



**RESVERATROLÜN AĞIR EGZERSİZ YAPTIRILAN
SIÇANLARDA KALP VE ÇİZGİLİ KASLARDAKİ
ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Aylin ADIGÜZEL

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Halil DÜZÖVA

Yüksek Lisans Tezi – 2024

T. C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RESVERATROLÜN AĞIR EGZERSİZ YAPTIRILAN SIÇANLARDA KALP
VE ÇİZGİLİ KASLARDAKİ ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Aylin ADIGÜZEL

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Halil DÜZOVA

İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje No: TYL-2022-3096) ve
TÜBİTAK 2210-A Yurt İçi Genel Yüksek Lisans Burs Programı tarafından
desteklenmektedir.

MALATYA

2024

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLOLAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Egzersizin Tanımı	3
2.1.1. Egzersiz Çeşitleri	3
2.1.2. Egzersizin İnsan Sağlığı Üzerinde Genel Etkileri.....	3
2.2. Endoplazmik Retikulum.....	4
2.2.1. Endoplazmik Retikulum Tipleri.....	4
2.2.2. Şaperon Proteinler ile Endoplazmik Retikulum Arasında İlişki	5
2.2.3. Heat Shock Protein.....	5
2.3. Endoplazmik Retikulum Stresi	6
2.3.1. Glikoz Regüle Edici Protein 78.....	6
2.4. Endoplazmik Retikulum Stresinde Aktiflenen Sinyal Yolakları	7
2.4.1. Protein Kinaz RNA Benzeri ER Kinaz Sinyal Yolağı	7
2.4.2. Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4 Sinyal Yolağı.....	9
2.4.3. Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6 Sinyal Yolağı.....	9
2.4.4. İnoзитol Gerektiren Enzim 1 Sinyal Yolağı.....	10
2.4.5. X-box Bağlayıcı Protein 1	10
2.5. Resveratrol	10
2.5.1. Resveratrolün Metabolizması.....	11
2.5.2. Resveratrolün Fizyolojik Etkileri	12
2.5.3. Resveratrolün Endoplazmik Retikulum Stresi ile İlişkisi	12
2.5.4. Resveratrolün Egzersiz ile İlişkisi.....	13
2.6. Endoplazmik Retikulum Stresi ile Çizgili Kas İlişkisi.....	13
2.7. Endoplazmik Retikulum Stresi ile Kalp Kası İlişkisi.....	13
2.8. Endoplazmik Retikulum Stresi ile Egzersiz Arasında İlişki	14
3.1. Deney Hayvanları Temini ve Bakım Süreci	15
3.1.1. Deney Hayvanları Sayısının Belirlenmesinde Power Analizi.....	15
3.1.2. Deney Grupları.....	16
3.1.3. Deney İlerleme Aşamaları.....	16

3.1.4. Resveratrol Uygulamasý	17
3.2. Dokularýn Alýnmasý ve Analizleri	18
3.2.1. Deney Hayvanlarýnýn Vücut Ağırlýklarýnýn Ölülmesi	18
3.3. Western Blot Tekniğıyle XBP1, ATF4, GRP78 Proteinlerin Analizi.....	18
3.3.1. Dokularýn Protein Miktarýnýn Hesaplanmasý ve Homojenizasyonu.....	18
3.3.2. Western Blot Jelin Hazýrlanmasý.....	19
3.3.3. Kuyucuklara Yüklenecek Örneklein Hazýrlanmasý	19
3.3.4. Proteinlerin Elektroferez Yürütme İşlemi.....	20
3.3.5. Hazýrlanan Proteinlerin Jelden Membrana Aktarýlmasý ve Eklenecek Antikor Miktarýnýn Hesaplanmasý	20
3.3.6. Membranda Bulunan Proteinlerin Görüntülenmesi ve Yoğunluklarýnýn Hesaplanmasý ...	21
3.4. İstatistiksel Analiz.....	21
4. BULGULAR.....	22
4.1. Deney Hayvanlarýnýn Kilo Ölçüm Analizleri.....	22
4.2. Yem ve Su Tüketiminin İncelenmesi	22
4.3. Sol Ventrikül ATF4 Protein Düzeylerinin Karşılaştırýlmasý.....	23
4.4. Sol Ventrikül GRP78 Protein Düzeylerinin Karşılaştırýlmasý.....	24
4.5. Sol Ventrikül XBP1 Protein Düzeylerinin Karşılaştırýlmasý.....	25
4.6. Gastrocnemius Kasý ATF4 Protein Düzeylerinin Karşılaştırýlmasý	26
4.7. Gastrocnemius Kasý GRP78 Protein Düzeylerinin Karşılaştırýlmasý	27
4.8. Gastrocnemius Kasý XBP1 Protein Düzeylerinin Karşılaştırýlmasý	28
5. TARTIŞMA	29
5.1. Deneklerde Kilo Değışiminin, Yem ve Su Tüketimi Üzerine Etkisi	29
5.2. Gastrocnemius Kasýnda Egzersizin GRP78 Üzerine Etkisi	29
5.3. Sol Ventrikül Kasýnda Egzersizin GRP78 Üzerine Etkisi	30
5.4. Gastrocnemius Kasýnda Egzersizin ATF4 Üzerine Etkisi	30
5.5. Sol Ventrikül Kasýnda Egzersizin ATF4 Üzerine Etkisi.....	31
5.6. Gastrocnemius Kasýnda Egzersizin XBP1 Üzerine Etkisi	31
5.7. Sol Ventrikül Kasýnda Egzersizin XBP1 Üzerine Etkisi	32
5.8. Resveratrolün Egzersiz ve ER Stresi Üzerine Etkisi.....	32
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	36
KAYNAKÇA.....	37

ÖZET

Resveratrolün Ağır Egzersiz Yaptırılan Sıçanlarda Kalp ve Çizgili Kaslardaki Endoplazmik Retikulum Stresi Üzerine Etkisi

Amaç: Ağır egzersiz endoplazmik retikulum stresine neden olabilir. Bu tez çalışmasının amacı resveratrolün ağır egzersiz sonucu çizgili ve miyokart kasında oluşan hasar mekanizmalarından birisi olan ER stresi üzerindeki etkinliğini araştırmaktır.

Materyal ve metot: Sıçanlar, Kontrol (n=10), Şiddetli Yüzme Egzersizi (n=10) (H-Ex), Şiddetli Yüzme Egzersizi + Resveratrol (n=10) (H-Ex+RES) olacak şekilde üç gruba ayrıldı. H-Ex ve H-Ex+RES gruptaki sıçanlar, yüzme süreleri 2 haftada bir 10 dk artacak şekilde 10 hafta yüzdürüldü. H-Ex ve H-Ex+RES gruptaki sıçanlara ilk hafta vücut ağırlığının %5'i oranında yük bağlanarak ve 2 haftada bir %1 oranında artırılarak yüzdürüldü. H-Ex+RES grubuna çalışmanın son 4 haftasında resveratrol (10 mg/kg/gün) verildi. Western Blot metodu ile sol ventrikül ve gastrocnemius kasında ER stres belirteçlerinden GRP78, XBP1, ATF4 protein düzeyleri ölçüldü. Veriler uygun istatistiksel yöntemlerle değerlendirildi.

Bulgular: GRP78 ve ATF4 düzeylerinin H-Ex grubunda hem sol ventrikül kasında hem de gastrocnemius kasında arttı ($p<0.05$). H-Ex'de, XBP1 seviyesi sol ventrikülde azalırken gastrocnemiusta ise arttı ($p<0.05$). H-Ex+RES grubunda ise resveratrol her iki dokuda GRP78 ve ATF4 yükselmesini engellediğini ancak sol ventrikülde XBP1'in hem kontrol hem de H-Ex gruplarına göre daha düşük düzeyde olmasına neden oldu ($p<0.05$).

Sonuç: Yoğun egzersizin hem kalp hem de iskelet kasında ER stresini artırdığı görülürken resveratrolün ER stresinin azaltılması yönünde oldukça yararlı olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4, Endoplazmik Retikulum Stresi, Glikoz Regüle Edici Protein 78, Resveratrol, Yüzme egzersizi, X-box Bağlayıcı Protein 1

ABSTRACT

Effect of Resveratrol on Heart and Striated Muscles in Heavy

Exercised Rats Effect on Endoplasmic Reticulum Stress

Aim: Heavy exercise may cause endoplasmic reticulum stress. The aim of this thesis was to investigate the efficacy of resveratrol on ER stress, one of the mechanisms of damage in striated and myocardial muscle caused by heavy exercise.

Material and Method: Rats were divided into three groups as Control (n=10), High intensive Exercise (n=10) (H-Ex), High intensive Exercise + Resveratrol (n=10) (H-Ex+RES). Rats in the H-Ex and H-Ex+RES groups were made to swim for 10 weeks, with swimming times increasing by 10 min every 2 weeks. Rats in H-Ex and H-Ex+RES groups were loaded with 5% of their body weight in the first week and their swimming time was increased by 1% every 2 weeks. Resveratrol (10 mg/kg/day) was given to H-Ex+RES group in the last 4 weeks of the study. Protein levels of ER stress markers GRP78, XBP1, ATF4 were measured in left ventricle and gastrocnemius muscle by Western blotting. Data were analyzed by appropriate statistical methods.

Results: GRP78 and ATF4 levels increased in both left ventricular and gastrocnemius muscle in H-Ex group ($p<0.05$). In the H-Ex, XBP1 levels decreased in the left ventricle and increased in gastrocnemius muscle ($p<0.05$). In the H-Ex+RES group, resveratrol inhibited the elevation of GRP78 and ATF4 in both tissues but caused a lower level of XBP1 in the left ventricle compared to both control and H-Ex groups ($p<0.05$).

Conclusion: While intense exercise increased ER stress in both cardiac and skeletal muscle, resveratrol was found to be highly beneficial in reducing ER stress.

Key Words: Activating Transcription Factor 4, Endoplasmic Reticulum Stress, Glucose Regulating Protein 78, Resveratrol, Swimming exercise, X-box Binding Protein 1

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATF4	: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4
ATF6	: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6
ATP	: Adenozin Tri-Fosfat
Ca²⁺	: Kalsiyum
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
CHOP	: C/EBP Homolog Proteini
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
ECL	: Enhanced Chemi Luminescence / Gelişmiş kemilüminesans
eIF2α	: Ökaryotik Başlatma Faktörü-2 α
ER	: Endoplazmik Retikulum
ERAD	: Endoplazmik Retikulum İlişkili Yıkım
ERSE	: ER Stres Tepki Elemanı
GRP78	: Glikoz Regüle Edici Protein 78
H-Ex	: Şiddetli Yüzme Egzersizi Yapan Grup
H-Ex +RES	: Şiddetli Yüzme Egzersizi + Resveratrol Beslenme Grup
HIIT	: Yüksek Yoğunluklu İnterval Egzersiz
HSP	: Heat Shock Protein
IRE1	: İnoзитol Gerektiren Enzim 1
kDa	: kilodalton
kg	: Kilogram
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
Max	: Maksimum
mg	: miligram
Min	: Minimum
ml	: Mililitre
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
NO	: Nitrik Oksit
NRF2	: Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2
PERK	: Protein Kinaz RNA (PKR) Benzeri ER Kinaz

PPARγ	: Peroksizom Proliferatörüyle Aktifleştirilen Reseptör Gama
RER	: Granüler Endoplazmik Retikulum
RES	: Resveratrol
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SER	: Düz Endoplazmik Retikulum
SIRT1	: Sirtuin 1
SR	: Sarkoplazmik Retikulum
TBS-T	: Tris Buffered Saline
UPR	: Katlanmamış Protein Yanıtı
VitD	: Vitamin D
XBP1	: X-box Bağlayıcı Protein 1

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Endoplazmik retikulum yapısı.....	5
Şekil 2.2. Endoplazmik retikulum stresi ve UPR yanıtı.	7
Şekil 2.3. PERK sinyal yolağı	8
Şekil 2.4. ATF6 sinyal yolağı.....	9
Şekil 2.5. Resveratrolün cis ve trans formları.....	10
Şekil 2.6. Resveratrolün sindirimi ve metabolizması.....	11
Şekil 3. 1. Şiddetli yüzme egzersizi yapan gruplara H-Ex ve H-Ex+RES bağlanan yükler.....	16
Şekil 3.2. Hayvanlara yük ağırlıklarının bağlanması ve yüzdürülmesi.....	18
Şekil 3. 3. Yürütme öncesi jel hazırlığı	20
Şekil 4.1. Gruplar arası sol ventrikül ATF4 protein düzeylerinin karşılaştırılması	23
Şekil 4.2. Gruplar arası sol ventrikül GRP78 protein düzeylerinin karşılaştırılması	24
Şekil 4.3. Gruplar arası sol ventrikül XBP1 protein düzeylerinin karşılaştırılması	25
Şekil 4.4. Gruplar arası gastrocnemius kası ATF4 protein düzeylerinin karşılaştırılması.....	26
Şekil 4.5. Gruplar arası gastrocnemius kası GRP78 protein düzeylerinin karşılaştırılması.....	27
Şekil 4.6. Gruplar arası gastrocnemius kası XBP1 protein düzeylerinin karşılaştırılması.....	28

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Sıçanlara uygulanacak egzersiz ve resveratrol besleme protokolü.....	17
Tablo 4.1. Başlangıç ile bitiş haftaları arasında deney hayvanlarında kilo değişimleri	22
Tablo 4.2. Deney grupları arası yem ve su tüketim miktarları.....	22
Tablo 4.3. Sol ventrikül gruplar arası ATF4 , GRP78 ve XBP1 protein seviyeleri ölçümü	23
Tablo 4.4. Gastrocnemius kası gruplar arası ATF4 , GRP78 , XBP1 protein seviyeleri ölçümü	25



1. GİRİŞ

Egzersiz, fizyolojik ve psikolojik açıdan geniş yelpazede öneme sahip olan bir plan ve tekrar dahilinde yapılan fiziksel aktivitedir (1, 2). Uzun yıllar boyunca yapılan çalışmalar sonucunda egzersizin fizyolojik etkisi sıklığına, yoğunluğuna, yapıldığı yaş grubuna ve türüne göre çeşitlilik göstermektedir (3). Egzersizin olumlu etkilerinin yanı sıra olumsuz etkilerinin olabileceği de araştırılmaktadır. Bu konu tam olarak netliğe kavuşamamıştır. Egzersiz programının vücut tipine ve sağlık durumuna göre bireysel olarak hazırlanmaması, egzersize ısınmadan ve ani hareketler ile başlanması, şiddetli ve uzun süre yapılan egzersizin fizyolojik açıdan olumsuz etkileri araştırılmaktadır (4, 5). Egzersizin süresinin ve yoğunluğunun fazla olması endoplazmik retikulum (ER) stresini tetikler. Egzersizin ER stresini üzerindeki etkileri araştırılmaya devam etmektedir (6).

Endoplazmik retikulum proteinlerin sentezinde, proteinin kalitesinin kontrolünde, katlanmasında, taşınmasında ve işlenmesinde görev alan bir organeldir (7, 8). ER stresini endoplazmik retikulumun patofizyolojik durumlarda ve çeşitli hastalıklarda görevini yerine getirememesi sonucu ortaya çıkan bir stres durumudur (9). Kalsiyum dengesinin bozulması, oksidatif stres, protein sentezi ve katlanmasında yaşanan sorunlar, artan glikoz ve lipid metabolizması, hipoksi gibi ER stresini tetikleyen faktörler arasındadır (9). ER stresini ile başa çıkma yollarından biri olan Endoplazmik Retikulum İlişkili Yıkım (ERAD) devreye girerek protein kalitesini korur ve ER stresini engellemeye yardımcı olur (10). Hücrede protein homeostazisinde görevli olan ERAD mekanizmasının ER stresini engellemeye yetersiz kaldığı durumda katlanmamış protein yanıtı (UPR) mekanizması devreye girer. 3 ana sinyal yolak tarafından düzenlenen UPR'nin amacı hücrenin durumunu değerlendirmek, protein sentezi ve katlanmasını düzenlemek, oluşan ER stresine tepki oluşturmak ve homeostazisi sağlamaktır (11). ER stresinin seviyesi ve zamanına bağlı olarak stres düzeyi çok yüksek ise hücre homeostazisi sağlayamayabilir. Bu durum sonucunda hücre kontrolsüz bir şekilde ölmeyi engellemek için apoptozisi gerçekleştirir (12).

Resveratrol (RES); üzüm çekirdeği, böğürtlen gibi mor renkli meyvelerde, çilek, yer fıstığı ve bazı bitkisel kaynaklarda fazla miktarda bulunan polifenol grup bir bileşiktir (13).

RES, kalp damarların basıncının düzeltilmesinde, LDL oksidasyonunu engellemede, güçlü antioksidan etkiye sahip olmada, oksidatif stresini en aza indirmede, anti-kanserojenik etkiye sahip olmada, anjiogenezis etkisi sayesinde kapiller damar

gelişiminde görevi olan bir bileşiktir (14, 15). Resveratrolün egzersiz ve ER stresi arasındaki ilişki tam olarak netlik kazanmadığı için etkileri araştırılmaya devam edilmektedir. RES'in farklı yoğunlukta yapılan egzersiz tipleri üzerine mitokondriyal faaliyetleri ve aerobik kapasiteyi artırmada etkili olduğu bilinmektedir (16). ER stresi üzerinde etkisi ise koruyucu etkiye sahip olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (17).

Bu tez çalışmasının amacı ağır yüzme egzersizin ER stresi üzerine etkisini ve güçlü bir antioksidan madde olduğu bilinen resveratrolün ağır egzersiz sonucu çizgili ve miyokart kasında oluşan hasar mekanizmalarından birisi olan ER stresi üzerindeki etkinliğini araştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Egzersizin Tanımı

Egzersiz, düzen ve plan dahilinde vücudumuzun çizgili kaslarını kullanarak hem vücut kompozisyonumuzu hem de ruh sağlığımızı korumayı hedeflemek amacıyla gerçekleştirilen aktivitedir (2, 18). Düzenli yapılan egzersiz programının vücuda önemli faydaları vardır. Egzersizin etkilerini ortaya koymak için uzun seneler boyunca yapılan araştırmaların sonucunda fizyolojik ve psikolojik açıdan geniş yelpazede önemi vurgulanmıştır (19-22).

2.1.1. Egzersiz Çeşitleri

Egzersiz; dayanıklılık egzersizi, denge ve koordinasyon egzersizi, aerobik ve anaerobik egzersiz, kuvvet ve güç egzersizi, yüksek yoğunluklu interval egzersiz (HIIT), esneklik egzersizi olmak üzere çeşitli gruplara ayrılır (23-25). Dayanıklılık egzersizi düzenli tekrarlar yapılarak kas dayanıklılığı ve hacmini artırmayı hedefleyen egzersiz türüdür (26). Aerobik egzersiz, düzenli olarak oksijen varlığında yapılan ve vücutta büyük kas gruplarında daha çok etkili olan egzersizdir (27). Yüksek yoğunluklu interval egzersizi (HIIT) aerobik egzersizden ayıran fark HIIT’de kısa sürede yoğun, ağır egzersiz yapılması ve takibinde düşük yoğunlukta dinlenmedir (27, 28). Esneklik egzersizleri antrenman öncesinde yapılan hareket açıklığını artırmayı amaçlayan egzersizdir (29).

2.1.2. Egzersizin İnsan Sağlığı Üzerinde Genel Etkileri

Dünya Sağlık Örgütü, uzun yıllar boyunca yaptığı çalışmalar sonucunda egzersizin yapıldığı yaş grubuna, sıklığına, yoğunluğuna gibi belirli kriterler ile kapsamlı çalışmalar yapmıştır (3, 30).

