

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR ANABİLİM DALI



EGZERSİZ UYGULANAN RATLARDA ENERJİ İÇECEĞİ
KULLANIMININ KARACİĞER, BÖBREK VE İSKELET KASINDA
MİYONEKTİN EKSPRESYONLARININ İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
VE ELISA YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emsal Çağla AVCU

ELAZIĞ

2021

ONAY SAYFASI

PROF.DR.MESUT AKSAKAL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof.Dr. Yüksel SAVUCU

Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof.Dr. Vedat ÇINAR

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Vedat ÇINAR.....

Doç.Dr. Ragıp PALA.....

Dr. Öğr.Üy. Mücahit SARIKAYA.....



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından bulguların elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının içinde yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Emsal Çağla AVCU
17.08.2021

Prof. Dr. Vedat ÇINAR
Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı
ELAĞIĞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez sürecim boyunca bilgi ve deneyimlerini özveriyle benimle paylaşan ve yetişmemi sağlayan, bilim insanı kişiliğiyle örnek aldığım, öğrencisi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum saygıdeğer danışmanım Prof. Dr. Vedat ÇINAR 'a,

Tez konumun belirlenmesinden tezimin sonlanmasına kadar mesleki bilgi ve birikimlerini paylaşarak tezime zenginlik katan ve tecrübelerinden faydalanırken göstermiş olduğu sabır ve hoşgöründen dolayı Prof. Dr. Süleyman AYDIN'a,

Sağladığı mükemmel çalışma ortamıyla tezimin laboratuvar analizlerine ve histolojik değerlendirmesine özveri ile katkı sağlayan ve immünohistokimyasal alanda bana vizyon katan Arş Gör. Dr. Mehmet Hanifi YALÇIN'a ve biyokimyasal analizlerin yapılmasında emeği geçen Dr. Öğr. Üyesi Ramazan Fazıl AKKOÇ'a,

Tez çalışmamın farklı aşamalarında her zaman destek olan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum kıymetli hocalarım ve ekip arkadaşlarım, Doç.Dr.Taner AKBULUT'a Öğr.Gör. Yavuz YASUL'a Arş.Gör. İsa AYDEMİR'e ve Dyt.M.Enes YASUL'a

Tez çalışmamı destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelendirme (FÜBAP) Birimine,

Yüksek lisans eğitimimi TÜBİTAK 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1.ÖZET	1
2.ABSTRACT	3
3.GİRİŞ	5
3.1.Egzersiz	7
3.2. Enerji Sistemleri	7
3.2.1. Anaerobik Enerji Metabolizması	8
3.2.1.1. Fosfojen Sistem (ATP-CP Sistemi)	8
3.2.1.2. Laktik Asit Sistemi (Anaerobik Glikoliz Sistemi)	9
3.2.2.Aerobik Enerji Metabolizması	9
3.2.2.1.Protein Oksidasyonu	10
3.2.2.2.Lipid Oksidasyonu	11
3.3. Enerji İçecekleri	11
3.3.1. Enerji İçeceklerinin Hedef Popölasyonu	13
3.3.2. Enerji İçeceklerinin İçerikleri	13

3.3.2.1. Kafein	14
3.3.2.2. Taurin	15
3.3.2.3. Guarana	16
3.3.2.4. B Vitaminleri	16
3.3.2.5. Ginseng	17
3.3.3. Enerji İçeceklerinin Sportif Performans Üzerine Etkileri	17
3.3.4. Enerji İçeceklerinin Sağlık Üzerine Komplikasyonları	18
3.4. Miyonektin	20
3.4.1. Tanımı ve Yapısı	20
3.4.2. Fizyolojik Rolü	21
3.4.3. Egzersiz İle İlişkisi	26
4.GEREÇ VE YÖNTEM	29
4.1. Deney Hayvanlarının Barınma ve Beslenmeleri	29
4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	29
4.3. Treadmill Egzersiz Uygulaması	30
4.4. Örneklerin Alınması ve Saklanması	31
4.5. ELISA Yöntemi İle Numunelerin Analizi	31
4.5.1.Doku Homojenatlarının Hazırlanması	31
4.5.2. Miyonektinin ELISA Yöntemi Ölçümü	33
4.6. İmmünohistokimyasal Yöntem İle Numunelerin Analizi	34
4.6.1. Doku Takibi ve Kesitlerin alınması	34
4.6.2. İmmünohistokimyasal Boyama Metodu	35
4.7.İstatistiksel Analiz	37
5.BULGULAR	38
5.1. ELISA Bulguları	38
5.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	41

6. TARTIŞMA	53
7.SONUÇ VE ÖNERİLER	59
8. KAYNAKLAR	61
9.EKLER	66



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. CTRP15 kit içeriği	33
Tablo 2. Histolojik takip serileri	35
Tablo 3. İskelet Kası Miyonektin Değerlerinin Analizi	38
Tablo 4. Karaciğer Miyonektin Değerlerinin Analizi	39
Tablo 5. Böbrek Miyonektin Değerlerinin Analizi	40



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Enerji sistemleri	8
Şekil 2. 1q/TNF ile ilgili protein (CTRP) ve ERFE yapısı	21
Şekil 3. Fare dokularında miyonektin ekspresyon profili	22
Şekil 4. Miyonektin işlev modeli	23
Şekil 5. Eritroferronun iki potansiyel etkisi	25
Şekil 6. Sempatik çıktıyı glikoz intoleransının düzenlenmesine ve metabolik profil oluşturmaya dönüştürmede miyonektinin rolünü gösteren model	27
Şekil 7. ELISA için -80 °C’de muhafaza edilen doku örnekleri	31
Şekil 8. Homojenizasyon işleminin bileşenleri	32
Şekil 9. Araştırmacılar tarafından ELISA yönteminin uygulanması	34
Şekil 10. Çalışma Gruplarına Ait İskelet Kası Miyonektin Seviyeleri Grafiği	38
Şekil 11. Çalışma Gruplarına Ait Karaciğer Miyonektin Seviyeleri Grafiği	39
Şekil 12. Çalışma Gruplarına Ait Böbrek Miyonektin Seviyeleri Grafiği	40
Şekil 13. Kontrol grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek korteksindeki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi	41
Şekil 14. Kontrol grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek medullasındaki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi	42
Şekil 15. Egzersiz grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek korteksindeki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi	42
Şekil 16. Egzersiz grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek medullasındaki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi	43
Şekil 17. Enerji içeceği grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek korteksindeki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi	43

Şekil 18. Enerji içeceği grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek medullasındaki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi	44
Şekil 19. Egzersiz+Enerji içeceği grubuna ait böbrek dokusu Böbrek korteksindeki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi	44
Şekil 20. Egzersiz+Enerji içeceği grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek medullasındaki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi	45
Şekil 21. Negatif kontrol (Böbrek korteksindeki distal tubüller)	45
Şekil 22. Negatif kontrol (Böbrek medullasındaki distal tubüller)	46
Şekil 23. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu. Vena sentralisin etrafındaki hepatositlerde miyonektin immünreaktivitesi	47
Şekil 24. Egzersiz grubuna ait karaciğer dokusu. Vena sentralisin etrafındaki hepatositlerde miyonektin immünreaktivitesi	47
Şekil 25. Enerji içeceği grubuna ait karaciğer dokusu. Vena sentralisin etrafındaki hepatositlerde miyonektin immünreaktivitesi	48
Şekil 26. Egzersiz+Enerji içeceği grubuna ait karaciğer dokusu Vena sentralisin etrafındaki hepatositlerde miyonektin immünreaktivitesi	48
Şekil 27. Negatif kontrol (Vena sentralis ve etrafındaki hepatositler)	49
Şekil 28. Kontrol grubuna ait iskelet kası dokusu(Boyuna kesit). Bantlarda miyonektin immünreaktivitesi	50
Şekil 29. Egzersiz grubuna ait iskelet kası dokusu(Boyuna kesit). Bantlarda miyonektin immünreaktivitesi	50
Şekil 30. Enerji içeceği grubuna ait iskelet kası dokusu(Boyuna kesit). Bantlarda miyonektin immünreaktivitesi	51

Şekil 31. Egzersiz+Enerji içeceği grubuna ait iskelet kası dokusu (Boyuna kesit).

