maruziyeti ve DNA fragmentasyonu, ılımlı egzersizden hemen sonra değişmezken, GSH düzeyi yükselmiş, lipid peroksidasyonu azalmıştır. H₂O₂ ile indüklenen PS maruziyeti ve hücre hasarı, bu egzersizden 24 saat sonra azaldığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar ağır egzersizin lenfosit GSH içeriğini azalttığını ve daha sonra oksidatif stresin neden olduğu apoptozu arttırdığını düşündürmektedir. Bununla birlikte, ılımlı egzersiz, olasılıkla hücre içi anti-oksidatif kapasiteyi iyileştirerek oksidatif stres ile indüklenen lenfosit apoptozunu hafifletir.

Bir hücre birbirini takip eden 7 kırılmada kendini onarabilir ancak, apoptoziste yaklaşık olarak 300 000 kırılma gerçekleşir ve bu durumda hücre kendini onaramaz (Öktem ve ark., 2001). Bu açıklamadan yola çıkıldığında, yoğun egzersizin akabinde 24 saat dinlenme verilmeden yapılacak yüksek yoğunluktaki yeni bir egzersizin hücredeki dejenarasyonun onarılardan yeni kırılmalara hücreyi maruz bırakıp hücreyi apoptozu sürükleyebileceğini düşünmekteyiz. Bu çalışma ve örnek çalışmalardan yola çıkarak antrenmanlardan sonra yeterli dinlenme aralığının verilmesi, antrenmanlı olmayan koşucularda yüklenmenin aniden değil, sporcu istenilen antrenman yüküne hazır olduğu zaman yüklenmenin kademeli olarak gerçekleştirilmesi, sporcunun sağlığını, yaşam kalitesini o an ve ilerleyen yaşlarda koruması açısından gerekli olduğu kanısındayım.

11. KAYNAKLAR

Abbas A. K., Lichtman A.H. & Pillai S., *Temel İmmünoloji İmmün Sistemin İşlevleri ve Bozuklukları.* 2015; ISBN: 978-975-277-560-2

Abbas A. K & Lichtman A.H. *Temel İmmünoloji İmmün Sistemin Fonksiyonları ve Bozuklukları.* 2015

Akşit,H &Bildik, A. *Apoptosis*, YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi. 2008; 19 (Suppl 1): 55-63.

Altunkaynak, B. Z., & Özbek, E. *Programlanmış hücre ölümü; apoptoz nedir.* Tıp Araş Dergisi. 2008; 6 (Suppl 2), 93-104.

Artım-Esen B., İnanç M., *Sistemik Lupus Eritematozus Etyopatogenezinde Virüslerin Rolü*, İst Tıp Fak Derg 2005;68: 85-91

Ascensao A, Rebelo A, Oliveira E, Marques F, Pereira L, Magalhaes J.(2008). Biochemical impact of a soccer match – analysis of oxidative stress and muscle damage markers throughout recovery. Clin Biochem. 2008; 41: 8, 41–51.

Atamaniuk, J., Stuhlmeier, K. M., Vidotto, C., Tschan, H., Dossenbach-Glaninger, A., & Mueller, M. M. *Effects of ultra-marathon on circulating DNA and mRNA expression of pro-and anti-apoptotic genes in mononuclear cells.* European journal of applied physiology. 2008; 104(Suppl 4), 711-717.

Ayçeman N., M.Sc., *Wellness için Egzersiz ve Fiziksel Aktivite (Egzersiz Terapi)* Akdeniz Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu. Antalya/TÜRKİYE

Baltacı, G. & Düzgün,İ. *Adelosan ve Egzersiz.* Hacettepe Üniversitesi - Sağlık Bilimleri Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Bölümü. 2008;

Baştürk B. *Enflamasyonda Doğal Öldürücü (NK) Hücrelerin Etkisi.* Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, ANKEM Dergisi. 2010 s.184-188, ANKARA.