Egzersiz fizyolojik etkilerinin yanı sıra bazı hastalıkların tedavisinde de önerilmektedir (20). Akciğer hastalıklarında, Tip2 diyabette, kardiyovasküler hastalıklar, ve kanser tipleri gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca ruhsal sağlık ve bilinçsel bozukluklarda semptomların azaltılmasında, kansere yakalanma riskini azaltmada, hipertansiyonda ve çağımızın en önemli hastalıklarından biri olan obezitede önemli yere sahiptir (31-34). Fizyolojik açıdan yapılan antrenman kemik yoğunluğunu artırmada, vücut kompozisyonunu düzenlemede, bağışıklık sistemini güçlendirmede, kas yoğunluğunu ve onarımını artırmada olumlu etkileri bulunmaktadır. Egzersiz vücut metabolizmasını dengede tutmaya çalışır (35-37).

Egzersizin olumlu etkilerinin yanı sıra olumsuz etkilerinin olabileceği de araştırılmaktadır (38). Egzersize ısınmadan aşırı bir şekilde başlama, ani hareketlerde

bulunma, egzersizde yaş, vücut kompozisyonuna ve sağlık durumuna bakılmadan yapılması olumsuz sonuçların ortaya çıkmasına neden olur (4, 39).

Aşırı egzersiz yapılması zayıf insanlarda kemik yoğunluğunu olumsuz yönde etkileyerek osteoporoz riskini artırır. Aniden harekete başlama kalp krizine, kas tendon yaralanmalarına, halsizliğe, sıvı elektrolit kaybına, sporcularda hormonal sistemi etkileyerek metabolik dengeyi bozabilir (40, 41).

Aşırı yoğunlukta yapılan egzersiz, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde önemli yere sahip sitokinlerin düzensiz bir şekilde salınmasına ve inflamasyona neden olabilir (39, 40).

2.2. Endoplazmik Retikulum

Endoplazmik retikulum (ER), vücutta çeşitli görevleri olan bir organeldir (7). Lipit ve glikojen metabolizmasında, toksik maddelerin detoksifikasyonu ve Ca^{+2} depolama, proteinlerin sentezinde, proteinin kalitesinin kontrolünde, katlanmasında, taşınmasında ve işlenmesinde görev alır (8).

ER hücresel bölünme, büyüme ve gelişmede rol oynar. Hücre içi çeşitli yapılarla etkileşim halinde olduğu için hücre içi sinyalleşme yöntemiyle tepkilere koordineli olarak cevap verip yürütür (42, 43).

2.2.1. Endoplazmik Retikulum Tipleri

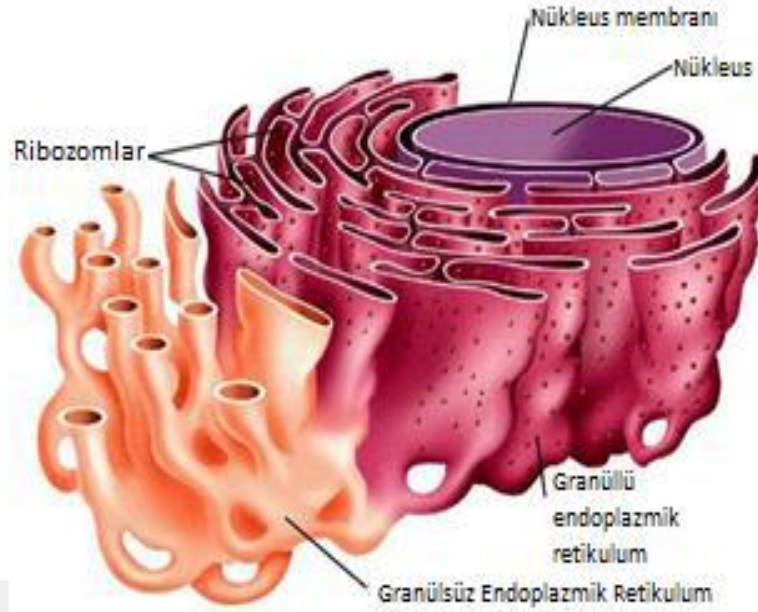
(ER) iki tipten oluşmaktadır: Düz endoplazmik retikulum (SER) ve granüler endoplazmik retikulum (RER).

1. Düz Endoplazmik Retikulum (SER)

Yapısında ribozom olmayan ER tipidir. Kalsiyum depolamada, yağ asit ve glikojen metabolizmasında ve detoksifikasyonda görevlidir (44).

2. Granüler Endoplazmik Retikulum (RER)

Yapısında ribozom bulunan ER tipidir. Üzerinde bulunan ribozomlar ile protein sentezinde rol oynar, proteinlerin işlenmesi, katlanması ve yapısında bulunan taşıyıcı veziküller sayesinde hedeflenen bölgeye taşınmada görevlidir (45-47).



Şekil 2.1. Endoplazmik retikulum yapısı (48).

2.2.2. Şaperon Proteinler ile Endoplazmik Retikulum Arasında İlişki

Şaperon proteinler; başka protein yapılarının katlanmasında ve taşınmasında, diğer proteinlerin DNA ve RNA ile kompleks yapı oluşturmada görevli olan moleküllerdir (49). Moleküler şaperonlar ve şaperoninler olmak üzere 2 grupta incelenir. Moleküler şaperonlar HSP70, HSP90 gibi gruplara ayrılırken şaperoninler GroEL ve GroES gibi gruplara ayrılır (50, 51).

Şaperon proteinler hücrede yeni sentezlenen proteinlerin doğru diziliminde, katlanmasında ve taşınmasında görevlidir (50, 52, 53).

Hücrel stresin düzenlenmesinde rol oynarlar (53). Ek olarak şaperon proteinler hücrel dengeyi sürekli olarak kontrol eder (54, 55).

Protein düzeninde bu kadar öneme sahip olan şaperon proteinler granüler endoplazmik retikulum (RER) üzerinde üretilen bir proteinin hatalı katlanmasını, yanlış dizilmesini engeller. Endoplazmik retikulum yapısında bulunan taşıyıcı veziküllerin hedeflenen yere doğru ulaşmasını sağlarlar (56-58).

2.2.3. Heat Shock Protein

Heat Shock Protein (HSP) kendi içinde çeşitli tipleri vardır. Stresle ortaya çıktığı gibi bu strese karşı mekanizmalarda rol oynayan proteinlerdir. Hücrel fonksiyonları dengede tutmak için hücrel strese karşı cevap verir. Hipoksi, stres, inflamasyon, egzersiz gibi durumlarda düzeyleri değişir (59-61).

Son yıllarda yapılan çalışmalar ile birlikte tam olarak kesinlik sağlanmamış olan HSP'nin alt tipleri genel olarak şöyledir: HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, sHSP, HSP40 (62). HSP70 ailesinin belirli alt tipleri vardır. Bunlar HSP70-1, HSP70-2, HSP70-4, GRP78, HSP70B' olmak üzere gruplara ayrılır. HSP70 protein metabolizmasında doğru katlanmamış proteinlerin tanınmasında rol oynar (63).

Bu proteinler sayesinde egzersiz sırasında açığa çıkan oksidatif strese karşı vücudumuz daha dayanıklı hale gelir (64, 65).

Egzersize başlamadan önce ısınma gibi hareketler ile HSP miktarındaki artış vücudun daha dayanıklı olmasını sağlar. Olumlu etkilerin yanı sıra uzun süreli ve şiddetli yapılan egzersizlerde durum tersine dönebilir (66-68).

2.3. Endoplazmik Retikulum Stresi

Endoplazmik retikulumun fonksiyonel işleyişinin bozulduğu fizyolojik ve patolojik durumlarda ortaya çıkan hücre içi proteinlerin fazla üretilmesi, yanlış katlanması veya katlanmaması gibi durumların tetikleyici rol oynadığı stres durumudur (9, 69, 70).

ER içinde protein katlanmasında Ca^{+2} önem taşıdığından dolayı ER stresi oluştuğunda Ca^{2+} dengesi bozulur. Metabolik anormallikler, artan glikoz ve lipid seviyeleri, aşırı düzeyde artmış protein sentezi, proteinin yanlış katlanması, mutasyon gibi durumlar ER stresini oluşturan etkenlerdendir (69, 71-73).

Viral enfeksiyonel durumlar, romatoid artrit, kalp rahatsızlıkları, Parkinson, Alzheimer hastalıkları, diyabet, kanser, obezite, yüksek tansiyon ER stresini tetikleyen hastalıklardır (74, 181).

2.3.1. Glikoz Regüle Edici Protein 78

Glikoz regüle edici protein 78 (GRP78), monomerik ve dimerik formlara sahip olan 78 kDa ağırlığında bir proteindir. GRP78, protein molekülünün doğru konumda ER içerisinde kalmasını sağlayan ER retansiyon sinyal bölgesi diye bir bölgeye sahiptir (75, 76).

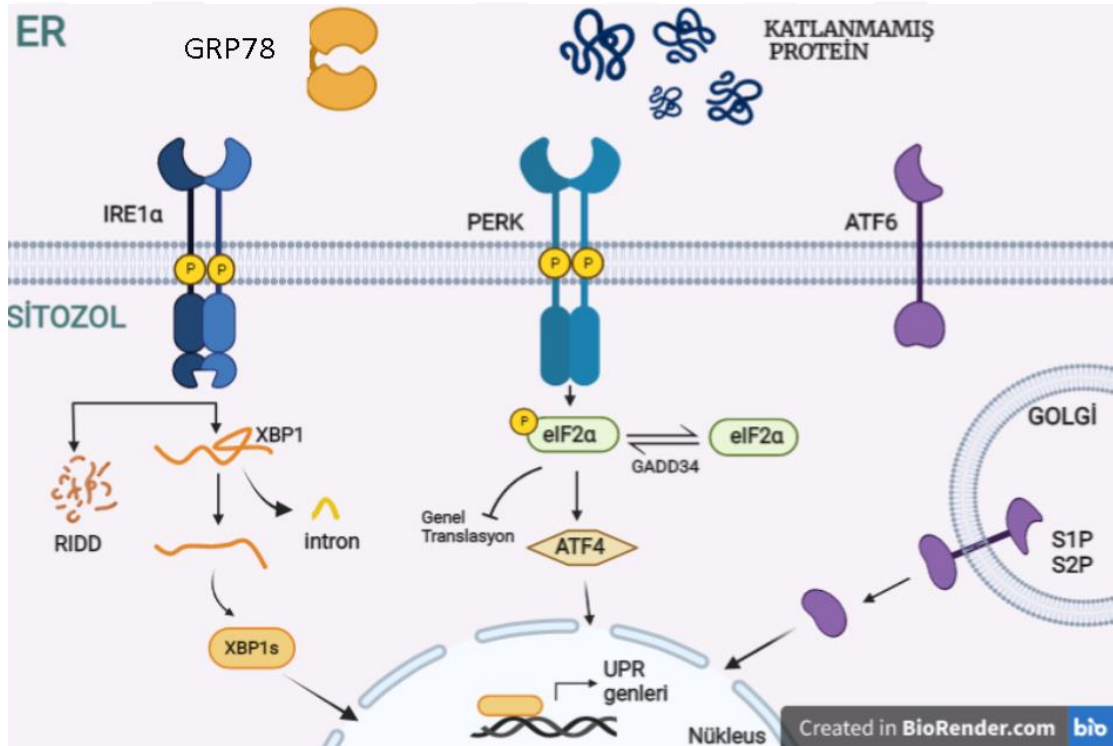
GRP78, endoplazmik retikulumun iç kısmında, mitokondri ve çekirdekte bulunmaktadır. ER stresi, hücrede redoks dengesinin bozulmasında ve diğer stres durumlarında artışı gözlenmektedir (77, 78).

GRP78 temel görevleri arasında ER stresini algılayıcı özelliklerinden dolayı strese karşı farklı mekanizmalar gerçekleştirmede, proteinin yanlış katlandığı, katlanmadığı veya işlevinin bozulduğu durumlarda, apoptozis mekanizmasının direncini artırmada, genlerin aktivasyonunu düzenlemede rol oynar (76, 79).

ER stresinin bulunmadığı zamanlarda GRP78; PERK, IRE1 ve ATF6 yolları proteinlere bağlanarak onların stabil durmasını sağlar. ER stresi gibi miktarının artış gösterdiği ve endoplazmik retikulum ilişkili yıkım (ERAD) mekanizması tarafından tanınan durumlarda GRP78 homeostazisi sağlamak için Protein Kinaz RNA Benzeri ER Kinaz (PERK), İnozitol Gerektiren Enzim 1 (IRE1) ve Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6 (ATF6) yollarından ayrılarak lümen girerek indüklenir. Ayrılmış olduğu transmembran proteinler aktif hale gelerek katlanmamış protein yanıtı (UPR) yolağını etkinleştirir ve bu yolla hücre ölümü engellenmiş olur (80-82).

2.4. Endoplazmik Retikulum Stresinde Aktiflenen Sinyal Yolları

UPR 3 ana yolk tarafından düzenlenir. Bunlar Şekil 2.2.'de gösterildiği gibi PERK yolağı, ATF6 yolağı, IRE1 yolağıdır (83, 84).



Şekil 2.2. Endoplazmik retikulum stresi ve UPR yanıtı. Adams ve ark. (2019) tarafından modifiye edilmiştir (85).

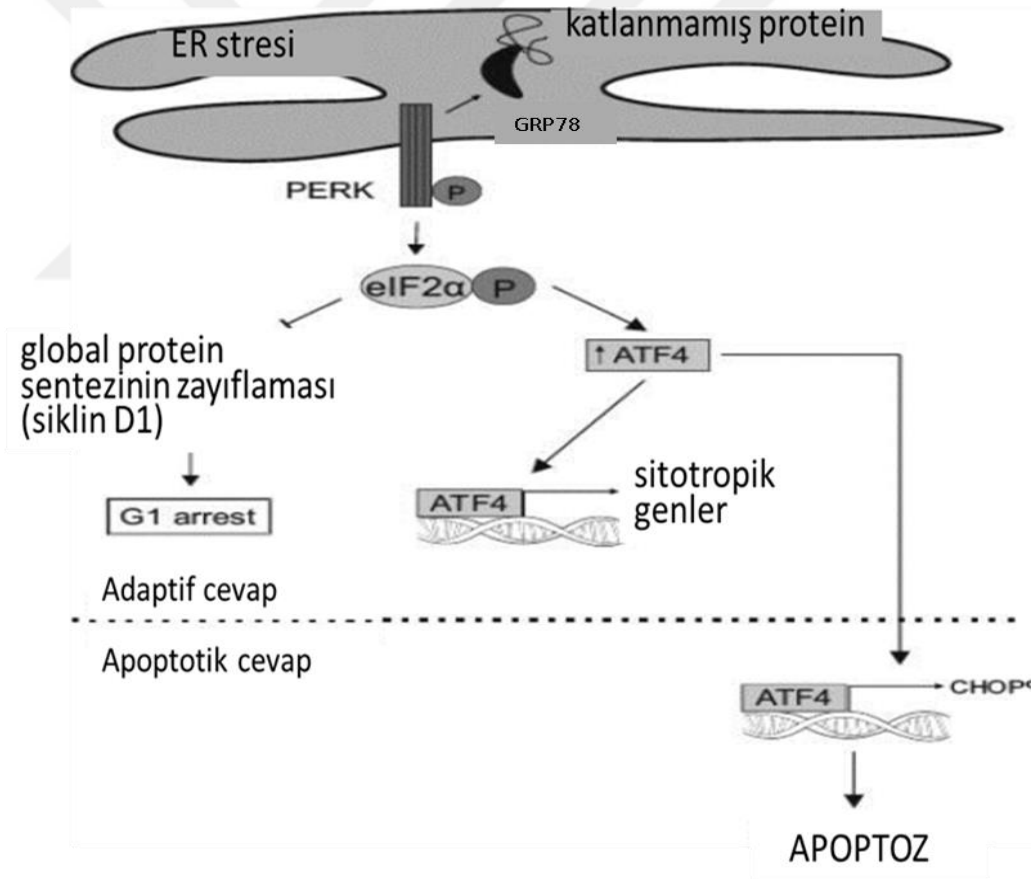
2.4.1. Protein Kinaz RNA Benzeri ER Kinaz Sinyal Yolağı

Tip 1 transmembran proteini olan PERK, endoplazmik retikulumda bulunan ve ER stresine yanıt olarak mekanizmalara katılan bir proteindir. ER lümeninde tetikleyen herhangi bir durumun olmadığı zamanlarda GRP78'e bağlı olarak bulunur (86).

Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinler arttıkça ER stresi sonucunda GRP78 endoplazmik retikulum lümeninden ayrılır. Bu durumda PERK, ER stresini algıladığında kendi üzerinde oligomerizasyona uğrar böylece trans-dimerizasyona ve aktivasyonuna neden olur (87).

PERK aktive olduktan sonra Şekil 2.3. gösterildiği gibi eIF2 α 'nın fosforile olmasına neden olur. eIF2 α 'nın fosforillenmesi ile global protein translasyonun zayıflaması sonucu protein sentezi de azalır. Bu durum sayesinde hücrenin hayatta kalmasını sağlamak için ER'ye gelen yeni proteinlerin yükü azaltılmış olur (88).

Fakat transkripsiyon faktörlerinden biri olan ATF4, bazı mRNA'lar tarafından üretilir. ATF4; hafif veya orta ER stresinde hücre koruyucu genlerin vasıtasıyla hücre sağkalımını sağlarken şiddetli ER stresinde proapoptik genler ile apoptozise neden olur (89, 90).



Şekil 2.3. PERK sinyal yolağı. Rozpedek ve ark. (2016) tarafından modifiye edilmiştir (89).

2.4.2. Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4 Sinyal Yolağı

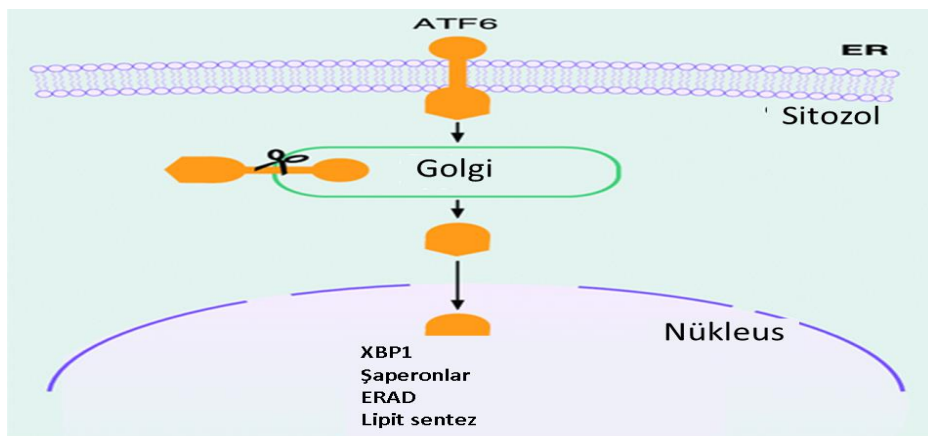
Transkripsiyon faktörü ailesinin üyelerinden biri olan ATF4 proteini, 351 aminoasitten oluşur. ATF4 hücrel homeostazisi devam ettirmede, embriyonik gelişim ve farklılaşmada, aminoasit metabolizmasının düzeltilmesinde görevlidir. ER stresine ve oksidatif strese karşı tepki oluşturmada da rol oynar (91).