Bantlarda miyonektin immünreaktivitesi 51

Şekil 32. İskelet kası dokusu. Bantlarda miyonektin immünreaktivitesi 52

Şekil 33. Negatif kontrol (İskelet kası dokusu-Enine kesit) 52



KISALTMALAR LİSTESİ

ERFE	: Eritroferron
ATP	: Adenozin trifosfat
ADP	: Adenozin difosfat
CP	: Kreatin fosfat
CO₂	: Karbondioksit
H₂O	: Su
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FATP	: Yağ asidi taşıma proteinleri
FABP	: Yağ asidi bağlayıcı proteinler
FFA	: Serbest yağ asitleri
WAT	: Beyaz adipoz doku
BAT	: Kahverengi yağ dokusu
ID	: Demir eksikliği
IDA	: Demir eksikliği anemisi
OZR	: Obez Züçker sıçan
LZR	: Zayıf Züçker sıçan
DN	: Diyabetik nefropati
T2DM	: Tip 2 Diyabetes Mellit

1.ÖZET

Tüm dünyada enerji içecekleri akıl almaz bir şekilde tüketilmektedir. Buna rağmen enerji içeceklerinin biyolojik sistemdeki etkileri henüz tam olarak ortaya çıkarılamamıştır. Bu yüzden de bu çalışmada karaciğer, böbrek ve iskelet kası dokularında enerji içeceğinin (Red Bull) miyonektin üzerine nasıl bir etkisinin olduğunun ortaya çıkarılmasına ek olarak karaciğer ve böbrek dokusunun miyonektin sentezleyip sentezlemediğinin de ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Araştırmaya dört haftalık 28 adet Wistar-Albino cinsi erkek rat dahil edildi. Araştırma öncesinde, hiçbir uygulamanın yaptırılmadığı kontrol grubu (n=7); dört hafta boyunca koşu bandında egzersiz (haftada 5 seans/30 dk 45 cm/sn ile) yaptırılan egzersiz grubu (n=7); dört hafta boyunca günlük tek doz gavaj yolu ile enerji içeceği (3,57ml/kg/gün) verilen enerji içeceği grubu (n=7); dört hafta boyunca gavaj yolu ile tek doz enerji içeceği (3,57ml/kg/gün) ile birlikte egzersiz yaptırılan (haftada 5 seans/30 dk 45 cm/sn ile) egzersiz+enerji içeceği grubu (n=7) olarak rastgele dört gruba ayrıldı. Deney dört hafta sürdü ve ratlar standart yem ile beslendi. Deney sonunda hayvanlar sakrifiye edildi. Doku homojenatlarında miyonektin miktarları ELISA yöntemi ve İmmünohistokimyasal yöntem ile incelendi.

Verilerin analizi için SPSS 22 paket program kullanıldı. Normallik kriteri göz önünde bulundurularak One Way Anova testi ve gruplar arasında ortaya çıkan farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Post-Hoc testlerinden LDS, Scheffe testleri kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

Karaciğer, böbrek ve iskelet kası dokularının kontrol grupları kıyaslandığında en fazla miyonektin seviyesinin böbrek, iskelet kası ve karaciğer

şeklinde olduğu gözlemlendi. Enerji içeceği suplementasyonu ise miyonektinin karaciğer dokusunda azalmasına, böbrek ve iskelet kası dokularında ise artışına neden oldu. Egzersiz uygulaması miyonektinin karaciğer dokusunda azalmasına, böbrek ve iskelet kası dokularında ise artışına neden oldu. Egzersiz+enerji içeceği uygulaması miyonektinin karaciğer dokusunda azalmasına, böbrek ve iskelet kası dokularında ise artışına neden oldu. Miyonektin kaslardan salgılandığı için egzersiz sırasında oluşabilecek metabolizma bozukluklarının telafi edilmesinde enerji içeceğinin rolü olduğu ön görülmektedir. Gelecekte yapılacak olan deneyler ile sonuçların teyit edilmesinde fayda bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Egzersiz, Miyonektin, Enerji İçeceği, ELISA, İmmünohistokimya

2.ABSTRACT

Determination of Myonectin Expression in Liver, Kidney and Skeletal Muscle Using Immunohistochemical and ELISA Method in Trained with Energy Drink Supplementation Rats

Energy drinks are consumed in an unbelievable way all over the world. However, the effects of energy drinks on the biological system have not been fully revealed yet. Therefore, in this study, in addition to revealing the effect of energy drink (Red Bull) on myonectin in liver, kidney and skeletal muscle tissues, it is aimed to reveal whether liver and kidney tissues synthesize myonectin or not.

Twenty-eight, four-week-old male Wistar-Albino rats were included in the study. The control group (n=7), in which no application was made before the study; the exercise group (n=7) in which exercise was performed on the treadmill for four weeks (5 sessions per week/30 min at 45 cm/sec); the energy drink group (n=7) given a single daily dose of energy drink (3.57ml/kg/day) by gavage for four weeks; Four groups were randomly divided into four groups as exercise+energy drink group (n=7), in which a single dose of energy drink (3.57 ml/kg/day) was exercised by gavage for four weeks (5 sessions per week/30 minutes with 45 cm/sec). Left. The experiment lasted for four weeks and the rats were fed standard chow. At the end of the experiment, the animals were sacrificed. Myonectin amounts in tissue homogenates were analyzed by ELISA method and immunohistochemical method.

SPSS 22 package program was used for data analysis. The One Way Anova test was used considering the normality criterion, and the LDS and Scheffe tests, which are Post-Hoc tests, were used to determine between which groups the

differences occurred between the groups. Significance level was accepted as $p < 0.05$.

When the control groups of liver, kidney and skeletal muscle tissues were compared, the highest myonectin level was observed in the form of kidney, skeletal muscle and liver. Energy drink supplementation caused a decrease in myonectin in liver tissue and an increase in kidney and skeletal muscle tissues. Exercise caused a decrease in myonectin in liver tissue and an increase in kidney and skeletal muscle tissues. Exercise + energy drink application caused a decrease in myonectin in liver tissue and an increase in kidney and skeletal muscle tissues. Since myonectin is secreted from muscles, it is predicted that energy drink has a role in compensating for metabolic disorders that may occur during exercise. It will be useful to confirm the results with future experiments.