Camcıoğlu Y. *“Bağışıklık Sistemi ve Yetersizlikleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri.* Sempozyum Dizisi. 2013; No: 80

Deniz,G. NK ve NKT Hücreler. İmmünoloji ABD, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İSTANBUL, Türkiye Klinikleri J Int Med Sci 2007; 3(43):18-25

Gönderen H. S., Kapucu S., Nötropenik Hastada Nötropeniye Değerlendirme Kriterleri ve Hemşirelik Bakımı, Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Dergisi (2009) 69–75

Gülderen G. Y., Deniz G., Demiralp E. E. Lenfosit İmmünotiplemesi için Kılavuz Bilgiler İlk Çalışma Kopyası, Akan Türk İmmunoloji Derneği Akan Hücre Ölçer Alt Çalışma Grubu, Türk İmmunoloji Derneği Akan Hücre Ölçer Alt Grubu Kılavuz Bilgiler. 2010; 1.

Krüger, K., & Mooren, F. C. Exercise-induced leukocyte apoptosis. *Exerc Immunol Rev*, 2014; 20, 117-134.

Küçükaya R.D. Kanama ve Pıhtılaşma Bozuklukları, İç Hastalıkları Dergisi. 2010; 17: s33-43

Marfe G.,Tafari M., Bruna P., Stefano D.C., Indelicato M.,Andreoli A., Russo M.A., Sinibaldi-Salimei P., Ve Manzi V. Therc effect of marathon on mRNA expression of anti-apoptotic and pro-apoptotic proteins and sirtuins family in male recreational long-distance runners, Marfe et al. BMC Physiology 2010; 10:7

Mars M., Govender S., Weston A., Naicker V., ve Chuturgoon A. High Intensity Exercise: A Cause of Lymphocyte Apoptosis? Departments of Physiology and Haematology, University of Natal Medical School, South Africa Received. 1998;

Mooren, F.C., Lechtermann, A., ve Völker, K. Exercise-Induced Apoptosis of Lymphocytes Depends on Training Status, Institute of Sports Medicine, University Hospital Münster, Münster, Almanya, Med. Sci. Spor Exerc. 2004; Cilt. 36, No. 9, s. 1476-1483.

Öktem, S., Özhan, M. H., & Özol, D. Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, 2001 (Suppl 1), 91-95.

Park, K. S., & Lee, Y. Lymphocyte Apoptosis in Smokers and Non-Smokers Following Different Intensity of Exercises and Relation with Lactate. *International Journal of Exercise Science*. 2011; 4 (3).

Phaneuf, S., & Leeuwenburgh C., Apoptosis and exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 2001; 33 (3), 393-396.

Solakoğlu, Z. *Apoptoz varlığı ya da yokluğu bir hastalık nedeni. Klinik Gelişim.* 2009; 22 (3), 20-25.

Şekeroğlu Z.A., Şekeroğlu V. *Oksidatif Mitokondrial Hasar ve Yaşlanmadaki Önemi, Derleme Dergisi.* 2009; 2(Suppl 2): 69-74.

Tetik Ş., Ak K., Yardımcı K.T., *Trombosit fonksiyon testlerini etkileyen faktörler, Cumhuriyet Tıp Derg* 2012; 34: 123-127

Tüzün, S., Sargın M. *Egzersiz Biyokimyası, Physiother Rehabil-Special Topics* 2016; 2 (1):44-7

Wang, J.-S., Huang Y.-H. *Effects of exercise intensity on lymphocyte apoptosis induced by oxidative stress in men.* 2005; Eur J Appl Physiol 95: 290–297DOI 10.1007/s00421-005-0005-8

Yıldız S.A *Aerobik ve Anaerobik Kapasitenin Anlamı Nedir? İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği AD, İstanbul, Solunum Dergisi.* 2012; 1-3

12. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Hakan	Soyadı	ÖZEL
Doğum Yeri	Elmadağ	Doğum Tarihi	07.05.1978
Uyruğu	T.C	Tel	05458632494
E-mail	hakan.ozel@istanbul.edu.tr		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu	2013-(Devam ediyor)
Lisans	İstanbul Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu	2009
Lise	Elmadağ Sağlık Meslek Lisesi Sağlık Memurluğu Bölümü	1997