ATF4'ün nükleusa girmesiyle ATF4 ile aktifleşen C/EBP Homolog Proteini (CHOP) etkinleşir. ATF4 tarafından indüklenen proapoptik genler kuvvetli bir şekilde hücre ölümünü başlatarak immün sinyalizasyonunu sağlayan sitoprotektif genleri aktive eder. Bu nedenden dolayı ATF4, hücrenin hayatta kalmasını ya da ölmesini bulunduğu koşullara göre (hafif, orta, şiddetli ER stresi) belirleyen bir faktördür. Başlangıçta koruyucu olan bu mekanizma hafif veya orta bir stres ile hayata tutunmak için çok önem taşıırken ağır ER stresi altında hücre ölümüne neden olur (88, 92-94).

2.4.3. Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6 Sinyal Yolağı

ATF6; sitoplazmik N-terminal alan, lümenal C-terminal ve merkezi transmembran alanı olmak üzere 3 ana yapısal alandan oluşan bir tip 2 endoplazmik retikulum transmembran proteinidir (95, 96). Stresin ve tetikleyici faaliyetlerin olmadığı durumlarda ER membranında bir şaperon protein olan GRP78 ile inaktif durumda bulunur. Stres durumunda GRP78'in lümeninden ayrılması ile aktif hale gelir. Aktif formu sağlamak için golgi aygıtına geçer (97).

Çekirdeğe taşınan XBP1 aktif form, ER stres tepki elemanı (ERSE) adında bir DNA dizisine bağlanarak gen ekspresyonunu ve ER stresi ile başa çıkmak için gen transkripsiyonunu tetikler. ER stresi gibi durumlarda hücre homeostazisini korumak için önemlidir (83, 96, 98).



Şekil 2.4. ATF6 sinyal yolağı. Wu, Maiulo ve ark. (2007, 2011) tarafından modifiye edilmiştir (99, 100).

2.4.4. İnoзит Gerektiren Enzim 1 Sinyal Yolağı

IRE1, biri ER lümenine bakan diğeri de hücre içine bakan iki tane temel alandan oluşmaktadır. Tip 1 transmembran proteini olan IRE1, UPR'nin en iyi korunan sinyal yolağıdır (93). IRE1, stresin olmadığı normal koşullarda GRP78'e bağlı olarak inaktif halde bulunur. Stres durumunda ayrılan IRE1, yanlış katlanmış ya da katlanmamış biriken proteinleri tanıyarak aktive olur. Aktifleşen IRE1, XBP1'in mRNA'sından belli kısmın çıkarılıp 26 nükleotid içeren kısmın eklenmesini tetikler. Aktifleşen XBP1, gen transkripsiyonu yapmak için nükleusa geçer. Hücre homeostazisi için gerekli olan mekanizmalar devreye girer (101-103).

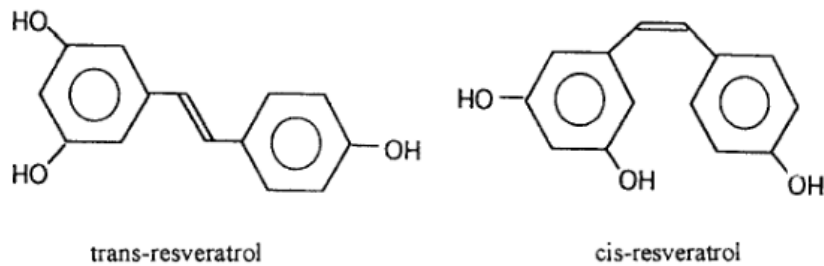
2.4.5. X-box Bağlayıcı Protein 1

X-box Bağlayıcı Protein 1 (XBP1); XBP1 kesilmiş ve XBP1 kesilmemiş olmak üzere 2 formdan oluşan bir transkripsiyon faktörüdür (104). Pro-inflamatuvar sitokin üretiminde, hücresel farklılaşmayı regüle etmede, inflamasyonda, anjiyogeneizde, apoptoziste rol oynar (104). XBP1, ER stres tepkisinde önemli yere sahiptir. UPR mekanizmasının önemli bir parçasıdır. İlk olarak ER stresinin başladığı durumda IRE1 aktive olmaya başlar. IRE1, XBP1 mRNA'sını belirli bir bölgede uç birleştirme yöntemi ile keser. Bu ayrılan parçalar daha sonra birleşerek aktive XBP1 oluşturur. Aktive XBP1 hücre çekirdeğine geçerek bazı genlerin ekspresyonunu düzenler (105, 106).

2.5. Resveratrol

Resveratrol (RES); üzüm çekirdeği, böğürtlen gibi mor renkli meyvelerde, çilek, yer fıstığı ve bazı bitkisel kaynaklarda fazla miktarda bulunan polifenol grubuna ait bir bileşiktir (13, 107).

İlk keşfedildiği zamanlarda hakkında fazla detaylı bilgiler olmamasına rağmen biyolojik özellikleri ve etkileri ile insanların dikkatini çekmiştir (108). Steroid yapıda olmayan resveratrolün (C₁₄H₁₂O₃) trans-resveratrol ve cis-resveratrol şekilleri bulunur (109).



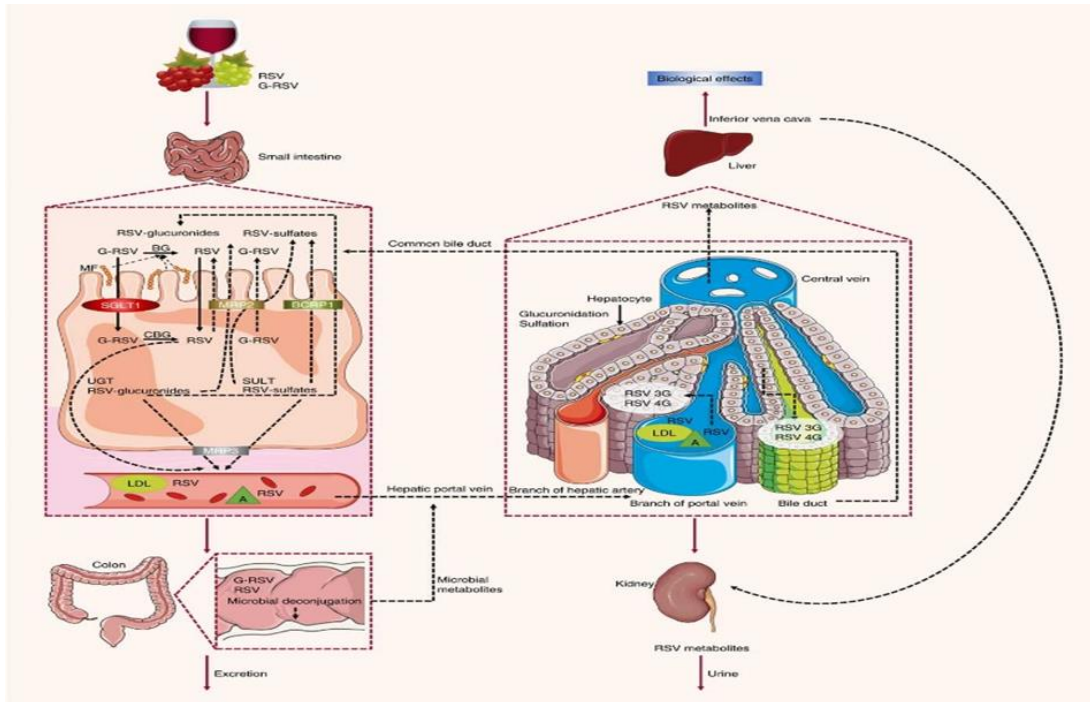
Şekil 2.5. Resveratrolün cis ve trans formları (110).

Trans-resveratrol ana formu olup güçlü bir antioksidan olması nedeniyle fitoterapik etkiye sahiptir (111). Resveratrol yapımının yaklaşık olarak 72 bitkiden elde edildiği belirlenmiştir. Aktif formu olan trans-resveratrol ısıya dayanıklı olduğu için ağız yoluyla alınıp kolaylıkla sindirilip kana karışabilmektedir (112, 113).

Suda çözünürlüğü düşük olduğundan dolayı etanol veya organik çözücüler ile çözünme oranı artırılabilir (114). RES, pasif difüzyonla ya da integrinlerle bağırsaklardan emilebilir. RES, dolaşımda serbest formda, glukuronidlenmiş ve sülfatlanmış formda olabilir (111, 115). Resveratrol, bitkileri zararlı organizmalara ve hastalıklara karşı korumak için sentezlenen fitoaleksinin bir yapıdadır (116).

2.5.1. Resveratrolün Metabolizması

Vücuda alınan resveratrol karmaşık bir biyokimyasal reaksiyonlara sahiptir. Bu durum kimyasal formuna bağlı olarak değişir. Resveratrolün insanda biyoyarlanımı hakkında araştırmalar devam etmesine rağmen edinilen bilgilere göre düşük biyoyarlanım (117) oranına sahip olan RES, sağlıklı bireylerde 30-60 dk süresinde plazma içinde en yüksek seviyeye ulaşır ve kalp, karaciğer, böbrek, yağ dokusu ve akciğer gibi organlarda birikir (109, 117, 118). Sıçanlarda ise karaciğerde 30 dk, plazmada 60 dk, kalp kasında 120 dk içinde en fazla yoğunluğa ulaşır (119). RES vücuttan genellikle idrar yolu ile atılır. Bir kısmı ise safra yolu ile bağırsaklara ulaşır ve dışkı ile uzaklaştırılır (120).



Şekil 2.6. Resveratrolün sindirimi ve metabolizması (121).

2.5.2. Resveratrolün Fizyolojik Etkileri

a) Resveratrol kalp damar hastalıklarında güçlü bir vazodilatör etkisi olan nitrik oksit sentazın vasküler sistem bulunan endotelial hücrelerin ekspresyonunu artırır (122).

b) Kök hücre tedavisinde resveratrol hücre için uygun ortamı sağlayarak hayata tutunmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasına olanak tanır (123).

c) Resveratrol kalp damarlarının kan basıncını düzenlemede, glikoz ve lipid mekanizmalarını olumlu yönde etkilediği, damar duvarlarındaki inflamasyon azaltmada, kalp kasında koruyucu etkileri olduğu gözlenmiştir (124, 125).

d) Resveratrolün bir başka rolü LDL oksidasyonunu engellemektir (15). RES, arter damarlarında sinyal iletimine hücreler gen farklılaşması, ekspirasyonu ve proliferasyonu gibi yollar oluşturarak ateroskleroza ve yağ birikimini engellediği gösterilmiştir (126, 127).

e) RES'in antioksidan özelliği hakkında serbest radikallerin hücreye vermiş olduğu oksidatif stres zararını en aza indirme ve LDL oksidasyonunu engelleme görevleri arasındadır (128, 129).

f) RES'in yapılan çalışmalarda gözlemlendiği kadarıyla anti-kanserojenik etkisiyle insan vücudunda çeşitli kanserleri azalttığı gözlemlenmiştir (130). Yumurtalık, mide, akciğer, tiroid, kolon vb. kanser türlerini azaltmada rolü değerlendirilmiştir (130).

g) RES, anjiogenezis etkisi sayesinde kapiller damar gelişiminde ve yara iyileşmesinde önemli değerlere sahiptir (129).

2.5.3. Resveratrolün Endoplazmik Retikulum Stresi ile İlişkisi

Resveratrolün hatalı katlanmış veya katlanmamış proteinlerin yol açtığı ER stresini azalttığına dair araştırmalar vardır (17). Yapılan son çalışmalara göre RES'in oksidatif stresi de azalttığı bilinmektedir (131). Vücudumuzda ER stresine karşı özellikle kalp, karaciğer ve beyin dokusunda koruyucu bir görevi bilinmektedir (132).

Zhang ve arkadaşlarının resveratrolün PERK yolağıyla ER stresini üzerine yaptığı çalışmada akroleinin PPAR γ seviyesini azaltıp ER stresine yol açarak sebep olduğu akroleinden dolayı oluşan ferroptozu PERK-CHOP-PPAR γ yolağını kullanarak düzenlediği, iyileştirdiği gözlemlenmiştir (133).

Zhu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada resveratrolün SIRT1/NRF2'nin devre dışı bırakılmasıyla artan ER stresini SIRT1/NRF2'yi tekrardan aktive ederek düşürdüğü gözlemlenmiştir. RES ile ilgili bu çalışmada inflamasyonu ve yaşlanmayı da geciktirdiği gözlenmiştir (134).

Anapali ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada karaciğer dokusunda komplikasyonları azaltmada resveratrol + VitD birlikteliği ile antioksidan savunmayı ilerletmenin yanında GRP78 ekspresyonu değerlendirmek için immünohistokimyasal boyama ile değerlendirildi ve ER stresi mekanizmasını kontrol altına aldığı gözlemlenmiştir (135).

2.5.4. Resveratrolün Egzersiz ile İlişkisi

RES'in farklı yoğunluktaki egzersiz tiplerinin mitokondriyal faaliyetleri ve aerobik kapasiteyi artırmada etkili olduğu bilinmektedir (16). Su ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada kasın fonksiyonel etkinliğini azaltan eksantrik kasılmanın resveratrol ile çeşitli etkileri araştırılmıştır. Tükenme testinin vermiş olduğu sonuçlara göre yüksek miktarda resveratrol uygulamasının oksidasyonu ve inflamasyonu düşürtebildiği gözlemlenmiştir. Yüksek miktarda RES uygulamasının kısa süreli yokuş aşağı koşullarda tükenmeden önceki süreyi artırdığını, yüksek yoğunluklu ve kısa süreli egzersiz sırasında enerji tüketimini artırabildiğini göstermektedir (136). Polley ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmaya göre resveratrol ilavesi ile egzersizin iskelet kasının mitokondriyal kapasitesi üzerinde etkisi araştırılmıştır. Alınan sonuçlara göre düşük yoğunluklu egzersizin resveratrol ile piperin uygulaması sonucunda önkol kasların mitokondriyal faaliyetlerini artırdığı gözlemlenmiştir (137).

2.6. Endoplazmik Retikulum Stresi ile Çizgili Kas İlişkisi

İskelet kası istemli kasılma sayesinde fiziksel performans, çevresel uyarılara tepki verme, postürü koruma gibi görevleri olan bir dokudur (138). Kasın kasılma sırasında endoplazmik retikulumda bulunan kalsiyum iyonu kasılmadan sorumlu olan aktin ve miyozin gibi proteinler için kritik öneme sahiptir (139). ER stresi çizgili kasta bulunan endoplazmik retikuluma zarar verdiğinde kalsiyum dengesi bozulduğu için kasın kasılma mekanizması düzensizleşir (139). Gallot ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada iskelet kasına aşırı yüklenme yapıldığında, yoğun ER stresi ve UPR aktivasyonunun başlangıç aşaması olarak çizgili kasta atrofiye yol açacağı belirtilmiştir. Çalışmaların tam olarak anlaşılması için araştırmaya devam edilmesi gerektiği açıklanmıştır (140).

2.7. Endoplazmik Retikulum Stresi ile Kalp Kası İlişkisi

Miyokart hücresi sarkoplazmik retikulumdan (SR) salınan kalsiyum sayesinde kasılma ve gevşeme faaliyetlerini gerçekleştirir (141). İskemik bir kalpte ER fonksiyonu bozulur (142). Jin ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada bir transmembran

proteini olan ATF6'nın, kalp miyositlerinde aktive edilen bir formunun üretildiği ve bu aktivasyonun ER şaperonu GRP78 dahil birçok geni artırdığı belirtilmektedir (142).

2.8. Endoplazmik Retikulum Stresi ile Egzersiz Arasında İlişki

ER stresi ile egzersiz ilişkisi çok yönlüdür. Vücut bazı durumlarda adapte olup stres ile başa çıkarken egzersizin türü, süresi, şiddetine göre bazı durumlarda başa çıkamaz. Bu etkiler ve nedenler hala araştırılmaya devam etmektedir (5). Obez sıçanlarda egzersizin hücresel düzeyde olumlu etkileri olacağı gözlemlenmiştir (143). Egzersizin ER stresi üzerinde karmaşık etkisi olduğunu açıklayan başka bir çalışmada egzersizin ER stresini azaltmayı hedeflemesine rağmen sonuçlar bu durumun tam tersine çıkmıştır (144). Bir başka çalışma, egzersizin ER stresindeki düşüşünün sonraki zamanlarda metabolik hastalıkları engellemede etkili olabileceği düşüncesini ortaya koymaktadır (145). Egzersiz araştırmalarında alınan verilerin çeşitli sonuçları sebebiyle, egzersizin ER stresi üzerindeki etkileri hâlâ tam olarak anlaşılamamıştır. Bundan dolayı bu konunun literatürde daha fazla araştırılmasının gerektiği vurgulanmaktadır (5).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları Temini ve Bakım Süreci

Uygulanan deneyde tez önerisinin kabulünden sonra İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 2022/11-2 onayı (EK 2.) alındı. İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde sıçanlara çalışmayla ilgili uygulamalar yapıldı. Deneyin analiz aşamaları Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim ve Fiziyojji Anabilim Dalı laboratuvarlarında tamamlandı. Yapılan deneyde gerçekleştirilen bütün faaliyetler etik kurul onayında belirtilen protokole uygun bir şekilde yapılmıştır. Deney süresince hayvanların bulunduğu ortam; kafes sıcaklığı $22\pm2^{\circ}\text{C}$ olacak şekilde, 12 saat aydınlık/karanlık dönüşümlü olarak ayarlandı. Hayvanlar ad libitum ile beslenildi. Bu deneyde etik kurul onayı ile birlikte Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden 8 haftalık toplam 30 adet Wistar Albino cinsi genç erkek sıçan temin edildi. Çalışmada erkek sıçan tercih edilmesinin nedeni hem egzersiz kapasitesi hem de iskelet kas yapısının kullanmaya daha yatkın olduğundandır. Dişi sıçanlara göre hormonal döngüden etkilenmemesi tercih edilme nedenlerinden biridir. Çalışmada belirli bir grupta yoğun egzersizin yanı sıra çalışmanın son 4 haftası boyunca kullanılan resveratrol %5'lik alkol içerisinde çözündükten sonra çeşme suyunda sulandırılarak gavaj yöntemi ile (10 mg/kg/gün) (182) günde bir sefer egzersizden bir saat önce uygulandı. Kontrol grubu ve H-Ex grubuna %5 çözücü alkol gavaj yöntemi ile verildi.

3.1.1. Deney Hayvanları Sayısının Belirlenmesinde Power Analizi

İstatiksel analiz güç analizine göre uygulandı. Hayvan sayısının belirlenmesinde güç analizi kullanılarak daha önceki çalışmalardan GRP78 seviyelerinde anlamlı değişime göre etki büyüklüğü 0.6849 olarak belirlendi. Hata payı %0.05 (%95 güven düzeyi) ve güç %80 ($\beta=0.20$) olarak kabul edildiğinde her bir grup için alınması gereken hayvan sayısı en az 8 (sekiz) olarak belirlendi. Her grupta olası hayvan kaybı ve egzersiz yapamama durumu göz önünde bulundurularak 10 tane hayvan olacak şekilde hayvanlar rastgele 3 gruba dağıtıldı.

3.1.2. Deney Grupları

Hayvanlar ağırlık ortalamaları dengeli olacak şekilde rastgele seçilerek üç gruba dağıtıldı.