Keywords: Exercise, Myonectin, Energy Drinks, ELISA, Immunohistochemistry

3.GİRİŞ

Egzersiz; planlı uygulamalarla, fiziksel uygunluğun birçok bileşenini geliştirmeyi hedefleyen devamlı aktiviteler olarak ifade edilmektedir (1). Vücutta meydana gelen birçok gelişim daha çok canlı organizmadaki iskelet kaslarının aktive olması ile gerçekleşmektedir. Uygulanan çalışmanın içeriği ve özelliğine göre aerobik veya anaerobik olmak üzere farklı şekilde uygulanabilir (2).

Koruyucu rolü dışında egzersiz ve spor bir tedavi aracı olarak da önem kazanmaktadır (3). Araştırmacılar genellikle fiziksel gelişim, beslenme ve performansı sürdürme arasındaki ilişki üzerinde durmaktadır. Beslenme ve fiziksel aktivite arasındaki bağlantıyı ortaya koyabilmek için araştırmalarda iki yöntem sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden birincisi; fiziksel aktivitenin metabolizma üzerinde ne gibi etkileri olduğunu tespit etmek, ikincisi ise fiziksel aktiviteye katılım sağlayanlara farklı içeriğe sahip besin takviyeleri vererek fizyolojik değişimlerini incelemektir (4).

Enerji içeceklerinin günümüzde tüketim oranı son derece fazladır. Toplumun genç erişkin kesiminin hemen hemen tamamı enerji içeceğini hayatlarında en az bir defa tüketmiştir. Enerji verdiği, vücut direncini artırdığına ve metabolizmayı hızlandırdığına inanıldığı için her yaşta tüketilmekle birlikte, daha yaygın olarak 11-35 yaşları arasındaki sporcular, öğrenciler ve yoğun çalışan kişiler tarafından tüketilmektedir. Enerji içecekleri genellikle farklı yararlar sunan fonksiyonel içecekler olarak pazarlanmaktadır; özellikle kişilerin konsantrasyon ve zihinsel performansını geliştirerek zamanla uyanıklığı ve performansı artırdığı ve yorgunluğu azalttığı düşünülmektedir (5).

Tüm dünyada ve ülkemizde enerji içecekleri herhangi bir sınırlamaya tabi olmaksızın tüketilmektedir. Enerji içecekleri, içeriğinde büyük miktarda glukoz bulunması nedeniyle enerji ihtiyacını hızla karşılaması ve içeriğindeki diğer bileşen taurin sayesinde dikkati ve konsantrasyonu arttırması gibi rolleri nedeniyle daha çok tercih edilmektedir. Konsantrasyonun artırılmasına ve spor aktivitelerine destek amacıyla tüketilebildiği yaygın hale gelmiştir. Fakat bu içeceklerin tüketimi sonrasında farklı klinik olaylar ile hastanelere başvuranların olması üzerine tüketimi tüm dünyada sorgulanmaya başlanmıştır (6).

Miyonektin, tüm vücut yağ asidi metabolizmasını düzenlemek için iskelet kası tarafından salgılanan ve besin maddesine duyarlı bir miyokindir (7). Miyonektin aynı zamanda kan kaybına yanıt olarak stres eritropoezini karaciğerdeki demir mobilizasyonuna bağlayan eritroblastlarda indüklenen salgılanan bir protein olan eritroferron (ERFE) olarak ifade edilmiştir (8).

Son yıllarda araştırma konusu olan ve ayrıntılı bir şekilde irdelenen miyonektin doğrudan yağ asit metabolizması ile yakından ilgilidir. Vücut kompozisyonu ve sağlıklı bir yaşam sürmek için de önem arz edeceğini düşünmekteyiz. Miyonektin seviyesinin egzersiz ve enerji içeceği değişkenine bağlı olarak nasıl değişeceği ve ne gibi yanıtlar oluşturacağı ayrıca önem arz etmektedir

Mevcut literatürler ışığında bu çalışmanın amacı; egzersiz ve enerji içeceği uygulamasının karaciğer, böbrek ve iskelet kasında miyonektin ekspresyonlarının ELISA ve histolojik etkilerini incelemektir.

3.1.Egzersiz

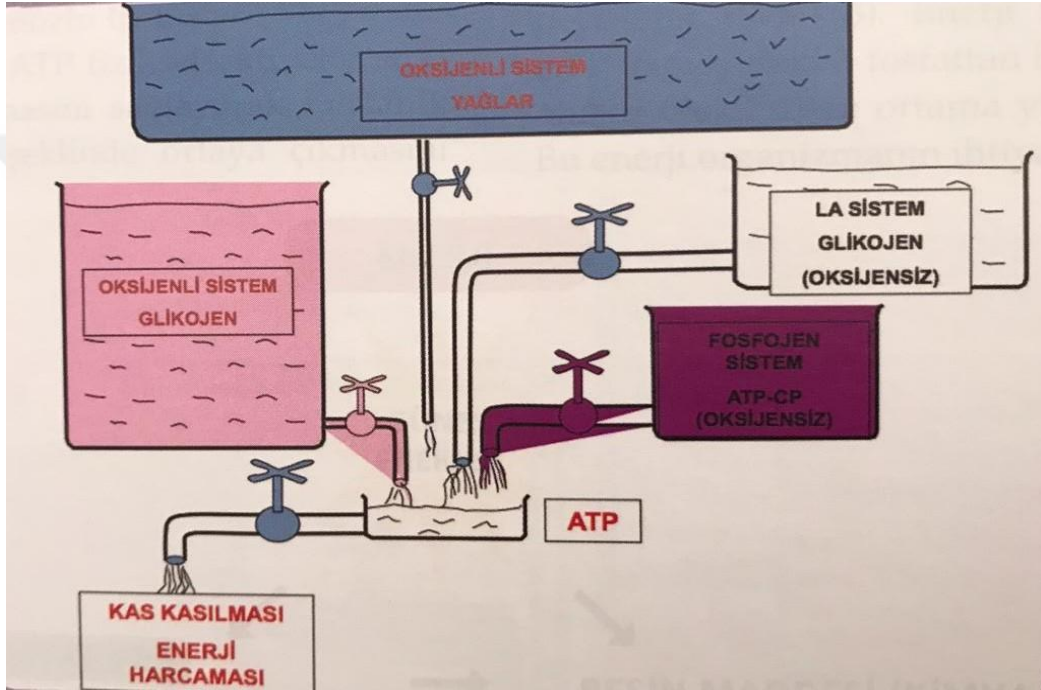
Egzersiz; kişinin var olan fiziksel kapasitesini artırmak için yaptığı, tekrarlı, planlı ve düzenli vücut hareketleridir. Fiziksel aktivite ise iskelet kaslarının kasılmasıyla enerji üretilmesi, bazal düzeyin üstünde enerji harcamayı gerektiren fiziksel hareketlerdir. Bir stres karşısında, canlı organizmaların sistemleri zorlanmaya başlandığında, mevcut kapasiteleri oranında bu strese yanıt verir ve oluşan yeni şartlara uyum sağlamaya çalışırlar. Egzersiz canlı organizmaların karşılaştığı en büyük streslerden biridir. Bedenin egzersize yanıtı; kişinin uyguladığı egzersizin süresi, egzersizin tipi, egzersizin yoğunluğu, vücut postürü, yaşı, cinsiyeti, kondisyon durumu ve vücudun dehidratasyon durumu etkiler (9).