İş Deneyimi

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
	Antrenör	İstanbul Üniversitesi Edebiyat Fakültesi İstanbul Üniversitesi Spor Birliği Müd.	2001-2010 2010-(Devam ediyor)

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	X		

Yabancı Dil Sınav Notu#								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	60,18998	61,44027	66,76809
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi
Bilgisayar Programlama	İyi

13. EKLER

LABARATUVAR VERİLERİ :

Tablo 14: Lenfosit apoptozu labaratuvar verileri

Katılımcı	Lenfosit		CD3 ⁺ /CD4 ⁺ T Hücre		CD3 ⁺ /CD8 ⁺ T Hücre	
	Anrenman Öncesi	Antrenman Sonrası	Anrenman Öncesi	Antrenman Sonrası	Anrenman Öncesi	Antrenman Sonrası
Kısa Mesafeci (A)	2,49	5,11	3,89	5,16	3,89	5,11
Kısa Mesafeci (B)	6,88	3,84	5,85	2,59	5,78	2,54
Kısa Mesafeci (C)	2,74	1,54	2,74	1,12	2,67	1,65
Kısa Mesafeci (E)	1,82	2,14	2,17	1,78	2,17	1,78
Kısa Mesafeci (G)	4,73	12,99	4,8	8,69	4,66	8,45
Kısa Mesafeci (H)	2,98	9,34	2,59	5,37	2,53	5,04
Kısa Mesafeci (I)	12,27	1,54	10,28	1,51	9,93	1,49
Kısa Mesafeci (J)	2,03	11,26	2	7,15	1,84	6,79
Uzun Mesafeci (K)	9,35	6,8	8,11	5,24	7,9	3,72
Uzun Mesafeci (M)	6,31	7,44	2,43	2,43	2,76	1,64
Uzun Mesafeci (N)	13,78	8,56	6,03	3,18	6,58	2,13
Uzun Mesafeci (S)	11,4	8,57	5,69	4,64	4,6	3,63
Uzun Mesafeci (T)	7,27	6,79	2,82	3,79	2,17	2,25
Uzun Mesafeci (L)	21,28	4,35	7,7	4,02	9,1	3,43
Uzun Mesafeci (O)	1,12	5,69	0,87	1,17	0,87	0,93
Uzun Mesafeci (R)	10,15	9,45	8,62	1,68	8,62	1,01

Tablo 15: Lenfosit proliferasyonu labaratuvar verileri

Lenfosit Proliferasyonu		
Katılımcı	Anrenman Öncesi	Antrenman Sonrası
Kısa Mesafeci (A)	41,83	36,64
Kısa Mesafeci (B)	55,92	28,18
Kısa Mesafeci (C)	42,11	41,67
Kısa Mesafeci (E)	43,48	15,28
Kısa Mesafeci (G)	54,7	14,55
Kısa Mesafeci (H)	36,51	26,63
Kısa Mesafeci (I)	35,36	12,94
Kısa Mesafeci (J)	44,83	5,07
Uzun Mesafeci (K)	34,41	44,05
Uzun Mesafeci (M)	19,02	46,89
Uzun Mesafeci (N)	23,05	45,5
Uzun Mesafeci (S)	43,5	51,43
Uzun Mesafeci (T)	18,03	30,74
Uzun Mesafeci (L)	21,27	29,53
Uzun Mesafeci (O)	15,1	51,84
Uzun Mesafeci (R)	27,13	37,65