1. Grup: Kontrol grubu (n=10)
2. Grup: Şiddetli Yüzme Egzersizi Yapan Grup (H-Ex) (n=10)
3. Grup: Şiddetli Yüzme egzersizi + Resveratrol Beslenme (H-Ex+ RES) (n=10)

3.1.3. Deney İlerleme Aşamaları

Sıçanlar, deneye başlamadan önce ve deney sürecinde her hafta düzenli olarak tartıldı. Egzersiz yaptırılan iki grup (Şiddetli yüzme egzersizi yapan grup ve Şiddetli yüzme egzersizi+ Resveratrol Beslenme) sıçanlar yüzmeye adapte olması için deney başlamadan önce günde 1 defa olmak üzere 5 gün süresince 30(±1)°C suda yüzdürüldü. Kontrol grubunda bulunan sıçanlar diğer gruptaki sıçanlar ile aynı yerde yaşadı.



Şekil 3. 1. Şiddetli yüzme egzersizi yapan gruplara H-Ex ve H-Ex+RES bağlanan yükler

Şiddetli yüzme egzersizi H-Ex ve Şiddetli Yüzme egzersizi + Resveratrol Beslenme H-Ex+RES bulunan sıçanlara 10 hafta süresince Tablo 3.1. verilen yöntem doğrultusunda egzersiz yaptırıldı.

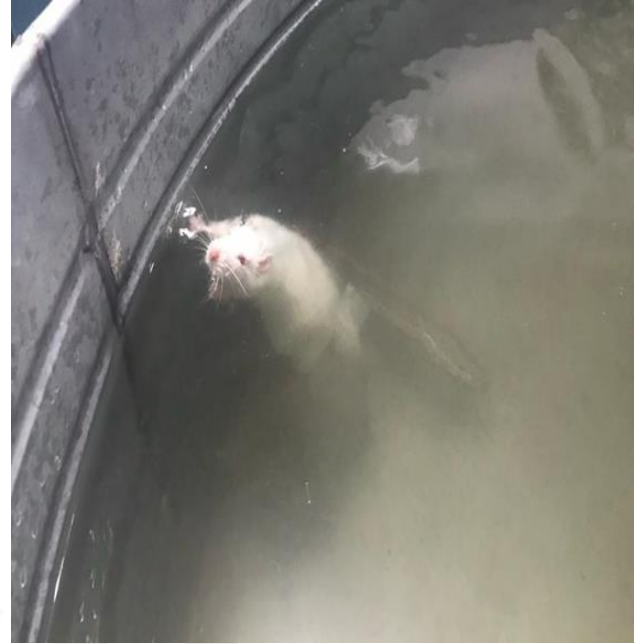
H-Ex ve H-Ex+RES bulunan sıçanlara deney sürecinin başından sonuna kadar yüzme süresi 2 haftada bir 10 dakika yükseltilecek şekilde protokol uygulandı. Egzersiz süresinin artırılmasının yanı sıra bu iki gruba H-Ex ve H-Ex+RES sıçanların her birine uyum haftasından başlanılarak ağırlıklarının yüzde 5'i olacak şekilde kuyruklarına Şekil 3.1. ve Şekil 3.2. gösterilen yüklerin bağlanması ile başlanılıp 2 haftada bir %1 oranında artacak şekilde protokol uygulandı (146, 147).

3.1.4. Resveratrol Uygulaması

H-Ex+RES grubunda bulunan sıçanlara Tablo 3.1. gösterilen protokole ek olarak çalışmanın son 4 haftası boyunca kullanılan resveratrol (SC-200808) %5'lik alkol içerisinde çözüldükten sonra çeşme suyunda sulandırılarak gavaj yöntemi ile (10 mg/kg/gün) günde bir sefer uygulandı. Kontrol grubu ve H-Ex grubuna %5 çözücü alkol gavaj yöntemi ile verildi.

Tablo 3.1. Sıçanlara uygulanacak egzersiz ve resveratrol besleme protokolü. Speretta ve Gobatto'nun deneylerine göre hazırlandı (146, 147).

	Kontrol Grubu	Şiddetli Yüzme Egzersiz Grubu H-Ex Süre ve Bağlanan Yük Oranı	Şiddetli Yüzme Egzersizi+Resveratrol Grubu H-Ex+RES Süre, Bağlanan Yük Oranı ve Resveratrol Miktarı
Uyum Haftası	-	10 dk + %5 Yük	10 dk + %5 Yük
1-2 Hafta	-	20 dk + %6 Yük	20 dk + %6 Yük
3-4 Hafta	-	30 dk + %7 Yük	30 dk + %7 Yük
5-6 Hafta	-	40 dk + %8 Yük	40 dk + %8 Yük
7-8 Hafta	%5 çözücü	50 dk + %9 Yük + %5 çözücü	50 dk + %9 Yük +10 mg/kg/gün resveratrol
9-10 Hafta	%5 çözücü	60 dk + %10 Yük + %5 çözücü	60 dk + %10 Yük + 10 mg/kg/gün resveratrol



Şekil 3.2. Hayvanlara yük ağırlıklarının bağlanması ve yüzdürülmesi

3.2. Dokuların Alınması ve Analizleri

Deney herhangi bir hayvan kaybı olmadan tamamlandı. Yukarıdaki protokele (Tablo 3.1.) uygun şekilde 3 grup (30 sıçan) olası akut egzersiz stresini önlemek amacıyla deney süresi tamamlandıktan 2 gün sonra ötenazi edildi. Ötenazi öncesi sıçanlara periton içine enjeksiyon yolu ile ketamin ve ksilazin (sırasıyla 45 mg/kg ve 5 mg/kg) verildi. Anestezi sonrasında tüm hayvanların kalp dokularından intrakardiyal yolla kan alındı. Bununla birlikte hayvanlardan farklı doku örnekleri de alındı. Sıçanların sol ventrikülleri çıkarıldıktan sonra ikiye bölündü ve her sıçanda aynı taraf olacak şekilde parçalar alındı. Sıçanların her birinde aynı taraf olacak şekilde damarlara zarar verilmeden iki taraf gastrocnemius kasları çıkarıldı. Çıkarılan dokular -80 °C’de muhafaza edildi.

3.2.1. Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıklarının Ölçülmesi

Her hafta düzenli olacak şekilde deney süresince 3 gruptaki her hayvanın ağırlıkları ölçüldü. Sonuçlar Tablo 4.1. gösterildiği gibi not alındı.

3.3. Western Blot Tekniğiyle XBP1, ATF4, GRP78 Proteinlerin Analizi

3.3.1. Dokuların Protein Miktarının Hesaplanması ve Homojenizasyonu

-80 °C muhafaza edilen sol ventrikül ve gastrocnemiustan alınan doku örnekleri +4 °C’de protein ekstraksiyon kiti (GeneAll,701-001) kullanılarak homojenize edildi. Homojenizasyon öncesi protein denaturasyonunu önlemek amacıyla ekstraksiyon

solüsyonuna proteaz inhibitör kokteyli (Serva,39102.01) eklendi. Dokulara dakikada 16.000 devir yapacak hızda üç dakika homojenize işlemi yapıldı. Homojenat 10 dakika belirli bir sıcaklıkta (+4 °C) 4000 RPM hızında bir santrifüj cihazı kullanılarak (IKA, Germany) süpernatant alındı ve protein tayini (DeNovix,DS -11) yapıldı. Böylelikle kuyucuklara konulacak olan proteinler arasında denge sağlanabildi.

3.3.2. Western Blot Jelin Hazırlanması

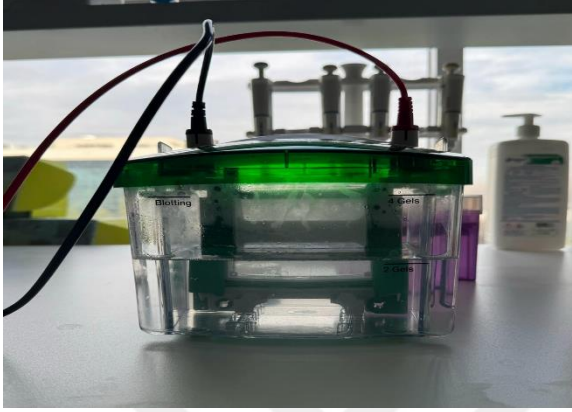
İlk olarak proteinlerin yürütülmesinde gerekli olan poliakrilamid jel için hazırlıklar yapıldı. Poliakrilamid jel için ilk önce %10 Separating (Lower) jel ayarlandı. Hazırlanan 15 ml lik tüplerdeki jelin içine 1.25 1.5M Tris (pH=8.8), 2 ml saf su, 25µL %20 SDS, 1.67 ml %30 Acrylamide/Bis-Acrylamide, 2.5 µL Temed ve 25µL %10 Amonyum Persülfat (APS) konularak hazırlandı. İnce ve biraz daha kalın 2 adet cam (Bio-rad, Mini PROTEAN) arasına hazırlanan jel döküldükten hemen sonra izopropil alkol üstündeki köpükcükleri gidermek için eklendi. Bu şekilde Seperating jelin bir süre donması beklendi. Donduktan sonra iki cam ortasındaki izopropil alkol atıldı. Jel hazırlanmasında ikinci kademeye geçildi ve Stacking Jeli (%5) hazırlandı. Bunun için 15 ml lik tüpün içine 0.375 ml 1M Tris (pH=6.8), 2.088 ml saf su 15µL %20 SDS, 0.506 ml %30 Acrylamide/Bis-Acrylamide, 1.5 µL Temed ve 15 µL %10 APS konularak hazırlandı. İki cam (Bio-rad, Mini PROTEAN) arasına Seperating Jel dökülerek taraklar yerleştirildi ve jelin iyice donması için inkübe edildi.

3.3.3. Kuyucuklara Yüklenecek Örneklerin Hazırlanması

1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüp içine 3/1 oranında homojenat ve 4x yükleme tamponu beraber karıştırılıp behere konulduktan sonra su içerisinde hazırlanan karışıma 5 dakika kaynatma işlemi yapıldı (Daihan,MSH-20A). Sonra kaynatılmış karışım normal oda sıcaklığında 4000 RPM hızda 1 dakika santrifüj edildi.

3.3.4. Proteinlerin Elektroforez Yürütme İşlemi

Yürütme sisteminin ilk hazırlık aşamasında jeller düzeneğin içine taraklı kısım medial tarafta olacak şekilde yerleştirildi. Kap dolu olacak biçimde ve jellerin arası 1X Running Buffer ile dolumu yapıldı. Alınan örnekler jel kuyucuklara yüklenip yürütme süreci 80 V ile sürdürüldü. Yaklaşık 2.5 saatin sonunda proteinlerin yürümesi sonlandı.



Şekil 3. 3. Yürütme öncesi jel hazırlığı

3.3.5. Hazırlanan Proteinlerin Jelden Membrana Aktarılması ve Eklenecik Antikor Miktarının Hesaplanması

Yürütme sonrası proteinleri jelden membrana (Bio-Rad, PVDF Membran) geçirmek için sandviç tekniği kullanıldı (Thermo Scientific, Pierce Power Blotter). Cımbızla zarar verilmeden steril olarak alınan membran 50 ml'lik falkon tüpe konuldu. Membran bir saat oda sıcaklığında % 5'lik yağsız süt tozu (100 ml tris buffered saline (TBS) + 5 g yağsız süt tozuyla beraber çalkalayıcıda bekletildi (Blood Tube Roller Mixer). Bu işlemler tamamlandıktan sonra analizleri planlanan GRP78 (GRP 78 Antibody, (76-E6): sc-13539), XBP1 (Antibody (F-4): sc-8015), ATF4 (CREB-2, Antibody (B-3): sc-390063) antikorları 1/200 dilüe edilerek %5'lik süt tozuna eklendi ve 1 gece boyu süresince +4°C'de çalkalanması sürdü. Bir sonraki gün yıkama solüsyonu hazırlandı (PBS'te %0.1 Tween) ve 3 defa olmak üzere 15 dakika süresinde oda sıcaklığında devamlı yıkama işlemi sürdürüldü. 3 defa yıkama işlemi tamamlandıktan sonra primer antikorlara uygun olacak şekilde sekonder antikor olarak HRP konjugatlı anti-rat IgG (Abcam, ab97057) ve anti Mouse IgG HRP (BT LAB,BT-AS00006) kullanıldı. Sekonder antikor 1/5000 dilüe edilerek membran ile beraber olacak şekilde 1 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalama etkinliği sürdürüldü. Sonrasında tekrar olarak 3 kez olacak şekilde 15 dakika süresinde oda sıcaklığında 45 dk boyunca yıkama işlemi tamamlandı.

3.3.6. Membranda Bulunan Proteinlerin Görüntülenmesi ve Yoğunluklarının Hesaplanması

Gelişmiş kemilüminesans (ECL) solüsyonu membranın üstüne ışık görmeyecek şekilde uygun ortamda membran yüzeyini kaplayacak biçimde döküldü. Sonrasında görüntüleme işlemi yapıldı. Görüntülenen veriler bilgisayara aktarıldı. Analizlerde kullanılan her bir proteinden tekrarlı olacak şekilde görüntü alındı. Protein miktarları yürütülen jellerden her biri için boyama yapılarak (GeneSys) hesaplandı. Membranda bulunan her bir protein miktarının tayini için işlem yapılan jelde aynı kuyucuktaki protein düzeyleri belirlendi ve bu düzeyle orantısal olarak elde edilen görüntüler kayıt edildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

Analizde IBM SPSS 22.0 paket programı kullanıldı (183). İstatistiksel analizde kullanılan veriler medyan ve min-max değerleri ile ifade edildi. İstatistiksel analizde tüm grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulandı. Anlamlı çıkan parametrelerin ikili karşılaştırılmasında ise Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. $p < 0.05$ ten küçük olan istatistiksel sonuçlar anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanlarının Kilo Ölçüm Analizleri

Deneye başlangıç aşamasında ve deney sonu bitiş haftasında alınan ağırlık ölçümleri karşılaştırıldığında, her üç grubun da deney sonrası ağırlıkları anlamlı bir şekilde artmıştır ($p<0.05$) (Tablo 4.1). Ancak deney sonunda vücut ağırlıklarında gruplar arası anlamlı artış görülmedi ($p>0.05$).

Tablo 4.1. Başlangıç ile bitiş haftaları arasında deney hayvanlarında kilo değişimleri (Veriler med (min-max) şeklinde sunulmuştur.)

	Başlangıç (g)	Bitiş (g)	P değeri
Kontrol	190 (150-245)	327 (300-356)	<0.001
H-Ex	199 (158-233)	325 (272-373)	<0.001
H-Ex+RES	195 (186-224)	322 (307-364)	<0.001

4.2. Yem ve Su Tüketiminin İncelenmesi

Her üç grubun deney boyunca yem ve su tüketimleri ayrı ayrı toplanmış ve hayvan sayısına bölünerek ortalaması alınmıştır. Gruplardaki hayvan başına düşen yem ve su tüketimleri karşılaştırıldığında her üç grupta da benzer miktarda yem ve su tüketiminin olduğu belirlenmiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Deney grupları arası yem ve su tüketim miktarları (Veriler Ort $\pm$ Std. Sapma olarak verilmiştir).

Yem Tüketimi (g)	Başlangıç (g)	Bitiş (g)	P değeri
Kontrol	580 $\pm$ 127	636 $\pm$ 48	0.285
H-Ex	592 $\pm$ 134	630 $\pm$ 120	0.285
H-Ex+RES	600 $\pm$ 141	633 $\pm$ 127	0.713

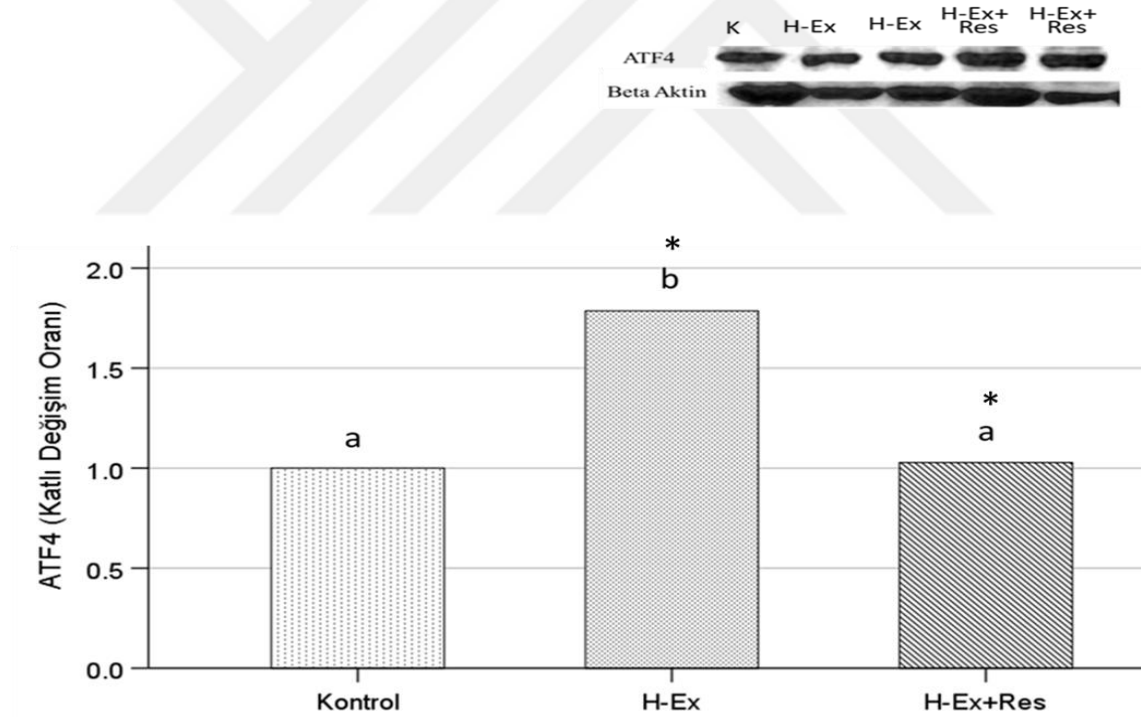
Su Tüketimi(ml)	Başlangıç (g)	Bitiş (g)	P değeri
Kontrol	570 $\pm$ 24	600 $\pm$ 91	0.715
H-Ex	547 $\pm$ 111	562 $\pm$ 85	0.713
H-Ex+RES	535 $\pm$ 69	550 $\pm$ 40	0.581

Tablo 4.3. Sol ventrikül gruplar arası ATF4, GRP78 ve XBP1 protein seviyeleri ölçümü (Veriler med (min-max) şeklinde sunulmuştur).