3.2. Enerji Sistemleri

Enerji günlük yaşamın devamı ve vücut organlarının çalışabilmesi için gerekli olan yakıttır. Kısaca iş yapabilme kapasitesi olarak da tanımlanır. Organizmaya alınan besin maddelerindeki (karbonhidratlar, yağlar ve nadiren proteinler) kimyasal enerji, farklı enerji sistemleri kullanılarak ATP'ye dönüştürülür ve ihtiyaç halinde kas kasılması, madde sentezi, madde taşınması ve uyarı iletimi gibi faaliyetlerde kullanılır. İhtiyaç olmadığında sınırlı oranda ATP ve kreatin fosfat olarak depo edilirler. Tekrar ihtiyaç olduğu durumda ortamdaki oksijen varlığına göre aerobik ve anaerobik yollarla alınan besin maddelerinden tekrar ATP elde edilerek fizyolojik süreçlerin devamlılığını sağlanmaya çalışılır (9).

Kas kasılması için enerji gereklidir. Kas, kimyasal enerjiyi mekanik işe dönüştüren bir sistem uygular. İnsan organizmasında özellikle sinir uyarılarının iletilmesi gibi yaşamsal fonksiyonlar kas kasılması gibi kimyasal reaksiyonlarla

enerji açığa çıkarılmasına bağlıdır. Kasta bulunan enerjiden zengin organik fosfat bileşikleri bu enerjinin kaynağıdır. Kaynağını da karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarından almaktadır. Fiziksel aktiviteler için üç metabolik sistem önemlidir; Fosfojen sistem, Anaerobik Glikoliz-Laktik Asit Sistemi ve Aerobik sistemlerdir. Bu sistemlerin amacı kasta var olan ATP'yi yeniden sentezlemektir (10).



Şekil 1. Enerji sistemleri (9).

3.2.1. Anaerobik Enerji Metabolizması

3.2.1.1. Fosfojen Sistem (ATP-CP Sistemi)

Kreatin fosfat (CP), ATP gibi yüksek enerji bağına sahip ve parçalara ayrıldığında önemli miktarda enerji açığa çıkaran kas hücresi içinde sınırlı bulunan bir moleküldür. Parçalandığında açığa çıkan enerji ATP resentezi için kullanılmaktadır. Çok yüksek şiddette ve çok kısa süreli (10 saniyeden az)

egzersizlerde kas kasılması için gereken enerjinin büyük bir bölümü bu yolla sağlanmaktadır (11).

3.2.1.2. Laktik Asit Sistemi (Anaerobik Glikoliz Sistemi)

İki dakikadan daha kısa süren egzersizlerde; sürat koşuları, atma, yüksek atlama, yüzme ve halter dallarında enerji oluşumu oksijensiz olarak yani anaerobik yoldan sağlanır. Enerji kaynağı olarak glikoz kullanırlar. Oksijensiz ortamda glikozun pirüvat'a dönüşmesi sonucunda 2 mol ATP ve laktik asit oluşur. Kaslar ve kanda laktik asitin birikmesi sonucunda yorgunluk artmaya başlar. Bedenin laktik aside dayanma sınırının oldukça az olmasından dolayı da anaerobik yolla enerji üretimi kısa sürelidir (12).

Bu sistemde oksijen olmadığında glukoz kısmen parçalanarak pirüvik asit olarak tanımlanan bir ara maddeye dönüşür. Kimyasal reaksiyonlar sonucunda oluşan bu parçalanma esnasında ATP üretimi gerçekleşir. Bu sırada kaslarda yeterli miktarda oksijen bulunmuyorsa oluşan pirüvik asit laktik aside dönüşür. Bunun sonucu olarak kaslarda laktik asit birikmeye başlar (12).

3.2.2. Aerobik Enerji Metabolizması

ATP üretmek için oksijen varlığına bağlıdır. Reaksiyonların tümü, kontraktıl ünitelere bitişik hücre sitoluzunda bulunan, çift membranlı bir organel olan mitokondride meydana gelir. Enerji üretim oranı ATP-PCr ve glikolitik sistemlere kıyasla çok daha yavaş ancak toplam ATP miktarı çok daha fazladır. Oksidatif fosforilasyon, ADP'yi ATP'ye fosforile etmek için elektron ve proton transferlerinden depolanan enerjiyi kullanan karmaşık bir sistemdir. Elektron taşıma sisteminin amacı, ADP'yi ATP'ye fosforile etmek için kullanılacak potansiyel enerji yaratmaktır; bu sebeple oksidatif fosforilasyon adı verilir (13).

Aerobik yolla enerji elde edilmesine yağlar ve kısmen de proteinler katkıda bulunur fakat proteinler çok tercih edilmezler. Aerobik yol, ortamda oksijenin bulunmasıyla karbonhidrat ve yağların, su ve karbondioksite kadar parçalanması sonucu enerji elde edilmesini sağlamaktadır. Ortamda oksijen varlığında glikoz molekülü tam olarak CO₂ ve H₂O'ya ayrışır. Sonuç olarak toplam 38-39 mol ATP üretilir. Bu ATP'nin yaklaşık 2-3 molü anaerobik yol ile üretilir. Aerobik enerji oluşumunda ilk aşamalar anaerobik glikoliz ile aynı aşamalara sahiptir ve bir mol glikojen iki mol pirüvik asite çevrilir. Bu aşama (anaerobik glikoliz) sarkoplazmada gerçekleşir. Ve burada 2-3 mol ATP üretilir. Eğer reaksiyonlar aerobik yolla devam ediyorsa işlemler mitokondrilerde gerçekleşir ve pirüvik asit iki karbonlu yapı olan asetil koenzim A'ya dönüşerek krebs siklüsüne girer. Krebs devrinde karbondioksit (CO₂) üretimi ve elektronların taşınması (oksidasyon) olmak üzere iki önemli süreç vardır. Üretilen CO₂ solunum sistemi aracılığıyla dışarı atılarak yok edilir. Taşınan elektronlar ise hidrojen atomlar formundadır. Pozitif yüklü olanlara iyon (proton) negatif yüklü olanlara elektron adı verilir (10).

3.2.2.1. Protein Oksidasyonu

Protein parçalanması ve metabolizması egzersiz sırasında uygun besin depolama seviyeleri koşullarında minimum enerji sağlar. Bununla birlikte, yeterli kalori alımı olmaksızın uzun süreli egzersiz ve açlık durumlarında, protein glikoza yıkılır ve ATP üretmek için kullanılır. Buna glikoneogenez denir ve karaciğerde gerçekleşir. Proteinlerin uzun süreli egzersiz sırasında %5 ila %10 arasında enerji sağladığı tahmin edilmektedir (13).

3.2.2.2.Lipid Oksidasyonu

Lipoliz bir triaçilgliserolün üç yağ asidine ve gliserole ayrıştırılmasıdır. Serbest yağ asitleri adipoz hücreden koparıldıktan sonra dolaşıma katılır ve kasılan kasın içine ve mitokondriye taşınırlar (13). Yağların oksidasyonuna lipolisiz adı verilir. Egzersizin süre, şiddetine ve sporcunun performans düzeyine göre egzersizde enerji ihtiyacının %30-%80 kadarını yağlardan sağlanır (10).