Tablo 16: İmmün fenotipleme laboratuvar verileri

Katılımcı	CD4 ⁺ T Hücre		CD8 ⁺ T Hücre		B Hücre		NK Hücre		NKT Hücre	
	ANT. ÖN	ANT.SON	ANT. ÖN	ANT.SON	ANT. ÖN	ANT.SON	ANT. ÖN	ANT.SON	ANT. ÖN	ANT.SON
Kısa Mesafeci (A)	29,17	23,92	28,72	17,85	22,42	8,76	5,79	4,07	0,17	2,77
Kısa Mesafeci (B)	36,13	42,18	22,16	20,38	10,61	11,51	20,36	9,1	6,7	2,62
Kısa Mesafeci (C)	24,58	33,44	25,32	20,33	9,43	9,47	33,55	26,68	6,78	3,55
Kısa Mesafeci (E)	38,61	38,97	30,52	27,26	7,51	8,06	14,93	11,14	19,63	41,04
Kısa Mesafeci (G)	33,51	32,53	35,8	38,52	9,12	10,61	7,39	6,31	5,24	8,81
Kısa Mesafeci (H)	33,64	40,93	26,18	21,81	7,9	10,87	30,41	10,18	3,26	1,4
Kısa Mesafeci (I)	32,8	42,84	25,05	23,04	7,87	12,51	25,39	11,84	5,56	3,42
Kısa Mesafeci (J)	39,87	42,16	24,19	16,83	7,51	11,83	19,92	15,64	0,55	0,4
Uzun Mesafeci (K)	43,06	34,88	30,34	24,77	13,81	18,29	8,41	4,62	6,79	7,41
Uzun Mesafeci (M)	24,51	33,32	39,66	34,91	6,93	9,73	14,24	9,73	13,22	9,96
Uzun Mesafeci (N)	25,06	37,13	40,92	35,61	3,46	4,3	18,78	17,63	4,08	4,67
Uzun Mesafeci (S)	42,7	47,55	20,54	15,33	13,38	15,56	15,17	9,54	1,87	1,1
Uzun Mesafeci (T)	31,32	37,49	29,41	25,28	3,25	4,07	26,34	21,2	3,82	2,76
Uzun Mesafeci (L)	39,49	46,47	30,34	24,77	13,81	18,29	8,41	4,62	2,34	3,6
Uzun Mesafeci (O)	32,67	37,03	23,15	23,76	12,03	12,34	21,63	19,77	2,17	1,92
Uzun Mesafeci (R)	40,53	39,69	31,82	26,38	8,54	10,49	8,35	7,72	13,22	7,61

KISA VE UZUN MESAFE KOŞUCULARININ EGZERSİZ ÖNCESİ VE SONRASI LENFOSİT APOPTOZUNUN ÇOĞALMASININ DEĞERLENDİRİLMESİ

GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU

Sayın katılımcı;

Apoptoz fizyolojik hücre ölümüdür. Genetik olarak kontrol edilen hücre intihar programının aktivasyonu ile yönetilir. Bu nedenle apoptoz programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanır. Apoptoz, yaşayan dokularda artık ihtiyaç duyulmayan ya da hasara uğramış olan hücrelerde en sık ortaya çıkan ölüm şeklidir.

Egzersiz tesirli lenfosit apoptozun ana efektörü egzersiz yoğunluğu olarak kabul edilir. Yoğun egzersiz dolaşan apoptotik lenfositlerin hem yüzdesini hem de toplam sayısını önemli ölçüde artırdığı tekrar tekrar ispat edilmiştir. Dayanıklılık egzersizi göz önüne alarak apoptozun artışı ultra-maratondan , maraton koşusundan, yoğun ayak değirmeni koşusundan, yoğun ergonometre bisikletinden ve triatlon dan sonra gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, orta yoğunluklu egzersiz çalışması lenfosit apoptozu hiç ve ya çok az etkilemiştir. Lenfosit apoptozun artışı VO_{2max} 'ın 40-60% eşliğini geçtikten sonra meydana geldiği daha sonra anlaşılmıştır .