	Kontrol	H-Ex Grubu	H-Ex+RES	P değeri
ATF4	1.00 ^a	1.79 (1.69-1.87) ^b	1.02 (0.74-1.30) ^a	<0.001
GRP78	1.00 ^a	1.91 (1.90-1.92) ^b	1.33 (1.16-1.49) ^c	<0.001
XBP1	1.00 ^a	0.51 (0.63-0.39) ^b	0.30 (0.23-0.38) ^c	<0.001

4.3. Sol Ventrikül ATF4 Protein Düzeylerinin Karşılaştırılması

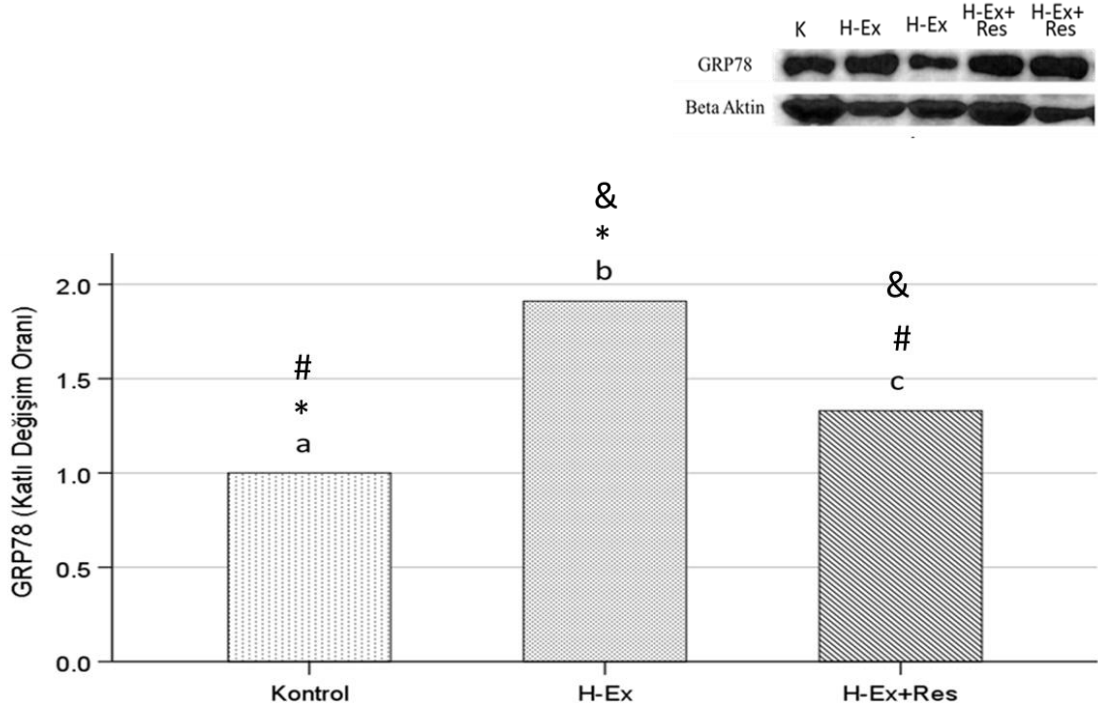
Sol ventrikül dokusu ATF4 protein düzeyleri gruplar arası incelendiğinde, ATF4 düzeyinin H-Ex grubunda hem kontrol grubuna hem de H-Ex+RES grubuna göre daha yüksek düzeyde olduğu görüldü ($p<0.05$). H-Ex+RES grubu ise kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Gruplar arası sol ventrikül ATF4 protein düzeylerinin karşılaştırılması (Gruplar arasında a-b $p<0.001$ *: $p<0.001$)

4.4. Sol Ventrikül GRP78 Protein Düzeylerinin Karşılaştırılması

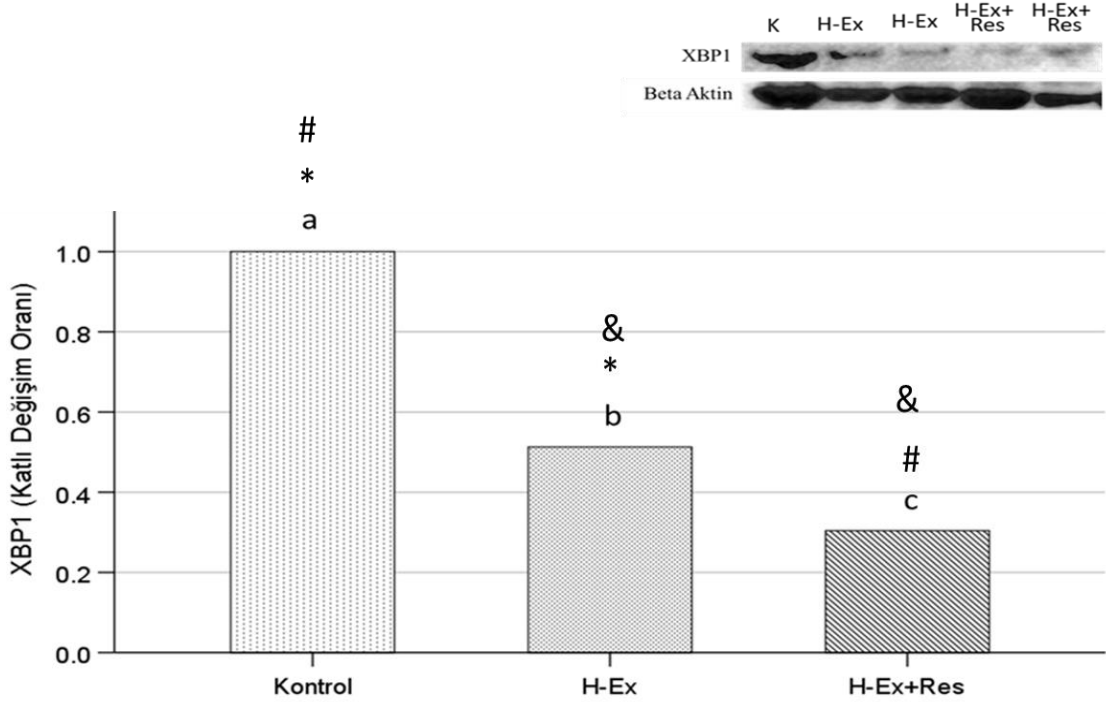
Deney gruplarının sol ventrikül kasında GRP78 düzeyleri karşılaştırıldığında GRP78 düzeyinin H-Ex grubunda hem kontrol grubuna hem de H-Ex+RES grubuna göre daha yüksek düzeyde olduğu görüldü ($p<0.05$). H-Ex+RES grubunda GRP78 düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede kaldığı belirlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Gruplar arası sol ventrikül GRP78 protein düzeylerinin karşılaştırılması (Gruplar arasında a-b $p<0.001$, a-c $p=0.027$, b-c $p=0.027$ *: $p<0.001$, #: $p=0.027$, &: $p=0.027$)

4.5. Sol Ventrikül XBP1 Protein Düzeylerinin Karşılaştırılması

Sol ventrikül dokusu XBP1 düzeyleri gruplar arası incelendiğinde, egzersiz yapılan H-Ex ve H-Ex+RES grubun kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirlendi ($p<0.05$). H-Ex+RES grubu ise egzersiz yapılan H-Ex grubuna göre XBP1 düzeyinin daha düşük olduğu görüldü ($p<0.05$) (Şekil 4.3).



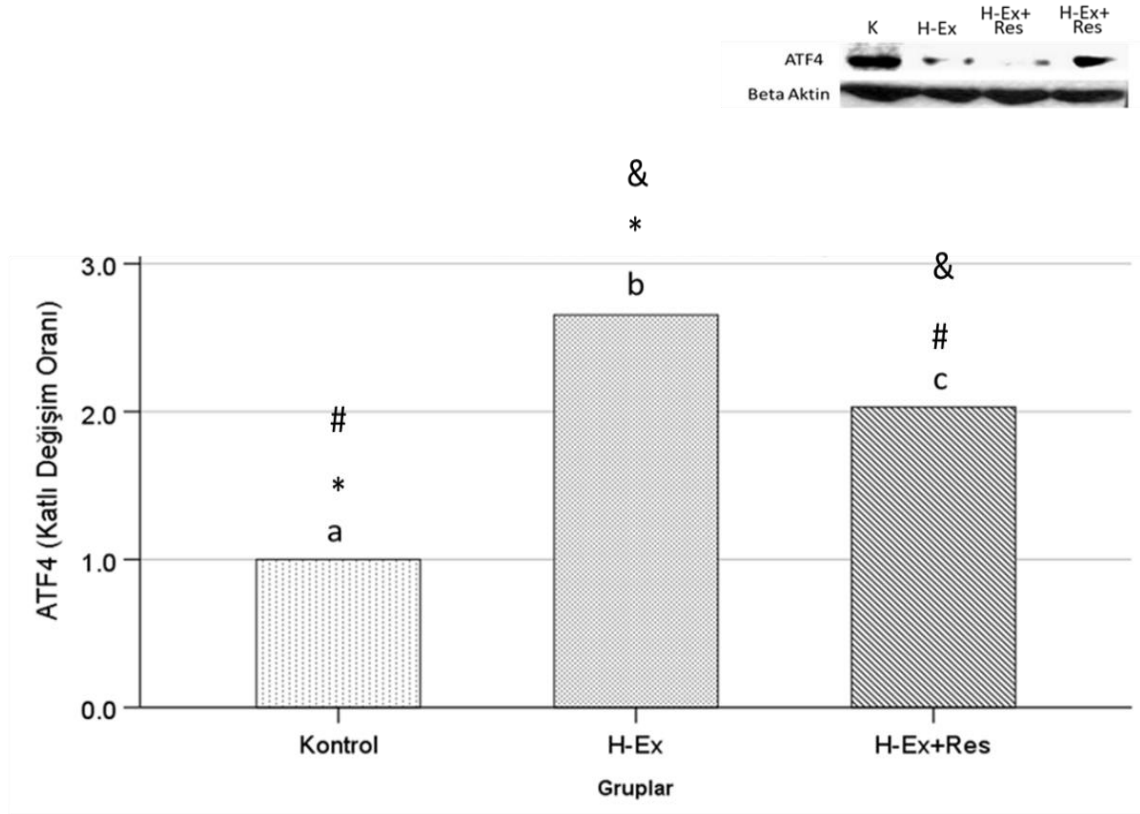
Şekil 4.3. Gruplar arası sol ventrikül XBP1 protein düzeylerinin karşılaştırılması (Gruplar arasında a-b $p=0.027$, a-c $p<0.001$, b-c $p=0.027$ *: $p=0.027$, #: $p<0.001$, &: $p=0.027$)

Tablo 4.4. Gastrocnemius kası gruplar arası ATF4, GRP78, XBP1 protein seviyeleri ölçümü (Veriler med (min-max) şeklinde sunulmuştur).

	Kontrol	H-Ex Grubu	H-Ex+RES	P değeri
ATF4	1.00 (1-1) ^a	2.65 (2.65-2.65) ^b	2.29 (2.55-2.03) ^c	<0.001
GRP78	1.00 (1-1) ^a	1.15 (1.15-1.15) ^b	1.00 (0.82-1.15) ^{a,b}	0.030
XBP1	1.00 (1-1) ^a	1.48 (1.48-1.48) ^b	0.87 (1.03-0.71) ^a	<0.001

4.6. Gastrocnemius Kası ATF4 Protein Düzeylerinin Karşılaştırılması

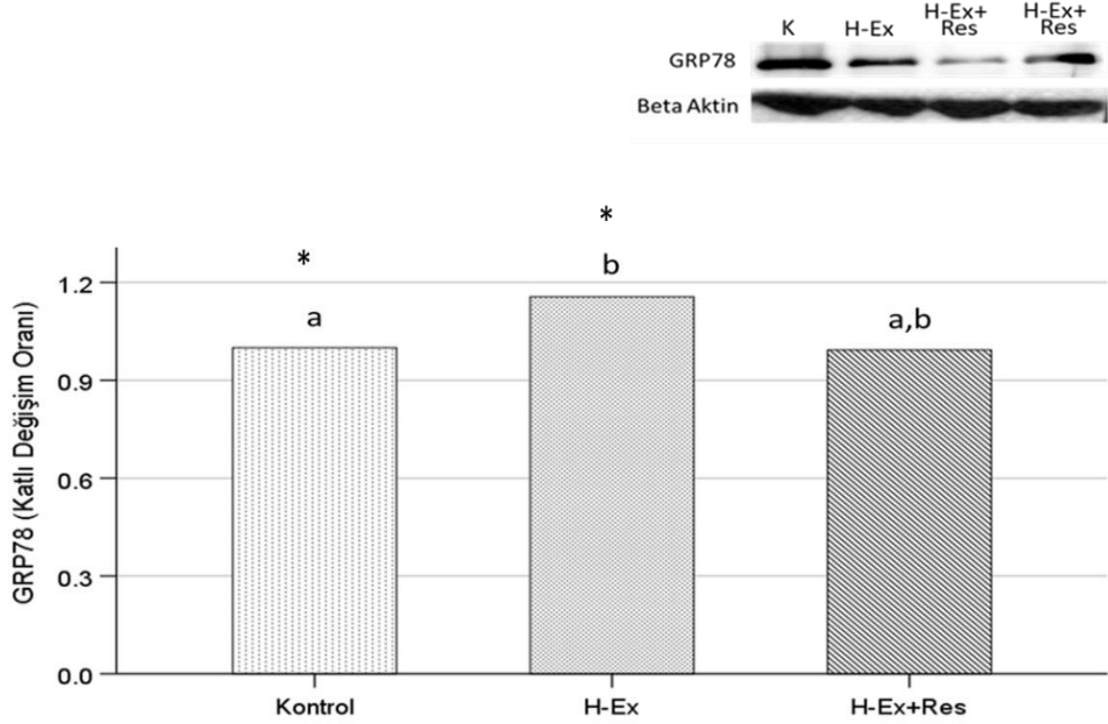
Deney gruplarının gastrocnemius kası ATF4 düzeyleri karşılaştırıldığında ATF4 düzeyinin H-Ex grubunda hem kontrol grubuna hem de H-Ex+RES grubuna göre daha yüksek düzeyde olduğu görüldü ($p<0.05$). H-Ex+RES grubunda ATF4 düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede kaldığı belirlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Gruplar arası gastrocnemius kası ATF4 protein düzeylerinin karşılaştırılması (Gruplar arasında istatistiksel analizde a-b $p=0.024$, a-c $p=0.024$, b-c $p<0.001$ *: $p=0.024$, #: $p=0.024$, &: $p<0.001$)

4.7. Gastrocnemius Kası GRP78 Protein Düzeylerinin Karşılaştırılması

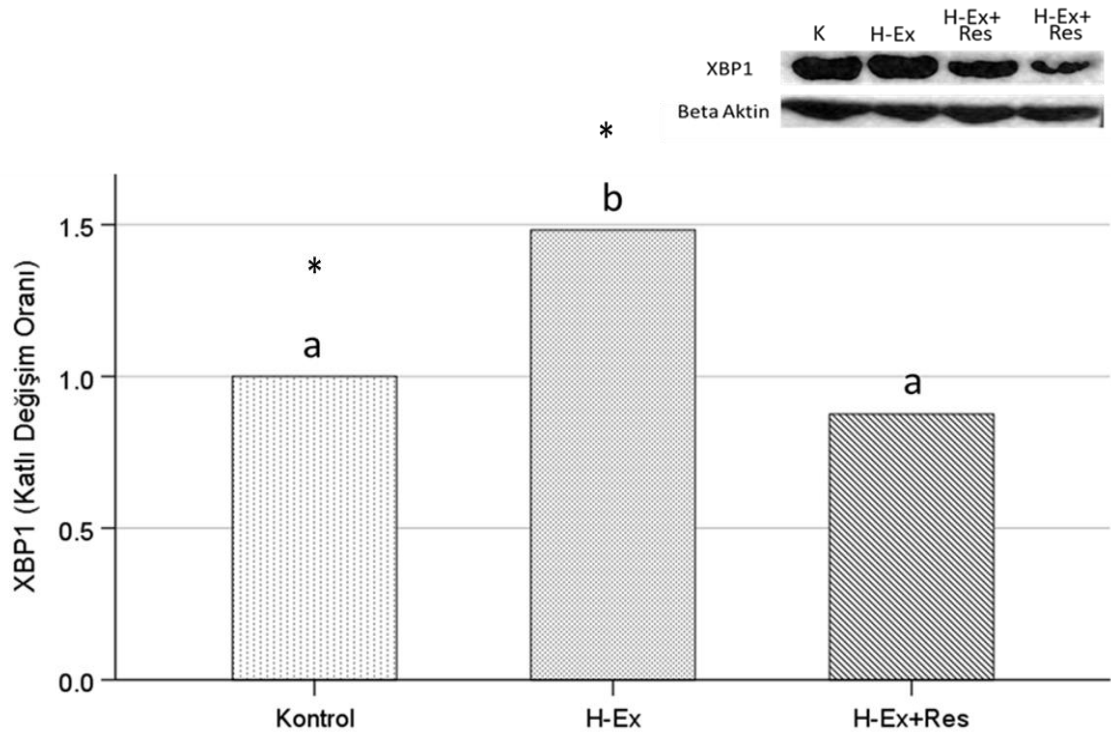
Deney gruplarının gastrocnemius kası GRP78 oranları karşılaştırıldığında egzersiz yapılan H-Ex grubunda hem kontrol hem de H-Ex+RES grubuna göre GRP78 düzeyinin arttığı belirlendi ($p<0.05$). Kontrol grubu ve H-Ex+RES gruplar arasında GRP78 düzeyinde anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Gruplar arası gastrocnemius kası GRP78 protein düzeylerinin karşılaştırılması (Gruplar arasında istatistiksel analizde a-b $p<0.001$ *: $p<0.001$)

4.8. Gastrocnemius Kası XBP1 Protein Düzeylerinin Karşılaştırılması

Deney gruplarının gastrocnemius kası XBP1 protein düzeyleri gruplar arası incelendiğinde, XBP1 düzeyinin H-Ex grubunda hem kontrol hem de H-Ex+RES grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p<0.05$). Kontrol grubu ve H-Ex+RES gruplar arasında XBP1 düzeyinde anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. Gruplar arası gastrocnemius kası XBP1 protein düzeylerinin karşılaştırılması (Gruplar arasında istatistiksel analizde a-b $p<0.001$ *: $p<0.001$)

5. TARTIŞMA

Tez çalışmamızdaki hedef, ağır yüzme egzersizinin ER stresi üzerine etkisi ve güçlü bir antioksidan madde olan resveratrolün ağır yüzme egzersizi sonucu çizgili ve miyokart kasında oluşturduğu hasar mekanizmalarından biri olan ER stresi üzerine etkinliği araştırmaktır. Çalışmamızda deney hayvanlarının vücut ağırlığı, yem ve su tüketimi, çizgili ve miyokart kasında ATF4, GRP78 ve XBP1 proteinlerinin seviyeleri incelendi.

5.1. Deneklerde Kilo Değişiminin, Yem ve Su Tüketimi Üzerine Etkisi

Deneyde 10 haftalık ağır yüzme egzersizi sonucunda elde edilen sonuçlara göre tüm hayvanların ağırlıklarında artış olduğu gözlenmiştir. Ancak bu ağırlık değişimi gruplar arası karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. Gruplar arası benzer kilo artışının sebebi kontrol grubunda deney süresince yağlı vücut kütlelerinin artmasından, ağır egzersiz grubu ve resveratrol verilen grupta ise kas kütlelerinin artmasından kaynaklı olabilir. Çalışmamızda deney boyunca ölçülen yem ve su tüketim miktarları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir. Nitekim Miyatake ve arkadaşlarının sıçanlar üzerine yapmış oldukları bir çalışmada zorlu egzersiz yaptırılan grupla kontrol grubu arasında vücut ağırlığı ve yem tüketiminde değişimi yönünden bir fark gözlenmemiştir (148). Bu durum vücut ağırlığının, yem ve su tüketiminin sadece egzersiz yoğunluğuna bağlı olmadığını desteklemektedir.