3.3. Enerji İçecekleri

Enerji içecekleri, enerjiyi, fiziksel ve atletik performansı ve zihinsel uyanıklığı artırdığı iddia edilen yüksek konsantrasyonlarda kafein içeren ve reçetesiz satılan ticari içecekler olarak tanımlanır. Enerji içecekleri ilk olarak 1990'ların sonunda pazarlandı, daha sonra popüler hale geldi ve yaygın olarak piyasada bulunmaya başladı. Marketlerde, beslenme merkezlerinde, içecek dükkanlarında ve internette 50'den fazla enerji içeceği markası mevcuttur. Ticari ürünler kafein konsantrasyonunun yanı sıra karbonatlaşma, şeker ve tatlandırıcılar, vitaminler, mineraller, amino asitler ve botanik bileşenler gibi diğer özellikler bakımından da büyük farklılıklar gösterir (14).

Enerji içecekleri ilk olarak 1960'larda Avrupa ve Asya'da ortaya çıkmıştır. Fakat 'Red Bull'un 1987'de Avusturya'da ve 1997'de ABD'de piyasaya sürülmesi (15) ve enerji içeceği üreticilerinin çekici reklamlar ekstrem spor etkinlikleri ve müzik festivalleri yoluyla markalarını tanıtmaları ile enerji içeceğinin popülerliği hızla arttı ve pazarı katlanarak büyüdü (16). 2013 yılında 39 milyar ABD doları değerindeki küresel enerji içeceği pazarının 2021 yılına kadar 61 milyara ulaşacağı tahmin edilmektedir (17).

Hem Amerika Birleşik Devletleri'nde hem de dünya çapında artan bir enerji içeceği tüketimi vardır. Bu içecekler artan enerji, zihinsel odaklanma, uyanıklık ve yorgunluğu önleme öncülüğünde pazarlanmaktadır. Enerji içeceklerinin artan kullanımı, ciddi sağlık sonuçları riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir (18). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onları yiyecekler olarak değil, takviye ürünleri olarak kabul ettiğinden, enerji içecekleri ve içkiler, standart içecekler için kullanılan kafein sınırlarına tabi tutulmaz. Bu, üreticilerin bunları soda veya kahve için kabul edilebilir olandan çok daha yüksek kafein konsantrasyonları ile üretmelerine olanak tanır ve bu düzenleme eksikliği, açıkça yanlış kullanım riskine katkıda bulunur (19). İçerikleri ve sağlık uyarıları dahil olmak üzere enerji içeceklerinin düzenlenmesi ülkeler arasında değişkenlik gösterir (20).

30 Haziran 2017 tarihli 30110 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Türk Gıda Kodeksi Enerji İçecekleri Tebliği (2017/4) 'ne göre enerji içeceğinin bileşimde kafein 150 mg/L, inositol 100mg/L, glukuronolakton 20 mg/L, taurin 800 mg/L' den fazla olamaz. Enerji içeceği: Kafein içeren, taurin, glukuronolakton, inositol, karbonhidrat, aminoasitler, vitaminler, mineraller ve diğer gıda ve bileşenlerini içerebilen, aromalandırılmış alkolsüz içeceği, olarak ifade eder Günlük 500 ml'den fazla tüketilmesi tavsiye edilmez (21).

Araştırmalar, enerji kullanımını artırmanın yanı sıra enerji içeceği formülasyonlarının ruh halini iyileştirebileceğini, fiziksel dayanıklılığı artırabileceğini, zihinsel yorgunluğu azaltabileceğini ve reaksiyon süresini artırabileceğini göstermektedir (22).

3.3.1. Enerji İçeceklerinin Hedef Popülasyonu

Enerji içecekleri özellikle ergenlerin ve genç yetişkinlerin % 30 ile % 50'si tarafından tüketilmektedir (23). Enerji içecekleri için hedef pazar, 15 ile 30 yaş arasındaki kişilerdir. Bu nüfus tipik olarak sağlıklıdır ve etkinliklere katılırlar ve daha yüksek oranda spor meraklıları ve yüksek risk alan kişileri içerir (20).

Genç sporcular, doğaları gereği risk alan kişilerdir ve spor performanslarını artırmak için kazanabilecekleri her türlü avantajı giderek daha fazla aramaktadırlar. Enerji içeceği tüketimi, bu ürünler olmadan fizyolojik bir destek elde edilemeyeceğine dair yanlış anlam nedeniyle atletik hazırlıkların kabul edilen bir parçası haline gelmektedir. Bu inançlar, bu savunmasız nüfusa yönelik zekice ve çoğu zaman aldatıcı pazarlama ile daha da güçlenmektedir. Çeşitli güçlü görüntülere sahip parlak ve renkli ambalajlar, baştan çıkarıcı isimler, gelişmiş atletik performans ve sınırsız enerji gibi ima edilen faydalarıyla sporcuları cezbetmektedir (19).

3.3.2. Enerji İçeceklerinin İçerikleri

Piyasada yüzlerce enerji içeceği olmasına rağmen, birçoğu çok benzer içerik profillerini paylaşıyor. Bu benzersiz enerji karışımlarının çoğu, farklı konsantrasyonlarda esas olarak kafein ve taurinden oluşur. Ek olarak şeker eklenir ancak birçok markanın şekerless seçenekleri de mevcuttur. Şeker, hızlı bir enerji kaynağı olduğu için enerji içeceklerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ürünlere yaygın olarak dahil edilen diğer bileşenler ginseng, guarana, yerba mate ve yeşil çay özleridir. Çeşitli bileşen kombinasyonları, bir içeceğe belirgin genel lezzetini, enerji miktarını, bu enerjinin dayanma süresini ve son olarak içeceğin iddia edilen sağlık özelliklerini verdiği için kritiktir (22).

Tipik olarak, 100 ml enerji içecekleri yaklaşık 32 mg kafein, 400 mg taurin, 11 g glikoz ve vitamin B kompleksi içerir. Vitaminler, mineraller veya bitkisel katkı maddeleri gibi çeşitli başka bileşenler de bulunabilir (24).

Enerji içeceğindeki temel bileşen yüksek dozda kafeindir. Tipik bir enerji içeceğinin 8 fl oz porsiyonu 70-140 mg kafein içerir. Benzer hacimde soda yaklaşık 25 mg, siyah çay 55 mg ve kahve 85-100 mg kafein içerir (25). FDA, kola tipi içecekler için kafein miktarını 12 ons başına 71 miligram kafein ile sınırlandırmıştır (26).

3.3.2.1. Kafein

Enerji içeceklerinin katkı maddesi olan kafein en çok kahve çekirdeğinden elde edilir. Ancak bazı çay ve kakao çekirdeklerinde doğal olarak da bulunabilir. Kafein, metilksantin sınıfının doğal olarak oluşan bir merkezi sinir sistemi uyarıcısıdır ve dünya çapında en yaygın kullanılan psikoaktif uyarıcıdır. Kafeinin birçok kullanım nedeni olmakla birlikte tüketiminin birincil amacı yorgunluk ve uyuşuklukla mücadele etmektir (27).

Kafeinin metabolizmadaki etkileri yaşa, cinsiyete, günlük kafein tüketimine, tüketim hızına ve fiziksel aktiviteye bağlı olarak değişkenlik gösterir (28). Tüketildikten sonra ortalama 45 dk içinde maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır ve 5 saat içinde yarılanır (29).