Bu çalışmada aktif spor yaşamı sırasında yoğun antrenman dönemleri geçiren sporcularda, fizyolojik ve mental gelişimle beraber, egzersizin vücutta oluşturduğu fizyolojik stres etkilerinin o an ve ileriki yaşlarda sporcuların yaşam kalitesine, sağlığına, olumlu olumsuz etkileri, bu etkilerin sporcunun yaşam konforuna hangi yönde yansıdığı ve bu etkilerin değerlendirilip yeni antrenman tekniklerinin ve yöntemlerinin belirlenmesine katkı sağlamak çalışmamızın temel amacıdır.

Bu çalışmada sprinter ve uzun mesafe koşucularında egzersiz öncesi ve sonrası doğal hücre ölümü (lenfosit apoptozu) ve lenfosit proliferasyonu oranları karşılaştırılacak, anaerobik ve aerobik egzersizin lenfosit apoptozu ve lenfosit proliferasyonu üzerine etkileri araştırılacaktır.

Kandaki egzersiz öncesi ve sonrası lenfosit apoptozu ve lenfosit proliferasyonu değerleri, anaerobik egzersiz yapan sprinter ve aerobik egzersiz yapan uzun mesafe koşucuları arasındaki farklılıklar ile egzersizin şiddetinin lenfosit apoptozu ve lenfosit proliferasyonu değerleri üzerindeki etkisi araştırılacaktır.

Çalışma yaklaşık 12 ay sürecektir. İstanbul Üniversitesi ve Marmara Üniversitesi Atletizm Takımı sporcuları, çalışmaya dahil edilecek 15-25 yaş arasındaki sporculardan antrenman öncesi ve antrenman sonrası intravenöz yoldan 10 ar ml kan örneği alınarak kandaki lenfosit apoptozu ve lenfosit proliferasyonu değerleri üzerine çalışmalar yapılacaktır.

Üniversitemiz etik kurul onayı ile yapmakta olduğumuz bu araştırmaya katılma veya katılmama konusunda serbestsiniz. Bu araştırmada yapılacak incelemeler için sizden veya sağlık sigortası kurumunuzdan herhangi bir ücret istenmeyecektir. Araştırmacıya haber vermek kaydıyla istediğiniz anda çalışmadan çekilebilir ya da araştırmacı tarafından gerek görüldüğünde araştırmadan çıkartılabilirsiniz. Araştırmayı kabul etmemeniz durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkarılmanız veya çıkmanız halinde, manevi bir yaptırım olmayacaktır. Sizden alınacak biyolojik örnek (antrenman öncesi 10 ml, antrenman sonrası 10 ml kan örnekleri) yalnızca adı geçen çalışmada kullanılacaktır, kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır.

**KISA VE UZUN MESAFE KOŞUCULARININ EGZERSİZ ÖNCESİ VE
SONRASI LENFOSİT APOPTOZUNUN ÇOĞALMASININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu sportif ve klinik amaçlı araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Tarih:

Sporcunun Adı soyadı:

İmza:

Tarih:

Doktorun adı soyadı:

İmza:

Tanık adı, soyadı:

İmza:

Sayın Hakan ÖZEL tarafından Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, Çocuk İmmünoloji Laboratuvarı ile Pendik'te Atletizm sahasında tıbbi ve sportif amaçlı bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam araştırmacı ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi amacıyla araştırmacı tarafından araştırmadan çıkartılabileceğimi de biliyorum. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğimi biliyorum.

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte Hakan ÖZEL'i, 05458632494 'ten arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun antrenmanlarıma ve antrenörüm ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük

bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalamış bulunduğum bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.



**KISA VE UZUN MESAFE KOŞUCULARININ EGZERSİZ ÖNCESİ VE
SONRASI LENFOSİT APOPTOZUNUN ÇOĞALMASININ
DEĞERLENDİRİLMESİ
KATILIMCI TAKİP FORMU**

Tarih:

Tarih:

Katılımcı Adı soyadı:

Doktorun adı soyadı:

İmza:

İmza:

Velinin adı soyadı:

İmza:

Katılımcının Yaşı:

Cinsiyeti:

Bilinen kronik bir rahatsızlığı var mı:

Düzenli aldığı bir ilaç var mı:

TAAHÜTNAME

İlgili Makama,

“Kısa ve Uzun Mesafe Koşucularının Egzersiz Öncesi ve Sonrası Lenfosit Apoptozunun Çoğalmasının Değerlendirilmesi ” başlıklı çalışmaya katılan aşağıda imzası olan araştırmacılar olarak Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesinin son versiyonunu ve Sağlık Bakanlığı’nın yeni yayınlamış olduğu İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu / İyi Laboratuvar Uygulamaları Kılavuzu’nu okuduğumuzu, çalışmanın Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi, İKU/İLU kriterlerine uygun olarak yürütüleceğimizi, çalışmadan doğabilecek her türlü hukuki ve mali sorumluluğu üstlendiğimizi ve çalışmayla ilgili olarak çalışmaya katılan tüm birim ve elemanların bilgilendirildiğini beyan ve taahhüt ederiz.

Sorumlu Araştırmacı

Prof. Dr. Tunç AKKOÇ

İmza

Yardımcı Araştırmacılar

Hakan ÖZEL

İmza



Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	09.2016.159
	PROJE ADI	Kısa ve Uzun Mesafe Koşucularının Egzersiz Öncesi ve Sonrası Lenfosit Apoptozunun Çoğalmasının Değerlendirilmesi
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Prof. Dr. Tunç AKKOÇ

KARAR BİLGİLERİ	Tarih : 04 /03/ 2016						
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için Kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.						
ÜYELER							
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu / EK Üyeliği	Onaylanan Proje ile İlişkisi		Toplantıya katılım		İmza
Prof.Dr. Haner DİRESKENELİ	Romatoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/ Başkan	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Prof.Dr. Tülin ERGUN	Dermatoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Başkan Yrd.	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Prof.Dr. Handan KAYA	Patoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Prof.Dr. M.Bahadır GÜLLÜOĞLU	Genel Cerrahi	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Prof.Dr. Atilla KARAALP	Farmakoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Prof.Dr. Semra SARDAŞ	Eczacı	M.Ü Eczacılık Fak./Üye	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Prof.Dr. Başak DOĞAN	Diş Hekimi	M.Ü Diş Hekimliği Fak./Üye	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Doç.Dr. Elif KARAKOÇ AYDINER	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Doç.Dr. Beste Melek ATASOY	Radyasyon Onkolojisi	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Doç.Dr. Meltem KORAY	Diş Hekimi	İstanbul Üniv. Diş Hekimliği Fak./Üye	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Doç.Dr. Tolga GÜVEN	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Doç. Dr. Gürkan SERT	Hukukçu	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Yrd.Doç.Dr: Figen DEMİR	Halk Sağlığı	Acıbadem Üniv. Tıp Fak.	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Yrd.Doç.Dr. Pınar Mega TİBER	Biyofizik	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	
Av.Ümit ERDEM	Sağlık Mensubu olmayan kişi	Serbest	Var	Yok	☐ Evet	☒ Hayır	

ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 21.04.2016
TOPLANTI SAATİ : 14:00
TOPLANTI NO : 2016 / 08

KARAR NO: 2016/08-6

Enstitümüz Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı yüksek lisans öğrencisi Hakan ÖZEL'in tez konusunun aşağıda belirtildiği şekilde kabul edilmesine oy birliği ile karar verildi.

Tez Başlığı: “Kısa ve Uzun Mesafe Koşucularının Egzersiz Öncesi ve Sonrası Lenfosit Apoptozunun Çoğalmasının Değerlendirilmesi”

Ezgi KAYACAN TOK
Enstitü Sekreteri



Marmara Üniversitesi
Başlıhtyik Yerleşkesi Sağlık
Bilimleri Enstitüsü 34854
Maltepe / İSTANBUL

0 (216) 418 00 69 (Faks)
0 (216) 414 44 23

saglik.ogrenci@marmara.edu.tr
<http://saglik.marmara.edu.tr>

Ayrıntılı bilgi için:
Nermin MAKŞUTOĞLU