5.2. Gastrocnemius Kasında Egzersizin GRP78 Üzerine Etkisi

Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara göre, sıçanlardan alınan gastrocnemius kasında şiddetli yüzme egzersizi yaptırılan grupta kontrol grubuna göre GRP78 protein düzeyinde artış gözlemlendi. GRP78 protein düzeyinde görülen artışın sebebi yoğun şiddette yapılan egzersizin ER stresini tetiklemesinden kaynaklanıyor olabilir. Belaya ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, yaklaşık 20 ay boyunca koşu bandında (tekerlekli) gönüllü olarak koşturulan farelerde tibialis anterior kasında GRP78 düzeyinde belirgin derecede artış görülmüştür (149). Bu artışın egzersizin ER stresine yol açmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Yine benzer bir çalışmada Shin ve arkadaşları Sprague-Dawley ratlarda ilerleyici yorucu egzersizin iskelet kasında HSP70 düzeyini artırdığını bulmuşlardır (150). Pereira ve arkadaşları farelerde 8 hafta boyunca süren 15 dakika ile başlayıp en son hafta 60 dk olarak yapılan aşırı eksantrik egzersizin kas dokusunda GRP78 protein değerini artırdığını gözlemiştir (151). Başka bir çalışmada ise Park ve arkadaşlarının 2018 yılında farelere 16 hafta boyunca haftada 4 gün, 10-14 m/dk,

40-60 dk/gün uygulanan aerobik egzersizin GRP78 düzeyini azalttığını gözlemlemiştir (152).

5.3. Sol Ventrikül Kasında Egzersizin GRP78 Üzerine Etkisi

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, sıçanlardan alınan sol ventrikül kasında şiddetli yüzme egzersizi yaptırılan grupta kontrol grubuna göre GRP78 protein düzeyinde artış gözlemlendi. GRP78 düzeyinde görülen bu artışın kalp kasının ağır egzersiz boyunca devam eden aşırı zorlanmasından kaynaklı olarak oluşan ER stresini temsil ettiği düşünülmektedir (151). Korkmaz ve ark 10 hafta boyunca sıçanlara ağır yüzme egzersizi yaptırmış ve deney sonunda kalp kası GRP78 düzeyi için yeterli veri elde edilememiştir (153). Mevcut çalışmamızla benzerlik gösteren bu deneyde elde edilen veriler sonucunda zorlu egzersizin kalp dokusunu olumsuz yönde etkileyerek ER stresini artırdığını göstermiştir. Ancak hafif ve orta zorlukta yapılan egzersizlerin kalp sağlığı üzerine olumlu etkilerinin olduğu görülmüştür (154, 155). Bozi ve arkadaşları 8 hafta boyunca orta yoğunlukta aerobik egzersiz yaptırılan miyokard infarktüsli sıçanların kalp kasını incelemiş ve deney sonunda ER stresinin azaldığını ve GRP78 düzeyinin düştüğünü göstermişlerdir (154). Murlasits ve arkadaşları ise 5 gün boyunca koşu bandında maksimum oksijen tüketimi (VO₂ max) düzeyi yaklaşık %70 olacak şekilde 60 dakika treadmill egzersizleri yaptırılan Sprague-Dawley sıçanlarda egzersizin kalpte GRP78 düzeyini ve ER stresini değiştirmedığını belirtmişlerdir (155). Her iki çalışmada orta düzeyli egzersizin hem sağlıklı kalpte hem de miyokard infarktüsli kalpte olumlu etkiler oluşturduğunu ortaya koymuştur.

5.4. Gastrocnemius Kasında Egzersizin ATF4 Üzerine Etkisi

Egzersiz şekli, süresi ve yoğunluğu iskelet kaslarında oluşacak ER stresini olumlu veya olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Genellikle hafif ve orta düzeyde egzersizler iskelet kasındaki ER stresini azaltmaya yönelik faydalı etkiler oluştururken (156) yoğun ve aşırı yorucu egzersizler için ise literatürde tam bir fikir birliği yoktur (151, 157, 158). Kim ve arkadaşları 5 haftalık %10 eğim haftada 5 gün 34 m/dk yüksek yoğunluklu antrenman periyodunun sıçan gastrocnemius kasındaki ER stresini azalttığını ortaya koymuştur (158). Yine benzer bir çalışmada akut egzersizde ise DHulst ve ark. C57BL/6J fareleri bir gece boyunca dirence karşı koşturmuş ve deney sonunda ATF4 düzeyinin arttığını ortaya koymuştur (159). Çalışmamızda ER stresini belirteçlerinden olan iskelet kası ATF4 düzeyinin yoğun egzersiz yapılan grupta artış göstermesi, yoğun egzersizlerin ER stresine sebep olduğu görüşünü desteklemektedir.

5.5. Sol Ventrikül Kasında Egzersizin ATF4 Üzerine Etkisi

Mevcut tez çalışmasında sol ventrikül ATF4 düzeyinin ağır egzersiz yapılan grupta kontrol grubuna göre arttığı gözlenmiştir. H-Ex grubuna uygulanan zorlu egzersizin vücuda pompalanması gereken kan miktarı çok artırarak kalbe ekstra iş yükü oluşturmuş ve bu da kalp kasında hasara ve ER stresine yol açmış olabilir. Çünkü yapılan çalışmalarda ağır ve eksantirik egzersizlerin kalp kasında hasar oluşturarak ER stresini dolayısıyla da ER stres parametrelerini artırdığı gösterilmiştir (151). Çalışmamıza benzer egzersiz protokolünde Korkmaz ve ark. 10 hafta boyunca ağırlık yüklü yüzme egzersizi yaptırılan sıçanlarda ER stresinin sol ventrikül ATF4 düzeyinin arttığını ortaya koymuştur (153). Ancak hafif düzeyde uygulanan egzersizlerin kalp üzerinde ER stresine olumsuz bir etkisinin olmadığı gibi ER stresini azalttığı düşünülmektedir (154, 160). Bozi ve ark. miyokard infarktusu oluşturulan farelere orta düzeyde 8 haftalık yapılan egzersizin kalp kası iyileşmesini artırarak CHOP düzeyini azalttığını bildirmiştir (154). Murlasits ve ark ise sıçanlara 5 gün boyunca orta düzeyde treadmill egzersizi uygulamış ve deney sonunda kalp kasında ER stres parametrelerini değerlendirmiştir (155). Elde edilen veriler neticesinde orta düzeyde egzersizin ER stresini üzerine etkisi olmadığı ve CHOP, ATF3 ve ATF4 düzeyinin değişmediğini belirlemiştir (155). Bu sonuçlar kalp sağlığı açısından ağır egzersizden ziyade orta yoğunlukta egzersiz tercih edilmesinin gerekliliğini ifade etmektedir.

5.6. Gastrocnemius Kasında Egzersizin XBP1 Üzerine Etkisi

Elde edilen sonuçlara göre gastrocnemius kası XBP1 düzeyi yoğun egzersiz yapılan H-Ex grubunda artış göstermiştir. Uzun süreli yapılan yoğun ve yorucu egzersizlerin iskelet kas yapısına zarar vererek ER stresini tetiklediği düşünülmektedir. Pereira ve arkadaşları 8 hafta boyunca sıçanları günlük yokuş yukarı koşturmuş ve deney sonunda soleus kasında XBP1'i incelediğinde ER stres parametrelerinin arttığını görmüştür (151). Benzer bir çalışmada Pinto ve arkadaşları farelerde kronik yorucu fiziksel egzersizin soleus kasında ER stresini tetiklediğini bildirmiştir (157). Hulmi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 6-7 haftalık erkek sıçanlara 7 hafta boyunca tekerlekli koşu egzersizi yaptırılmış ve elde edilen verilere göre kasta XBP1 düzeyinde istatistiksel olarak belirgin bir artış görülmüştür (161).

Kim ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada C57BL/6J farelere 1 hafta boyunca toplam koşu mesafesi ve süresi ölçülerek koşma dayanıklılığı hesaplanmıştır. Elde

edinilen sonuçlara göre GRP78, ATF6, CHOP ve XBP1 düzeylerinde artış görülmüştür (162).

Çalışmamızda çizgili kasta hem ATF4 ve GRP78 seviyelerinde hem de XBP1 düzeyinde benzer artışların görülmesi yoğun egzersizin ER stresini tetiklediği yönündeki bulguları desteklemektedir.

5.7. Sol Ventrikül Kasında Egzersizin XBP1 Üzerine Etkisi

Çalışmamızda ER stresör olarak bilinen sol ventrikül XBP1 düzeyinin egzersiz yapılan grupta düştüğü görülmüştür. Aynı deneyde sol ventrikül kasında ATF4, GRP78 gibi diğer ER stres belirteçlerinde artış görülmesine rağmen XBP1 protein miktarının azalması ilginç bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda ER stresine yol açabilecek düzeyde yapılan yorucu egzersizlerin ER stres belirteçlerini (ATF4, GRP78, XBP1) birlikte yükselttiği belirtmiştir (149, 151, 157, 163). Jiao ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada kardiyovasküler uygunluğu değerlendirmek için %7 eğim ve 20 m/dk koşu ile başlayıp her 2 dakikada 1.5 m/dk artacak şekilde koşu bandında egzersiz yaptırılmış ve kalp dokusunda XBP1 proteinin mRNA ekspresyon seviyelerinde artış görülmüştür (164). Araştırmamızda XBP1 düzeyinde ortaya çıkan farklılığın sebebine yönelik daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

5.8. Resveratrolün Egzersiz ve ER Stresi Üzerine Etkisi

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre, sıçanlardan alınan sol ventrikül ve gastrocnemius kaslarında H-Ex+ RES grubunda ER stres belirteçleri GRP78, ATF4, XBP1 protein düzeyi değerlendirildiğinde H-Ex grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi. Bu durum egzersiz ve resveratrolün birlikte verilmesinin PERK yolunu düzenlenmesinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Bunun resveratrol ve düzenli egzersizin ER stresini engelleyebilme özelliğinden kaynaklanıyor olabilir.

a) Egzersiz ve Resveratrolün Gastrocnemius Kası Üzerine Etkisi

Resveratrolün egzersizde performansı ve dayanıklılığı artırıcı etkiye sahip olduğunu destekleyici yönde çalışma yapan Salomão ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada su akışına karşı zorlu yüzme egzersizinin her tankta 40 balık olacak şekilde 160 balık üzerinde 30 gün boyunca su akış hızı 12.7 cm/s ile başlayıp 27.5 cm/s olacak şekilde artırılmıştır. Her tanktan 8 balığın sırt yüzgecindeki epeksiyon alanından alınan kas örneklerinin analizi sonucunda resveratrol takviyesi (0.6 g/kg) ile uygulanan dirençli yüzme egzersizinin kas hipertrofisinde ve metabolizmasında artış gösterdiği belirlenmiştir (165).

Dolinsky ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada Wistar cinsi sıçanlara %0 eğim, 10 m/dk ile başlayıp son hafta 20 m/dk olacak şekilde günlük 60 dk 12 hafta boyunca koşu bandında egzersiz yaptırılmıştır. Resveratrol uygulamasının (4 g/kg) egzersiz protokolü ile birlikte uygulanmasının soleus kasından elde edilen verilere göre kas kuvvetini artırdığı gözlenmiştir. Bu durum resveratrolün egzersiz performansını artırıcı yöndeki görüşleri desteklemektedir (166).

Hart ve arkadaşlarının 13 aylık 24 LCR erkek sıçan üzerinde yapmış oldukları çalışmada resveratrol uygulamasının (100 mg/kg) 12 hafta boyunca 10 m/dk, günde 30 dk, %5 eğimde yapılan egzersiz üzerinde gastrocnemius kasında elde edilen analizlerden dayanıklılığını değiştirmedeği gözlenmiştir (167).

b) Resveratrolün Gastrocnemius Kasında ER Stres Üzerine Etkisi

Park ve arkadaşlarının 2018 yılında farelere 16 hafta boyunca haftada 4 gün, 10-14 m/dk, 40-60 dk/gün uygulanan koşu bandı egzersizinin resveratrol (25 mg/kg) takviyesi sonucunda iskelet kasında GRP78 düzeyini azalttığı saptanmıştır (168).

Buna karşın Skrobuk ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada 6 sağlıklı erkek bireyden lokal anestezi altında vastus lateralis kasından kas lifleri izole edilmiş. İzole edilen kas lifleri hücre kültürü ortamında çoğaltılan miyotüpler 24 saat süre resveratrol (100 μ mol/l) ile inkübe edilmiştir. ER stres cevabında multifonksiyonel transkripsiyon faktör olan CHOP analizi sonucunda uygulanan resveratrol takviyesinin vastus lateralis kasında ER stresini artırdığı göstermişlerdir (169).

Sin ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada 2 aylık SAMP8 erkek farelere 10 aylık olana kadar resveratrol (4.9 mg/kg) diyet takviyesi uygulanmış, yüzme dayanıklılık performansı ölçülmüş ve deney sonunda lateral gastrocnemius kasları alınmıştır. Elde edilen veriler sonucunda resveratrolün kas fonksiyonu ve dayanıklılığını artırdığını, oksidatif stresi azalttığı yönünde veriler elde edilmiştir (170).

Ardid ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada erkek Wistar cinsi sıçanlara 22 gün boyunca 50, 100 ve 200 mg/kg resveratrol uygulaması yapılmıştır. Alınan iskelet kasında resveratrolün verilme dozajı arttıkça ER stres belirteçleri olan XBP1, ATF4 ve CHOP düzeyinde azalma görülmüştür (171).

c) Egzersiz ve Resveratrolün Sol Ventrikül Kası Üzerine Etkisi

Lin ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada 18 aylık yaşlı sıçanlara 1 ay boyu yüzme egzersizi ile birlikte resveratrol (15 mg/kg/gün) uygulaması yapılmıştır.

Deney sonunda resveratrolün SIRT1 sinyal yolunu aktive ederek egzersiz yapılan gruba göre kalp dokusunda fonksiyonel açıdan olumlu etkileri gözlemlenmiştir (172).

Bir polifenol türü olan resveratrol, egzersiz sırasında artan oksijen (O₂) ihtiyacını karşılamak için mitokondriyal biyogenezi uyarır. Bu durum daha fazla mitokondri oluşumuna ve oksijen kullanımını daha verimli hale getirmeye çalışır (166). Bu durumun tersini gösteren Gliemann ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada 60-72 yaş arası, sağlıklı, haftada 2 saatten az orta yoğunlukta fiziksel aktivite yapan 27 erkek bireyin her birine haftada 2 kez olacak şekilde 8 hafta süresince yüksek yoğunluklu aralıklı egzersiz (bisiklet ergometresi) ve haftada 1 kez tam vücut devre antremanı (Crossfit) yaptırılmıştır. HIIT egzersizi yaptırılan kişilerden rastgele 13 kişi seçilerek günlük 250 mg resveratrol kullanılmıştır. Deney sonunda elde edilen verilere göre yaptırılan yüksek yoğunluklu aralıklı egzersizin kalp fonksiyonları üzerinde olumlu etkileri oluşturduğunu ama resveratrol takviyesinin bu olumlu etkiyi körelttiği gözlenmiştir (177). Bunun nedeninin resveratrolün düşük yoğunlukta oluşan düşük düzeydeki serbest oksijen radikallerinin hücre fonksiyonlarını üzerindeki düzenleyici etkilerini engellediğinden dolayı gerçekleşmiş olabilir (177). Sonuç olarak resveratrolün her zaman egzersiz performansını geliştirdiği düşüncesi çelişkilidir. Resveratrolün tek başına mı yoksa egzersizle birlikte uygulanması gerektiğini anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

d) Resveratrolün Sol Ventrikül Kasında ER Stres Üzerine Etkisi

Bal ve arkadaşlarının 2022 yılında yapmış oldukları çalışmada hipertansif Wistar cinsi sıçanlara 6 hafta boyunca koşu bandında haftada 3 gün, 15-20 m/dk ve günde 15 dk düzenli egzersiz ve resveratrol (15 mg/kg) uygulamasının sonucunda kardiyak disfonksiyonu ve ER stresini belirgin düzeyde azalttığı gözlenmiştir (173).

Lin ve arkadaşlarının 2016 yılında yapmış oldukları bir çalışmada 2-3 günlük yenidoğan Wistar cinsi sıçanlardan hücre kültüründen elde edilen kardiyomiyositlere 50 µM resveratrol uygulandı. Deney sonunda GRP78, GRP94 e CHOP proteinlerine bakıldığında resveratrol uygulamasının ER stresini azalttığı görülmüştür (174).

Resveratrolün kalp kasında ER stresi üzerine etkinliğini gösteren çalışmaların yetersiz olmasından dolayı daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Mevcut tez çalışmamızın sonuçlarına göre sol ventrikülde resveratrol uygulamasının egzersiz ile artmış olan GRP78 ve ATF4 seviyelerini düşürdüğünü ancak

XBP1 seviyesinin ise egzersize bağılı olarak düşmüş olan XBP1 düzeyini daha da azalttığı görüldü.

Resveratrolün çeşitli dokularda ER stresi üzerinde etkinliği araştırılmıştır. Zhao ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada C57BL/6J farelerine günde resveratrol (60 mg/kg) verilmesi sonucu 12 haftanın sonunda karaciğer dokusunda ATF4 düzeyinde azalma olduğu görülmüştür. Bu durum resveratrolün endoplazmik retikulum stresini önemli derecede azaltabileceğini göstermiştir (175).

Resveratrol benzeri polifenol bir bileşik olan kurkimin üzerine Zhang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Sprague Dawley sıçanlarına haftada 4 gün 8 hafta boyunca kurkimin uygulamasından 4 saat sonra egzersiz uygulanmıştır. Aerobik koşu bandı egzersizinin kurkumin ile birleşimi sonucu ER stresi yumurtalık dokusunda IRE1 α -XBP1 seviyesinde azalma görülmüştür (176).

Başka çalışmalarda sıçanlara bir ay süren yüzme egzersizi ile birlikte resveratrol (15 mg/kg/gün) uygulamasının oksidatif stres üzerinde olumlu etkisini göstermişlerdir ve ayrıca bazı durumlarda ise uygulanan resveratrol dozunun (3.1 mg/kg/gün) (177, 178), genellikle hayvan deneylerinde olumlu etkiler oluşturan resveratrol dozundan (10 mg/kg/gün) düşük olmasına rağmen olumlu etkileri görülmüştür. Bu durumdan çalışmada kullanılan resveratrol dozunun deney türüne göre belirlenmesi gerektiğini çıkartabiliriz. Bu duruma en iyi örnek Laupheimer ve arkadaşlarının Londra maratonunda koşan sporcular üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada koşudan önce sporculara 600 mg/gün resveratrol verilmiş ve sonucunda resveratrol verilen grup ile plasebo grup arasında kas dokusunda anlamlı farklılık bulunamamıştır (179). Benzer bir çalışmada, Scribbans ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada haftada 3 gün 4 hafta boyunca süren yüksek yoğunluklu aralıklı antreman (HIIT) ile resveratrol (150 mg) uygulamasının kas fonksiyonu üzerinde herhangi bir yanıtı gözlenmemiştir (180). Ancak yapılan araştırmaların azlığından dolayı, resveratrol ve egzersizin ER stresi üzerindeki etki mekanizmasının anlaşılması için daha detaylı çalışmalar yapılması gerekir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1- Yüksek yoğunlukta yapılan yüzme egzersizi hem kalp hem de iskelet kasında ER stresini artırmıştır. Bu yüzden özellikle yüzme egzersizlerinde kalp ve iskelet kas sağlığının korunması adına orta şiddette, çok yorucu ve süresi uzun olmayan egzersizlerin tercih edilmesinde yarar vardır.