Yapılan çalışmalara göre kafeinin performans üzerine etkisi, yorgunluğu geciktirdiği için daha uzun süreli egzersize olanak tanınmasıdır. Kafein, yağ depolarını aktive eder ve çalışan kasların yakıt olarak yağı kullanmasına teşvik eder. Bu durumda kas glikojeninin tükenmesi gecikir ve sporcuların uzun süreli egzersiz yapmalarına izin verir (30).

Enerji içeceklerindeki kafein seviyeleri değişkenlik gösterir. 100 ml enerji içeceği 30-134 mg kafein içerebilir. Oysa ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından uygulanan resmi meşrubat konsantrasyon sınırını (mL başına 0.2 mg kafein sınırı koymaktadır) yani 100 ml’de 20 mg kafein içeriğinin sınırını büyük ölçüde aşar (17,31).

Kafeinin yan etkileri genellikle doza bağlıdır ve sinirlilik, uykusuzluk, baş ağrısı, hızlı kalp atışı, titreme ve gastrointestinal rahatsızlığı içerebilir. Yüksek dozlarda, genellikle günde 1000 mg’ı aşan kafein tüketimi kafa karışıklığı, aşırı anksiyete, mani, halüsinasyonlar, nöbetler, rabdomiyoliz, kardiyorespiratuar arrest ve ölümle kendini gösteren ciddi toksisiteye sahip olabilir (14).

3.3.2.2. Taurin

Taurin, çoğu memeli dokusunda yüksek konsantrasyonda bulunmasına rağmen, konsantrasyonu özellikle kalp ve iskelet kasında yüksektir (32). Taurin, insanlarda en bol bulunan hücre içi amino asittir ve çok sayıda biyolojik ve fizyolojik fonksiyonda rol oynar. Taurin, prematüre yenidoğanlar için gerekli bir amino asittir ve anne sütü ile sağlanır. Uzun süreli parenteral beslenme gerektiren hastalar (prematüre ve yenidoğan bebekler dahil); kronik karaciğer, kalp veya böbrek yetmezliği olanlar gibi belirli birey grupları taurin eksikliği açısından risk altındadır ve takviye olarak fayda görebilir (33).

Yapılan çalışmalara göre dayanıklılık performansını da artıran taurin, egzersiz sonrası biriken laktatı azaltır (34). Taurin içeriği, iskelet kaslarında yavaş kasılan oksidatif tip 1 liflerinde hızlı kasılan tip 2 liflerine göre çok daha yüksektir (35).

Kafein ile birleştirildiğinde taurin, kardiyak miyositlerin sarkoplazmik retikulumu üzerindeki etkilerini güçlendirir. Hem taurin hem de kafein, vasküler düz kas içindeki hücre içi kalsiyum konsantrasyonu üzerinde in vitro fizyolojik etkiler göstermiştir (36).

Besinlerden ortalama günlük taurin alımının 40 ila 400 mg arasında olduğu tahmin edilmektedir (37).

3.3.2.3. Guarana

Yerli bir Güney Amerika bitkisi olan guarana, kafeine kimyasal olarak benzer bir madde olan uyarıcı etkilere sahip guaranin içerir. Guarana uyarıcı içeceklere genellikle ya kafeinle kombinasyon halinde ya da tek başına eklenir. Guarananın uyarıcı etkisi kafeininkine benzer olup 1 g guarana 40 mg kafeine eşdeğerdir (38).

Kafein spor performansını artırabilirken, enerji içeceklerinde yaygın olarak bulunan guarana ve ginseng gibi diğer bileşenler de sporcuları bu yasal performans artırıcı kokteyllere çekebilir. Guarana, birçok takviyede iştah kesici olarak ve spor performansını artırmak için bulunur (18).

Guaranın bilişsel performansı ve ruh halini iyileştirebileceğine ve sürekli zihinsel çabayla ilişkili zihinsel yorgunluğu azaltabileceği (39,40) ve guarananın metilksantin içeriğinden dolayı tüketiminin lipid metabolizmasında değişiklikleri tetikleyebildiği belirtilmiştir (41).

3.3.2.4. B Vitaminleri

B vitaminleri, hücre işlevi için gerekli olan enzimler için koenzimler olarak gerekli olan suda çözünür vitaminlerdir (42). B vitaminleri arasında tiamin, niasin, piridoksin hidroklorür, riboflavin, pantotenik asit, biotin, inositol ve siyanocobalamin bulunur. Enerji içecekleri büyük miktarda şeker içerdiğinden bu

vitaminler eklenen şekeri enerjiye dönüştürmek için gerekli bileşenler olarak lanse edilir. Dolayısıyla B vitaminleri, enerji içeceklerindeki basit şekerlerin sağladığı tüm enerjiyi açığa çıkarmak için gereken anahtardır ve bu, enerji içeceği şirketlerinin ürünlerinin sağlayabileceğini iddia ettiği ekstra enerjidir (20).

3.3.2.5. Ginseng

Ginseng, yüzyıllardır bir ilaç türü olarak kullanılmıştır. Ancak son zamanlarda ergojenik bir yardımcı olarak dahil edilmiştir. Ginsenositlerin kortizolün getirdiği katabolik etkilere aracılık etmede ve ayrıca yorgunluğu hafifletmede rol oynadığı belirtilmektedir (18).

3.3.3. Enerji İçeceklerinin Sportif Performans Üzerine Etkileri

Yakın tarihte yapılan bir araştırmada enerji içeceği alımının kas gücü ve dayanıklılığı, dayanıklılık egzersizleri, sıçrama, atlama, koşma gibi spora özgü eylemlerde fiziksel performansı iyileştirdiği fakat sprint üzerinde genel bir etkinin olmadığı belirtilmiştir (43).

Enerji içeceği bileşeninde ergojenik etkiye sahip kafein bulunmasından dolayı uzun süreli egzersiz sırasında performansı etkilemektedir. Kafein alımı merkezi sinir sistemi yorgunluğunu geciktirir bu da dayanıklılık performansının artmasına etki eder (44).

Kafein, maksimum oksijen kapasitesini doğrudan iyileştirmez ancak sporcunun daha yüksek bir güç çıkışı ile antrenman yapmasına ve/veya daha uzun antrenman yapmasına izin verebilir. Kafein, kısmen aktif kasta daha elverişli bir hücre içi iyonik ortam yaratarak çalışabilir. Bu, her motor ünite tarafından kuvvet üretimini kolaylaştırabilir. Başka bir ifade ile uyarılma kasılma mekanizması yani nöromusküler performansı artırabilir (45).

Tüm atletik yarışmalar, dayanıklılığı artırmak ve egzersiz performansını iyileştirmek için egzersiz öncesi takviyenin önemini altını çizmektedir. Bir enerji içeceği tüketmenin dayanıklılık performansını iyileştirebileceğini ve bu iyileşmenin kısmen, algılanan eforda eşlik eden bir artış olmaksızın artan eforun sonucu olabileceğini göstermektedir (46).

Enerji içecekleri kullanımının anaerobik performans ölçümleri üzerine etkisi araştırılan çalışmalarda; kas dayanıklılığını önemli ölçüde artırdığı ancak genç sağlıklı yetişkinlerde tekrarlanan Wingate bisiklet testleri sırasında anaerobik zirve veya ortalama güç üzerinde hiçbir etkisi olmadığı belirtilmiştir (47,48).