2- ER stres belirteçlerinden XBP1 düzeyi yoğun egzersiz uygulanan H-Ex grupta kontrol grubuna göre iskelet kasında artarken kalp kasında ise azaldığı görülmüştür. Bu beklenmedik bulguyu aydınlatmak için ağır egzersiz yaptırılan deneklerin kalp kasında XBP1'e yönelik mekanizmanın aydınlatılması için daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

3- Şiddetli yüzme egzersizi yaptırılan sıçanlarda şiddetli yüzme egzersizi+RES gruptaki sıçanlara göre resveratrol sol ventrikül ve gastrocnemius kasında ER stres belirteci olan GRP78 ve ATF4 düzeyinin artışını engelledi. XBP1 seviyesinin ise resveratrol uygulanan sıçanlarda sol ventrikül kasında kontrol grubuna ve yoğun egzersiz yapılan gruba göre daha düşük olduğu görüldü. Ancak çizgili kasta ise resveratrol XBP1 protein düzeyinin yükselmesini engelledi.

4- Bu tez çalışmasında resveratrolün yoğun egzersiz programının tetiklediği ER stresini önemli bir derece azalttığı belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre yoğun egzersiz programının uygulanması gerektiği zorunlu durumlarda resveratrol hem kalp hem de iskelet kas sağlığının korunması bakımından önemli olabilir. Bu çalışmada elde edilen bulguların zorlu egzersiz yaptırılan sporcularda yapılacak klinik çalışmalarla teyit edilmesi gerekir.

KAYNAKÇA

1. Ruegsegger GN, Frank WB. Health benefits of exercise. *Cold Spring Harb. perspect. med.* 2018, 8.7: a029694.
2. Biddle SJ, Markland D, Gilbourne D, Chatzisarantis NL, Sparkes AC. Research methods in sport and exercise psychology: Quantitative and qualitative issues. *J Sports Sci* 2001, 1910: 777-809.
3. Fiziksel aktivite ve dünya sağlık örgütünün bakış açısı. <https://www.researchgate.net/publication/312309530> Son Erişim Tarihi 22 Aralık 2023.
4. Tang Y, Li J, Gao C, Xu Y, Li Y, Yu X, Wang J, Liu L, Yao P. Hepatoprotective effect of quercetin on endoplasmic reticulum stress and inflammation after intense exercise in mice through phosphoinositide 3-kinase and nuclear factor-kappa B. *Oxid Med Cell Longev* 2016, 2016.
5. Korkmaz K. Farklı şiddetteki aerobik egzersizin endoplazmik retikulum stresine ve IL-23 düzeyine etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2019.
6. Marafon BB, Pinto AP, Ropelle ER, de Moura LP, Cintra DE, Pauli JR, da Silva AS. Muscle endoplasmic reticulum stress in exercise. *Acta Physiol* 2022, 2351: e13799.
7. Palade GE. The endoplasmic reticulum. *J Biophys Biochem Cytol* 1956, 24 Suppl: 85-98.
8. Ellgaard L, Helenius A. Quality control in the endoplasmic reticulum. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003, 43: 181-91.
9. Bánhegyi G, Baumeister P, Benedetti A, Dong D, Fu Y, Lee AS, Li J, Mao C, Margittai E, Ni M. Endoplasmic reticulum stress. *Ann N Y Acad Sci* 2007, 11131: 58-71.
10. Nishikawa S-i, Brodsky JL, Nakatsukasa K. Roles of molecular chaperones in endoplasmic reticulum (ER) quality control and ER-associated degradation (ERAD). *J Biochem* 2005, 1375: 551-5.
11. Shen X, Zhang K, Kaufman RJ. The unfolded protein response—a stress signaling pathway of the endoplasmic reticulum. 2004, 281-2: 79-92.
12. Kaufman RJ. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. *JCI* 2002, 11010: 1389-98.

13. Frémont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci* 2000, 668: 663-73.
14. Shaito A, Posadino AM, Younes N, Hasan H, Halabi S, Alhababi D, Al-Mohannadi A, Abdel-Rahman WM, Eid AH, Nasrallah GK, Pintus G. Potential adverse effects of resveratrol: a literature review. *Int J Mol Sci* 2020, 216.
15. Ergin K, Yaylalı A. Resveratrol ve etkileri üzerine bir gözden geçirme. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2013, 203: 115-20.
16. Cui J-Q, Bai Y-P, Su M, Song W-W, Lin C, Wu L, Zhang H-Y. Effects of different intensities exercise combined with resveratrol on RBP4 in aged obese rats. *Zhongguo yingyong shenglixue zazhi* 2017, 335: 461-5.
17. Ahmadi A, Hayes AW, Karimi G. Resveratrol and endoplasmic reticulum stress: A review of the potential protective mechanisms of the polyphenol. *Phytother Res* 2021, 3510: 5564-83.
18. Gualano B, Pinto AL, Perondi MB, Roschel H, Sallum AM, Hayashi AP, Solis MY, Silva CA. Therapeutic effects of exercise training in patients with pediatric rheumatic diseases. *Rev Bras Reumatol* 2011, 515: 490-6.
19. Guazzi M, Bandera F, Ozemek C, Systrom D, Arena R. Cardiopulmonary exercise testing: what is its value? *J Am Coll Cardiol.* 2017, 70.13: 1618-1636.
20. Çabuk R, Çayır H, Yıldız M, Tuğba O, Cincioğlu G, Adanur O, Kayacan Y. Egzersizin fizyolojik sistemler üzerine etkileri: sistematik derleme. *Helal Yaşam Tıbbi Dergisi* 2020, 21: 21-38.
21. Erdoğan DG, Aslan İ. Egzersiz ve egzersizin homeostatik fizyolojik etkileri, 1. Baskı. Ankara, Duvar Kitabevi, 2021: 67.
22. Duzova H, Karakoc Y, Emre MH, Dogan ZY, Kilinc E. Effects of acute moderate and strenuous exercise bouts on IL-17 production and inflammatory response in trained rats. *J Sports Sci Med* 2009, 82: 219.
23. Owen PJ, Miller CT, Mundell NL, Verswijveren S, Tagliaferri SD, Brisby H, Bowe SJ, Belavy DL. Which specific modes of exercise training are most effective for treating low back pain? Network meta-analysis. *Br J Sports Med* 2020, 5421: 1279-87.
24. Kirk-Sanchez NJ, McGough EL. Physical exercise and cognitive performance in the elderly: current perspectives. *Clin Interv Aging* 2014, 9: 51-62.
25. Hellsten Y, Nyberg M. Cardiovascular adaptations to exercise training. *Compr Physiol* 2015, 61: 1-32.

26. Scotto di Palumbo A, Guerra E, Orlandi C, Bazzucchi I, Sacchetti M. Effect of combined resistance and endurance exercise training on regional fat loss. *J Sports Med Phys Fitness* 2017, 576: 794-801.
27. Hashida R, Kawaguchi T, Bekki M, Omoto M, Matsuse H, Nago T, Takano Y, Ueno T, Koga H, George J, Shiba N, Torimura T. Aerobic vs. resistance exercise in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review. *J Hepatol* 2017, 661: 142-52.
28. Menz V, Marterer N, Amin SB, Faulhaber M, Hansen AB, Lawley JS. Functional vs. running low-volume high-intensity interval training: Effects on VO(2)max and Muscular Endurance. *J Sports Sci Med* 2019, 183: 497-504.
29. Torres-Pareja M, Sánchez-Lastra MA, Iglesias L, Suárez-Iglesias D, Mendoza N, Ayán C. Exercise interventions for improving flexibility in people with multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Med* 2019, 5511.
30. Sağınç S, Demirci N, Karaca A. Ev hanımlarının fiziksel aktivite şiddeti ve alanlarına göre enerji harcaması, adım sayısı ve oturma süresi. *Spor Bilimleri Dergisi* 2020, 312: 54-68.
31. Bay ÜS, Yılmaz E. Ruhsal bozukluklarda fiziksel aktivite ve egzersizin etkileri ile ilgili yapılmış çalışmaların incelenmesi. *MJSS* 2020, 32: 437-47.
32. Demir R, Küçüköğlu MS. Pulmoner arter hipertansiyonunda egzersiz kapasitesinin değerlendirilmesi. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi* 2010, 388: 580-8.
33. Uzun M. Kardiyovasküler sistem ve egzersiz. *J Cardiovasc Nurs* 2016, 7Sup 2: 48-53.
34. Şenışık S. Kanser ve egzersiz. *Spor Hekimliği Dergisi* 2014, 493: 099-110.
35. Şenışık SÇ. Egzersiz ve bağışıklık sistemi. *Spor Hekimliği Dergisi* 2015, 501: 011-20.
36. Tüzün M. Fiziksel aktivite ve kemik yoğunluğu. *GaziBESBD* 2002, 74: 43-54.
37. Yoncalık MT. Egzersiz ve bazal metabolizma, 1. Basım. İstanbul, Efe akademi yayınları, 2023: 45
38. Febbraio MA. Exercise and inflammation. *J Appl Physiol* 2007, 1031: 376-7.
39. Pedersen BK. Exercise and cytokines. *Immunol Cell Biol* 2000, 785: 532-5.
40. Kawada S, Kobayashi K, Ohtani M, Fukusaki C. Cystine and theanine supplementation restores high-intensity resistance exercise-induced attenuation of

- natural killer cell activity in well-trained men. *J Strength Cond Res* 2010, 243: 846-51.
41. Miles MP, Kraemer WJ, Grove DS, Leach SK, Dohi K, Bush JA, Marx JO, Nindl BC, Volek JS, Mastro AM. Effects of resistance training on resting immune parameters in women. *Eur J Appl Physiol* 2002, 87: 506-8.
 42. Schröder M, Kaufman RJ. The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem* 2005, 74: 739-89.
 43. Pottekat A, Becker S, Spencer KR, Yates JR, Manning G, Itkin-Ansari P, Balch WE. Insulin biosynthetic interaction network component, TMEM24, facilitates insulin reserve pool release. *Cell Rep* 2013, 45: 921-30.
 44. Schwarz DS, Blower MD. The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. *Cell Mol Life Sci* 2016, 731: 79-94.
 45. Stolz A, Wolf DH. Endoplasmic reticulum associated protein degradation: a chaperone assisted journey to hell. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2010, 18036: 694-705.
 46. Hoseki J, Ushioda R, Nagata K. Mechanism and components of endoplasmic reticulum-associated degradation. *J Biochem* 2010, 1471: 19-25.
 47. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular biology of the cell, 6th ed. New York, Taylor and Francis group, 2015:
 48. A Tourists Guide to Cellville. <https://ajweinmann.wordpress.com/endoplasmic-reticulum/>. Son Erişim Tarihi 21 Aralık 2023
 49. Hartl FU, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science* 2002, 2955561: 1852-8.
 50. Ellis RJ, Van der Vies SM. Molecular chaperones. *Annu Rev Biochem* 1991, 601: 321-47.
 51. Möbius J, Groos S, Meinhardt A, Seitz J. Differential distribution of the mitochondrial heat-shock protein 60 in rat gastrointestinal tract. *Cell Tissue Res* 1997, 287: 343-50.
 52. Deocaris CC, Kaul SC, Wadhwa R. On the brotherhood of the mitochondrial chaperones mortalin and heat shock protein 60. *Cell stress chaperones* 2006, 112: 116.
 53. Macario AJ, de Macario EC. Sick chaperones, cellular stress, and disease. *NEJM* 2005, 35314: 1489-501.

54. Hartl FU, Bracher A, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nat Rev Immunol* 2011, 4757356: 324-32.
55. Wang M, Kaufman R. Protein misfolding in the endoplasmic reticulum as a conduit to human disease. *Nat Rev Immunol* 2016, 5297586: 326-35.
56. Ma Y, Hendershot LM. ER chaperone functions during normal and stress conditions. *J Chem Neuroanat* 2004, 281-2: 51-65.
57. Argon Y, Simen BB, editors. GRP94, an ER chaperone with protein and peptide binding properties. *Semin Cell Dev Biol*; 1999: Elsevier.
58. Lütcke H. Signal recognition particle (SRP), a ubiquitous initiator of protein translocation. *Eur J Biochem* 1995, 2283: 531-50.
59. Li Z, Srivastava P. Heat-shock proteins. *Curr Protoc Immunol* 2003, 581: A. 1T. -A. T. 6.
60. Kaufmann SH. Heat shock proteins and the immune response. *Immunol Today* 1990, 11: 129-36.
61. Tsan M-F, Gao B. Heat shock proteins and immune system. *J Leukoc Biol* 2009, 856: 905-10.
62. Henle KJ, Jethmalani SM, Nagle WA. Stress proteins and glycoproteins. *Int J Mol Med* 1998, 11: 25-57.
63. Oda A, Miyata M, Kodama E, Satoh H, Sato Y, Nishimaki T, Nomaguchi H, Kasukawa R. Antibodies to 65Kd heat-shock protein were elevated in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 1994, 13: 261-4.
64. Padmini E, Geetha BV. Placental heat shock protein 70 overexpression confers resistance against oxidative stress in preeclampsia. *Turk J Med Sci* 2008, 381: 27-34.
65. Turunc V. The determination of oxidative stress by paraoxonase activity, heat shock protein and lipid profile levels in cattle with theileriosis. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012, 184.
66. Noble EG, Milne KJ, Melling CJ. Heat shock proteins and exercise: a primer. *Appl Physiol Nutr Metab* 2008, 335: 1050-75.
67. Fehrenbach E, Northoff H. Free radicals, exercise, apoptosis, and heat shock proteins. *Exerc Immunol Rev* 2001, 7: 66-89.
68. Fehrenbach E, Niess A. Role of heat shock proteins in the exercise response. *Exerc Immunol Rev* 1999, 5: 57-77.

69. Xu C, Bailly-Maitre B, Reed JC. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *JCI* 2005, 11510: 2656-64.
70. Bánhegyi G, Baumeister P, Benedetti A, Dong D, Fu Y, Lee AS, Li J, Mao C, Margittai E, Ni M, Paschen W, Piccirella S, Senesi S, Sitia R, Wang M, Yang W. Endoplasmic reticulum stress. *Ann N Y Acad Sci* 2007, 1113: 58-71.
71. Oakes SA, Papa FR. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2015, 10: 173-94.
72. Høyer-Hansen M, Jäättelä M. Connecting endoplasmic reticulum stress to autophagy by unfolded protein response and calcium. *Cell Death Differ* 2007, 149: 1576-82.
73. Basseri S, Austin RC. Endoplasmic reticulum stress and lipid metabolism: mechanisms and therapeutic potential. *Biochem Res Int* 2012, 2012.
74. Zhao L, Ackerman SL. Endoplasmic reticulum stress in health and disease. *COCEBI* 2006, 184: 444-52.
75. Ibrahim IM, Abdelmalek DH, Elfiky AA. GRP78: A cell's response to stress. *Life Sci* 2019, 226: 156-63.
76. Gonzalez-Gronow M, Selim MA, Papalas J, Pizzo SV. GRP78: a multifunctional receptor on the cell surface. *ARS* 2009, 119: 2299-306.
77. Little E, Ramakrishnan M, Roy B, Gazit G, Lee AS. The glucose-regulated proteins (GRP78 and GRP94): functions, gene regulation, and applications. *Crit Rev Eukaryot* 1994, 41: 1-18.
78. Misra UK, Deedwania R, Pizzo SV. Activation and cross-talk between Akt, NF- κ B, and unfolded protein response signaling in L-LN prostate cancer cells consequent to ligation of cell surface-associated GRP78. *J Biol Chem* 2006, 28119: 13694-707.
79. Pfaffenbach KT, Lee AS. The critical role of GRP78 in physiologic and pathologic stress. *COCEBI* 2011, 232: 150-6.
80. Inagi R. Endoplasmic reticulum stress as a progression factor for kidney injury. *COCEBI* 2010, 102: 156-65.
81. Wang M, Wey S, Zhang Y, Ye R, Lee AS. Role of the unfolded protein response regulator GRP78/BiP in development, cancer, and neurological disorders. *ARS* 2009, 119: 2307-16.
82. Li J, Lee AS. Stress induction of GRP78/BiP and its role in cancer. *Curr Mol Med* 2006, 61: 45-54.

83. Shen X, Zhang K, Kaufman RJ. The unfolded protein response—a stress signaling pathway of the endoplasmic reticulum. *J Chem Neuroanat* 2004, 281-2: 79-92.
84. Zhang K, Kaufman RJ. The unfolded protein response: a stress signaling pathway critical for health and disease. *Neurology* 2006, 661 suppl 1: S102-S9.
85. Adams CJ, Kopp MC, Larburu N, Nowak PR, Ali MM. Structure and molecular mechanism of ER stress signaling by the unfolded protein response signal activator IRE1. *Front Mol Biosci* 2019, 6: 11.
86. Liu L, Zhang Y, Wang Y, Peng W, Zhang N, Ye Y. Progesterone inhibited endoplasmic reticulum stress associated apoptosis induced by interleukin-1 β via the GRP78/PERK/CHOP pathway in BeWo cells. *J Obstet Gynaecol* 2018, 443: 463-73.
87. Harding HP, Zhang Y, Bertolotti A, Zeng H, Ron D. Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response. *Mol Cell Biochem* 2000, 55: 897-904.
88. Harding HP, Zhang Y, Zeng H, Novoa I, Lu PD, Calton M, Sadri N, Yun C, Popko B, Paules R. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol Cell Biochem* 2003, 113: 619-33.
89. Rozpedek W, Pytel D, Mucha B, Leszczynska H, Diehl JA, Majsterek I. The role of the PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP signaling pathway in tumor progression during endoplasmic reticulum stress. *Curr Mol Med* 2016, 166: 533-44.
90. Cao J, Dai D-L, Yao L, Yu H-H, Ning B, Zhang Q, Chen J, Cheng W-H, Shen W, Yang Z-X. Saturated fatty acid induction of endoplasmic reticulum stress and apoptosis in human liver cells via the PERK/ATF4/CHOP signaling pathway. *Mol Cell Biochem* 2012, 364: 115-29.
91. Flamment M, Hajduch E, Ferré P, Foufelle F. New insights into ER stress-induced insulin resistance. *TEM* 2012, 238: 381-90.
92. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO reports* 2006, 79: 880-5.
93. Chen X, Shen J, Prywes R. The Luminal Domain of ATF6 Senses endoplasmic reticulum (ER) stress and causes translocation of ATF6 from the ER to the golgi*. *J Biol Chem* 2002, 27715: 13045-52.
94. Verfaillie T, Rubio N, Garg A, Bultynck G, Rizzuto R, Decuypere J, Piette J, Linehan C, Gupta S, Samali A. PERK is required at the ER-mitochondrial contact

- sites to convey apoptosis after ROS-based ER stress. *Cell Death Differ* 2012, 1911: 1880-91.
95. Harding HP, Zhang Y, Ron D. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. *Nat Rev Immunol* 1999, 3976716: 271-4.
 96. Haze K, Yoshida H, Yanagi H, Yura T, Mori K. Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *MBoC* 1999, 1011: 3787-99.
 97. Thuerauf DJ, Morrison L, Glembotski CC. Opposing roles for ATF6 α and ATF6 β in endoplasmic reticulum stress response gene induction. *J Biol Chem* 2004, 27920: 21078-84.
 98. Lin T, Lee JE, Kang JW, Shin HY, Lee JB, Jin DI. Endoplasmic reticulum (ER) stress and unfolded protein response (UPR) in mammalian oocyte maturation and preimplantation embryo development. *Int J Mol Sci* 2019, 202: 409.
 99. Maiuolo J, Bulotta S, Verderio C, Benfante R, Borgese N. Selective activation of the transcription factor ATF6 mediates endoplasmic reticulum proliferation triggered by a membrane protein. *PNAS* 2011, 10819: 7832-7.
 100. Wu J, Rutkowski DT, Dubois M, Swathirajan J, Saunders T, Wang J, Song B, Yau GD-Y, Kaufman RJ. ATF6 α optimizes long-term endoplasmic reticulum function to protect cells from chronic stress. *Dev Cell* 2007, 133: 351-64.
 101. Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, Okada T, Mori K. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell* 2001, 1077: 881-91.
 102. Rasheva VI, Domingos PM. Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Apoptosis* 2009, 14: 996-1007.
 103. Back SH, Schröder M, Lee K, Zhang K, Kaufman RJ. ER stress signaling by regulated splicing: IRE1/HAC1/XBP1. *Methods* 2005, 354: 395-416.
 104. Ma JH, Wang JJ, Zhang SX. The unfolded protein response and diabetic retinopathy. *J Diabetes Res* 2014, 2014.
 105. Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, Okada T, Mori K. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell* 2001, 1077: 881-91.
 106. Cubillos-Ruiz JR, Silberman PC, Rutkowski MR, Chopra S, Perales-Puchalt A, Song M, Zhang S, Bettigole SE, Gupta D, Holcomb K. ER stress sensor XBP1

- controls anti-tumor immunity by disrupting dendritic cell homeostasis. *Cell Mol Life Sci* 2015, 1617: 1527-38.
107. Gülçin İ. Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. *IFSET* 2010, 111: 210-8.
 108. Pezzuto JM. Resveratrol: twenty years of growth, development and controversy. *Biomol Ther* 2019, 271: 1.
 109. Soleas G, Yan J, Goldberg D. Ultrasensitive assay for three polyphenols (catechin, quercetin and resveratrol) and their conjugates in biological fluids utilizing gas chromatography with mass selective detection. *J Chromatogr B Biomed Appl* 2001, 7571: 161-72.
 110. Frémont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci* 2000, 668: 663-73.
 111. Wenzel E, Somoza V. Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. *Mol Nutr Food Res* 2005, 495: 472-81.
 112. Sessa M, Tsao R, Liu R, Ferrari G, Donsì F. Evaluation of the stability and antioxidant activity of nanoencapsulated resveratrol during in vitro digestion. *J Agric Food Chem* 2011, 5923: 12352-60.
 113. King RE, Bomser JA, Min DB. Bioactivity of resveratrol. *CRFSFS* 2006, 53: 65-70.
 114. Das S, Lin H-S, Ho PC, Ng K-Y. The impact of aqueous solubility and dose on the pharmacokinetic profiles of resveratrol. *Pharm Res* 2008, 25: 2593-600.
 115. Chen M-l, Yi L, Jin X, Xie Q, Zhang T, Zhou X, Chang H, Fu Y-j, Zhu J-d, Zhang Q-y. Absorption of resveratrol by vascular endothelial cells through passive diffusion and an SGLT1-mediated pathway. *JNB* 2013, 2411: 1823-9.
 116. Kunter B, Cantürk S, Keskin N. Histochemical structure of grape berry. *JIST* 2013, 32: 17-24.
 117. Walle T. Bioavailability of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci* 2011, 12151: 9-15.
 118. Walle T, Hsieh F, DeLegge MH, Oatis JE, Walle UK. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab Dispos* 2004, 3212: 1377-82.
 119. Bertelli A, Giovannini L, Bernini W, Migliori M, Fregoni M, Bavaresco L, Bertelli A. Antiplatelet activity of cis-resveratrol. *Drugs Exp Clin Res* 1996, 222: 61-3.
 120. Chen M-l, Yi L, Zhang Y, Zhou X, Ran L, Yang J, Zhu J-d, Zhang Q-y, Mi M-t. Resveratrol attenuates trimethylamine-N-oxide (TMAO)-induced atherosclerosis

- by regulating TMAO synthesis and bile acid metabolism via remodeling of the gut microbiota. *MBio* 2016, 72: 10.1128/mbio. 02210-15.
121. Nunes S, Danesi F, Del Rio D, Silva P. Resveratrol and inflammatory bowel disease: The evidence so far. *Nutr Res Rev* 2018, 311: 85-97.
 122. Nicholson SK, Tucker GA, Brameld JM. Effects of dietary polyphenols on gene expression in human vascular endothelial cells. *Proc Nutr Soc* 2008, 671: 42-7.
 123. Gurusamy N, Lekli I, Mukherjee S, Ray D, Ahsan MK, Gherghiceanu M, Popescu LM, Das DK. Cardioprotection by resveratrol: a novel mechanism via autophagy involving the mTORC2 pathway. *Cardiol Res* 2010, 861: 103-12.
 124. Bertelli AA, Das DK. Grapes, wines, resveratrol, and heart health. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009, 546: 468-76.
 125. Breuss JM, Atanasov AG, Uhrin P. Resveratrol and its effects on the vascular system. *Int J Mol Sci* 2019, 207.
 126. Chen J, Liu Y, Liu Y, Peng J. Resveratrol protects against ox-LDL-induced endothelial dysfunction in atherosclerosis via depending on circ_0091822/miR-106b-5p-mediated upregulation of TLR4. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2022, 446: 915-24.
 127. Sha W, Liu M, Sun D, Qiu J, Xu B, Chen L, Shen T, Chen C, Wang H, Zhang C, Lei T. Resveratrol improves Glyc-LDL-induced vascular endothelial cell apoptosis, inflammatory factor secretion and oxidative stress by regulating miR-142-3p and regulating SPRED2-mediated autophagy. *Aging (Albany NY)* 2021, 135: 6878-89.
 128. Cui B, Wang Y, Jin J, Yang Z, Guo R, Li X, Yang L, Li Z. Resveratrol treats uvb-induced photoaging by anti-mmp expression, through anti-inflammatory, antioxidant, and antiapoptotic properties, and treats photoaging by upregulating VEGF-B expression. *Oxid Med Cell Longev* 2022, 2022: 6037303.
 129. Xia N, Daiber A, Förstermann U, Li H. Antioxidant effects of resveratrol in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol* 2017, 17412: 1633-46.
 130. Rauf A, Imran M, Butt MS, Nadeem M, Peters DG, Mubarak MS. Resveratrol as an anti-cancer agent: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2018, 589: 1428-47.
 131. Mahjabeen W, Khan DA, Mirza SA. Role of resveratrol supplementation in regulation of glucose hemostasis, inflammation and oxidative stress in patients with diabetes mellitus type 2: A randomized, placebo-controlled trial. *Complement Ther Med* 2022, 66: 102819.

132. Menet MC, Baron S, Taghi M, Diestra R, Dargère D, Laprévotte O, Nivet-Antoine V, Beaudeau JL, Bédarida T, Cottart CH. Distribution of trans-resveratrol and its metabolites after acute or sustained administration in mouse heart, brain, and liver. *Mol Nutr Food Res* 2017, 618.
133. Zhang X, Jiang L, Chen H, Wei S, Yao K, Sun X, Yang G, Jiang L, Zhang C, Wang N, Wang Y, Liu X. Resveratrol protected acrolein-induced ferroptosis and insulin secretion dysfunction via ER-stress- related PERK pathway in MIN6 cells. *Toxicology* 2022, 465: 153048.
134. Zhu H, Li X, Qiao M, Sun X, Li G. Resveratrol Alleviates inflammation and ER stress through SIRT1/NRF2 to delay ovarian aging in a short-lived fish. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2023, 784: 596-602.
135. Anapali M, Kaya-Dagistanli F, Akdemir AS, Aydemir D, Ulus NN, Ulutin T, Uysal O, Tanriverdi G, Ozturk M. Combined resveratrol and vitamin D treatment ameliorate inflammation-related liver fibrosis, ER stress, and apoptosis in a high-fructose diet/streptozotocin-induced T2DM model. *Histochem Cell Biol* 2022, 1583: 279-96.
136. Su LY, Huang WC, Kan NW, Tung TH, Huynh LBP, Huang SY. Effects of resveratrol on muscle inflammation, energy utilisation, and exercise performance in an eccentric contraction exercise mouse model. *Nutrients* 2023, 151.
137. Polley KR, Jenkins N, O'Connor P, McCully K. Influence of exercise training with resveratrol supplementation on skeletal muscle mitochondrial capacity. *Appl Physiol Nutr Metab* 2016, 411: 26-32.
138. Frontera WR, Ochala J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. *Calcif Tissue Int* 2015, 963: 183-95.
139. Afroze D, Kumar A. ER stress in skeletal muscle remodeling and myopathies. *Febs j* 2019, 2862: 379-98.
140. Gallot YS, Bohnert KR. Confounding roles of er stress and the unfolded protein response in skeletal muscle atrophy. *Int J Mol Sci* 2021, 225.
141. Winegrad S. Calcium release from cardiac sarcoplasmic reticulum. *Annu Rev Physiol* 1982, 44: 451-62.
142. Jin JK, Blackwood EA, Azizi K, Thuerauf DJ, Fahem AG, Hofmann C, Kaufman RJ, Doroudgar S, Glembotski CC. ATF6 decreases myocardial ischemia/reperfusion damage and links er stress and oxidative stress signaling pathways in the heart. *Circ Res* 2017, 1205: 862-75.

143. da Luz G, Frederico MJ, da Silva S, Vitto MF, Cesconetto PA, de Pinho RA, Pauli JR, Silva AS, Cintra DE, Ropelle ER, De Souza CT. Endurance exercise training ameliorates insulin resistance and reticulum stress in adipose and hepatic tissue in obese rats. *Eur J Appl Physiol* 2011, 1119: 2015-23.
144. Kim Y, Park M, Boghossian S, York DA. Three weeks voluntary running wheel exercise increases endoplasmic reticulum stress in the brain of mice. *Brain Res* 2010, 1317: 13-23.
145. Doğru Y, Büyükyazı G, Ulman C, Taneli F, Tıkız H, Göral M, Esen H. Effects of two different eight-week walking programs on insulin resistance and ER stress-related markers in pre-menopausal women/premenopozal kadınlarda 8 haftalık farklı şiddetteki yürüyüş antrenmanlarının insülin direnci ve ER stresiyile ilişkili markerler üzerine etkileri. *TJB* 2016, 415: 322-30.
146. Speretta GFF, Rosante MC, Duarte FO, Leite RD, Lino ADdS, Andre RA, Silvestre JGdO, Araujo HSSd, Duarte ACGdO. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. *Clinics* 2012, 67: 1469-77.
147. Gobatto CA, De Mello MAR, Sibuya CY, De Azevedo JRM, Dos Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol Part A Mol Integr Physio* 2001, 1301: 21-7.
148. Miyatake K, Muneta T, Ojima M, Yamada J, Matsukura Y, Abula K, Sekiya I, Tsuji K. Coordinate and synergistic effects of extensive treadmill exercise and ovariectomy on articular cartilage degeneration. *BMC Musculoskelet Disord* 2016, 171: 1-11.
149. Belaya I, Suwa M, Chen T, Giniatullin R, Kanninen KM, Atalay M, Kumagai S. Long-term exercise protects against cellular stresses in aged mice. *Oxid Med Cell Longev* 2018, 2018.
150. Shin Y, Klucken J, Patterson C, Hyman BT, McLean PJ. The co-chaperone carboxyl terminus of Hsp70-interacting protein (CHIP) mediates α -synuclein degradation decisions between proteasomal and lysosomal pathways. *J Biol Chem* 2005, 28025: 23727-34.
151. Pereira BC, Da Rocha AL, Pinto AP, Pauli JR, De Souza CT, Cintra DE, Ropelle ER, De Freitas EC, Zagatto AM, Da Silva AS. Excessive eccentric exercise-induced overtraining model leads to endoplasmic reticulum stress in mice skeletal muscles. *Life Sci* 2016, 145: 144-51.

152. Park J-G, Kim Y-A, Park H-G, Lee W-L. Aerobic exercise ameliorated high fat diet-induced endoplasmic reticulum stress more than polyphenol supplementation in skeletal muscle of obese mice. *J Life Sci* 2018, 2810: 1186-92.
153. Korkmaz K, Düzova H, Taşlıdere AÇ, Koç A, Karaca Z, Durmuş K. Effect of high-intensity exercise on endoplasmic reticulum stress and proinflammatory cytokine levels. *Sports Sci* 2023, 384: 428. e1-. e10.
154. Bozi LH, Jannig PR, Rolim N, Voltarelli VA, Dourado PM, Wisløff U, Brum PC. Aerobic exercise training rescues cardiac protein quality control and blunts endoplasmic reticulum stress in heart failure rats. *J Cell Mol Med or JCMM* 2016, 2011: 2208-12.
155. Murlasits Z, Lee Y, Powers SK. Short-term exercise does not increase ER stress protein expression in cardiac muscle. *MSSE* 2007, 399: 1522-8.
156. Ahn N, Koh J, Kim K. Endoplasmic reticulum stress of skeletal muscle and exercise training effects in aging and obesity. *Asian J Kinesiol* 2018, 203: 1-10.
157. Pinto AP, da Rocha AL, Kohama EB, Gaspar RC, Simabuco FM, Frantz FG, de Moura LP, Pauli JR, Cintra DE, Ropelle ER. Exhaustive acute exercise-induced ER stress is attenuated in IL-6-knockout mice. *J Endocrinol* 2019, 2402: 181-93.
158. Kim K, Kim Y-H, Lee S-H, Jeon M-J, Park S-Y, Doh K-O. Effect of exercise intensity on unfolded protein response in skeletal muscle of rat. *Korean J Physiol Pharmacol* 2014, 183: 211.
159. D'Hulst G, Masschelein E, De Bock K. Resistance exercise enhances long-term mTORC1 sensitivity to leucine. *Mol Metab* 2022, 66: 101615.
160. Hong J, Kim K, Kim J-H, Park Y. The role of endoplasmic reticulum stress in cardiovascular disease and exercise. *Int J Vasc Med* 2017, 2017.
161. Hulmi JJ, Hentilä J, DeRuisseau KC, Oliveira BM, Papaioannou KG, Autio R, Kujala UM, Ritvos O, Kainulainen H, Korkmaz A. Effects of muscular dystrophy, exercise and blocking activin receptor IIB ligands on the unfolded protein response and oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2016, 99: 308-22.
162. Kim WH, Lee C-H, Han J-H, Kim S, Kim SY, Lim JH, Park KM, Shin DS, Woo C-H. C/EBP homologous protein deficiency inhibits statin-induced myotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 2019, 5083: 857-63.
163. Yang H-T, Luo L-J, Chen W-J, Zhao L, Tang C-S, Qi Y-F, Zhang J. IL-15 expression increased in response to treadmill running and inhibited endoplasmic reticulum stress in skeletal muscle in rats. *Endocrine* 2015, 48: 152-63.

164. Jiao Q, Takeshima H, Ishikawa Y, Minamisawa S. Sarcalumenin plays a critical role in age-related cardiac dysfunction due to decreases in SERCA2a expression and activity. *Cell Calcium* 2012, 511: 31-9.
165. Salomão RAS, De Paula TG, Zanella BTT, Carvalho PLPF, da Silva Duran BO, Valente JS, et al. The combination of resveratrol and exercise enhances muscle growth characteristics in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2019, 235: 46-55.
166. Dolinsky VW, Jones KE, Sidhu RS, Haykowsky M, Czubryt MP, Gordon T, et al. Improvements in skeletal muscle strength and cardiac function induced by resveratrol during exercise training contribute to enhanced exercise performance in rats. *Physiol J*. 2012, 11: 2783-99.
167. Hart N, Sarga L, Csende Z, Koch LG, Britton SL, Davies KJ, et al. Resveratrol attenuates exercise-induced adaptive responses in rats selectively bred for low running performance. *DOS*. 2014, 121:dose-response. 13-010. Radak.
168. Park J-G, Kim Y-A, Park H-G, Lee W-L. Aerobic exercise ameliorated high fat diet-induced endoplasmic reticulum stress more than polyphenol supplementation in skeletal muscle of obese mice. *Life Sci*. 2018, 10: 1186-92.
169. Skrobuk P, Von Kraemer S, Semenova M, Zitting A, Koistinen H. Acute exposure to resveratrol inhibits AMPK activity in human skeletal muscle cells. *Diabetologia*. 2012, 55: 3051-60.
170. Sin TK, Yu AP, Yung BY, Yip SP, Chan LW, Wong CS, et al. Effects of long-term resveratrol-induced SIRT1 activation on insulin and apoptotic signalling in aged skeletal muscle. *Acta Diabetol*. 2015, 52: 1063-75.
171. Ardid-Ruiz A, Ibars M, Mena P, Del Rio D, Muguerza B, Bladé C, et al. Potential involvement of peripheral leptin/STAT3 signaling in the effects of resveratrol and its metabolites on reducing body fat accumulation. *Nutrients*. 2018, 11: 1757.
172. Lin C-H, Lin C-C, Ting W-J, Pai P-Y, Kuo C-H, Ho T-J, et al. Resveratrol enhanced FOXO3 phosphorylation via synergetic activation of SIRT1 and PI3K/Akt signaling to improve the effects of exercise in elderly rat hearts. *Age*. 2014, 36: 1-10.
173. Bal NB, Bostanci A, Sadi G, Dönmez MO, Uludag MO, Demirel-Yilmaz E. Resveratrol and regular exercise may attenuate hypertension-induced cardiac dysfunction through modulation of cellular stress responses. *Life Sci* 2022, 296: 120424.

174. Lin Y, Zhu J, Zhang X, Wang J, Xiao W, Li B, et al. Inhibition of cardiomyocytes hypertrophy by resveratrol is associated with amelioration of endoplasmic reticulum stress. *Cell Physiol Biochem*. 2016, 2: 780-9.
175. Zhao H, Zhang Y, Shu L, Song G, Ma H. Resveratrol reduces liver endoplasmic reticulum stress and improves insulin sensitivity in vivo and in vitro. *Drug Des Devel Ther* 2019: 1473-85.
176. Zhang Y, Weng Y, Wang D, Wang R, Wang L, Zhou J, Shen S, Wang H, Wang Y. Curcumin in combination with aerobic exercise improves follicular dysfunction via inhibition of the hyperandrogen-induced *ire1 α /XBP1* endoplasmic reticulum stress pathway in PCOS-like rats. *Oxid Med Cell Longev* 2021, 2021: 1-22.
177. Gliemann L, Schmidt JF, Olesen J, Biensø RS, Peronard SL, Grandjean SU, Mortensen SP, Nyberg M, Bangsbo J, Pilegaard H. Resveratrol blunts the positive effects of exercise training on cardiovascular health in aged men. *Physiol J* 2013, 59120: 5047-59.
178. Olesen J, Gliemann L, Biensø R, Schmidt J, Hellsten Y, Pilegaard H. Exercise training, but not resveratrol, improves metabolic and inflammatory status in skeletal muscle of aged men. *Physiol J* 2014, 5928: 1873-86.
179. Laupheimer M, Perry M, Benton S, Malliaras P, Maffulli NJTmU. Resveratrol exerts no effect on inflammatory response and delayed onset muscle soreness after a marathon in male athletes.: a randomised, double-blind, placebo-controlled pilot feasibility study. 2014, 10: 38.
180. Scribbans TD, Ma JK, Edgett BA, Vorobej KA, Mitchell AS, Zelt JG, Simpson CA, Quadrilatero J, Gurd BJ. Resveratrol supplementation does not augment performance adaptations or fibre-type-specific responses to high-intensity interval training in humans. *Appl Physiol Nutr Metab* 2014, 3911: 1305-13.
181. Lin JH, Walter P, Yen TB. Endoplasmic reticulum stress in disease pathogenesis. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2008, 3: 399-425.
182. Bircan CI, Merhan O. Kadmiyum uygulanan farelerde oluşturulan oksidatif strese karşı resveratrolün koruyucu etkisinin araştırılması. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2020, 173: 215-20.
183. Corp I. IBM SPSS statistics for windows, version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp2013.