Anaerobik ve direnç egzersizinden 45 ile 60 dakika önce tüketilen enerji içeceğinin üst ve alt vücut toplam kaldırma hacmini artırabildiği ancak tekrarlanan yüksek yoğunluklu sprint egzersizi veya çeviklik performansı üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı belirtilmektedir (49). Enerji içeceğinin bir porsiyonu sprint temelli egzersiz yapan kadın sporcular için de ergojenik bir fayda sağlamaz (50).

3.3.4. Enerji İçeceklerinin Sağlık Üzerine Komplikasyonları

Son yıllarda enerji içeceği tüketimindeki artışla birlikte bu içeceklerin tüketilmesinden kaynaklı olumsuz sağlık olaylarını açıklayan artan sayıda literatür vardır. Enerji içeceklerinin sağlık etkileri üzerine çalışmaları derleyen bir araştırmaya göre enerji içeceği tüketimi en başta ergen ve genç yetişkin erkek nüfusun sağlık problemidir. En yaygın yan etkileri kardiyovasküler ve nörolojik sistemler üzerinedir (37).

Ölçülü alındığında enerji içecekleri genellikle, artan uyarılma ve azalan reaksiyon süresi dahil olmak üzere, kahve gibi diğer kafeinli içeceklerle aynı istenen etkileri üretir. Konsantre yapıları nedeniyle, kişiler istemeden toksik

dozlarda kafein tüketebilir ve önemli olumsuz etkilere maruz kalabilir (16). Enerji içeceklerindeki birçok bileşen nedeniyle neden ve sonucun belirli bir bileşene atanması zordur. Aslında etkiyi artıran bileşenlerin kombinasyonu olabilir (20).

Enerji içeceğiyle ilgili sağlık problemlerinin çoğu kafein, kafein benzeri katkı maddeleri ve taurin gibi kafeinle etkileşime girebilen diğer enerji içeceği maddeleriyle ilişkili görünmektedir. Genel olarak enerji içecekleriyle ilgili en büyük endişe yüksek konsantrasyonda kafein içermeleridir (17,20).

Enerji içeceği tüketiminde sonra advers olayları bildiren 32 klinik çalışmanın dahil edildiği güncel bir çalışmaya göre; Artmış kalp hızı (taşikardi) en sık bildirilen kardiyorespiratuvar olay (%26,2) olup bunu kalp çarpıntısı (%20,0) ve göğüs ağrısı (%10,3) izlemiştir. Gastrointestinal olaylar arasında karın ağrısı, mide ağrısı (%14,6) ve mide bulantısı, kusma ve ishal içeren mide-bağırsak rahatsızlığı (%18,7) ve alerjik reaksiyon (%1,9) belirtilmiştir. Bireylerin kümülatif kas gerginliği, ağrı, seğirme ve/veya sırt ağrısı (%14,0) bildirilmiştir. Baş ağrıları en sık bildirilen nörolojik olay (%18,4) olup bunu baş dönmesi (%12,3) ve titreme (%11,4) izlemiştir. Sık bildirilen fizyolojik olaylar arasında uykusuzluk, uyku ile ilişkili semptomlar (%34,5), gerginlik, huzursuzluk (%25,1) ve sarsılma ve çarpma olayları (%22,6) bulunmaktadır. Sık bildirilen psikolojik olaylar stres (%35,4), depresif duygu durum (%23,0) ve intihar düşüncesi ve girişimidir (%19,8). Artmış idrara çıkma en sık bildirilen renal olay (% 13,0) olup bunu böbrek ağrısı(%0,8) izlemiştir (51).

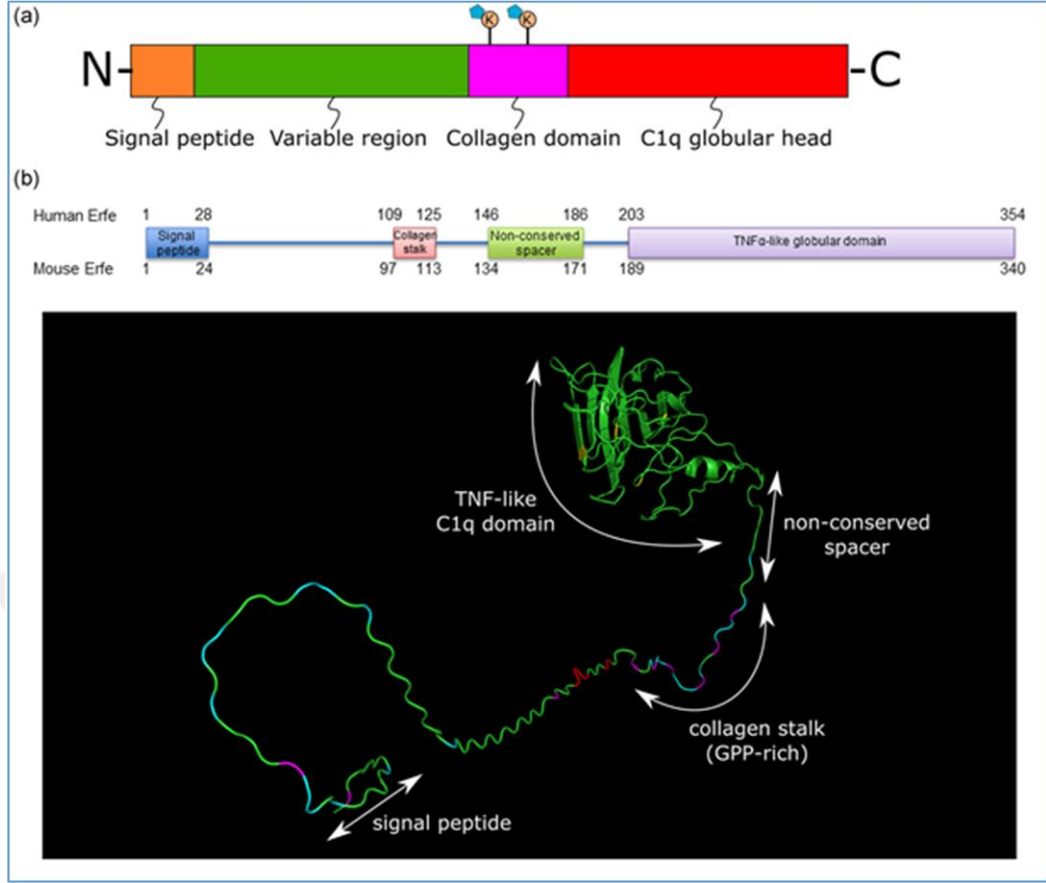
3.4. Miyonektin

3.4.1. Tanımı ve Yapısı

Miyonektin, 2012 yılında Seldin ve arkadaşları tarafından bir miyokin olarak tanımlanmıştır. Tüm vücut yağ asidi metabolizmasını düzenlemek için iskelet kası tarafından salgılanan ve besin maddesine duyarlı bir miyokindir. C1Q/TNF ile ilişkili protein (CTRP) ailesine ait olup CTRP15 olarak da bilinir. Araştırmanın ilk aşamalarında başka bir proteine (CTRP5'e) miyonektin adı verildi. Fakat CTRP15, kas dokusu tarafından daha seçici bir şekilde salgılandığından miyonektin adı CTRP15'e atanmıştır (7,52).

Miyonektin aynı zamanda Kautz ve ark (2014) tarafından kan kaybına yanıt olarak stres eritropoezini karaciğerdeki demir mobilizasyonuna bağlayan eritroblastlarda indüklenen salgılanan bir protein olan eritroferron (ERFE) olarak da tanımlanmıştır (8). Seldin ve ark (2012) çalışmalarının miyonektin ekspresyon analizlerine kemik iliği ve ya dalağı dahil etmemişlerdir (7). Kautz ve ark (2014) eritropoietinin önemli ölçüde eritroferron ekspresyonunu uyardığı bu iki dokuyu dahil etmiştir (8,53).

CTRP15(miyonektin) dahil tüm CTRP ailesinin tahmin edilen aminoasit dizileri adiponektine benzer bir modüler organizasyonu içerir ve dört farklı alandan oluşur. Bu alan protein salgılanmasını yönlendirmek için bir sinyal peptidi, bir N-terminal alanı-1 (NTD1), değişken sayıda Gly- XY tekrarı içeren bir kolajen alanı ve C1Q ile homolog bir C-terminal küresel alanı alanı içerir (54). CTRP15/Miyonektin farede 340 aminoasitten oluşurken insanda 354 aminoasitten oluşur (55).

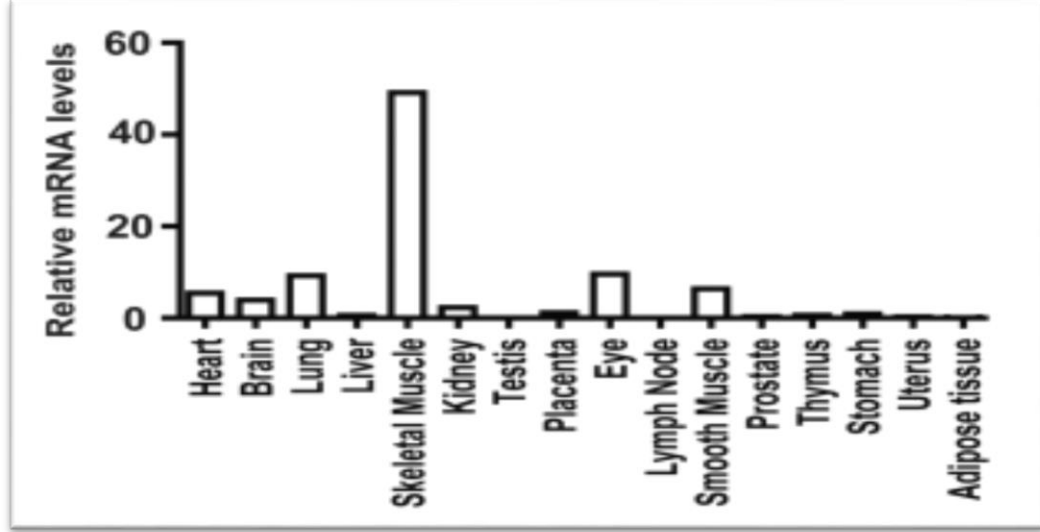


Şekil 2. 1q/TNF ile ilgili protein (CTRP) ve ERFE yapısı. (a) CTRP'lerin genelleştirilmiş alan yapısıdır. Sinyal peptidi, proteini sekresyon için yönlendirir ve son formda çıkarılır. Değişken bölge, CTRP aile üyeleri arasında en az korunan alandır. Kollajen alanı, glisin ve prolin bakımından zengindir ve multimerizasyonu (örneğin, adiponektin) desteklediği bilinen glikosile edilmiş lizin kalıntıları içerebilir. C1Q küresel başının, proteinin en yapılandırılmış parçası olduğu tahmin edilmektedir ve CTRP ailesi üyeleri arasında yüksek oranda korunmaktadır. (b) İnsan ve murin eritroferron alanları ve katlanmış yapının tahminidir (55).

3.4.2. Fizyolojik Rolü

Baskın olarak adipoz doku tarafından eksprese edilen C1Q/TNF ile ilgili birçok proteinin aksine miyonektin esas olarak iskelet kasından türetilen tek üyedir (56). Miyonektin, ağırlıklı olarak iskelet kası tarafından eksprese edilir ve diğer

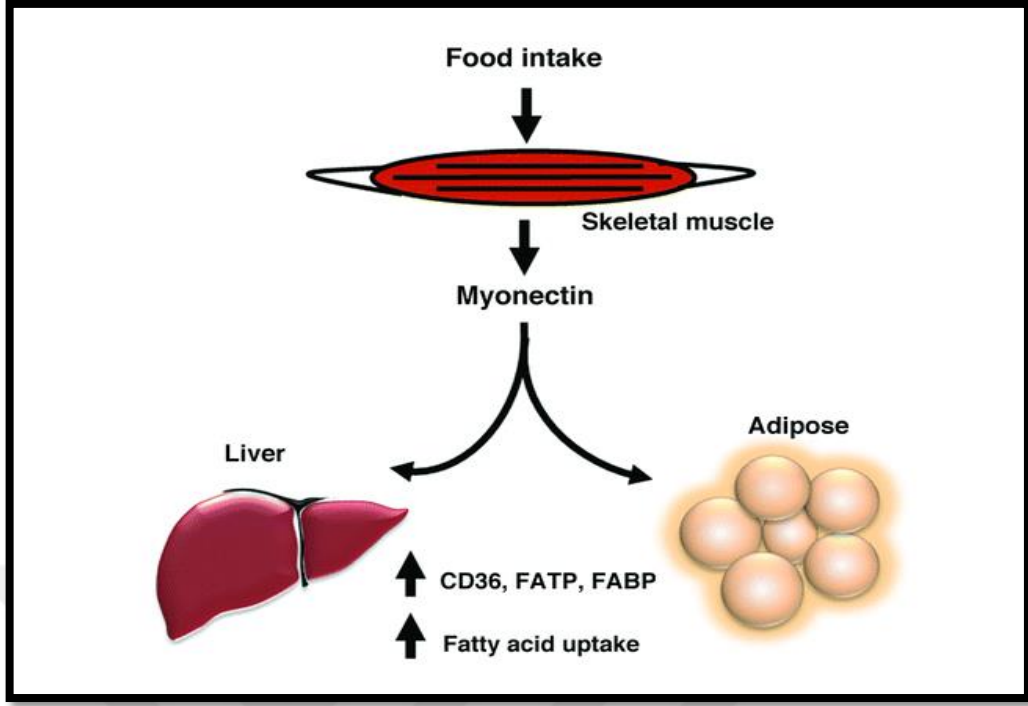
dokularda önemli ölçüde daha düşüktür. Salınımından sonra plazmada/kanda dolaşır (7).



Şekil 3. Fare dokularında miyonektin ekspresyon profili (7).

İskelet kası tarafından besin alımı, miyonektinin ekspresyonunu ve salgılanmasını artırarak, proteinin dolaşımdaki seviyesinin artmasına neden olur. Ekspresyonu ve dolaşım seviyelerinin beslenmeyle akut bir şekilde yükseldiği göz önüne alındığında miyonektin, adipoz ve karaciğer gibi dokulardaki metabolik süreçleri entegre etmek için iskelet kasından türetilen ve yeni bir beslenme sonrası sinyal olarak işlev görür. Bu işlevlerden biri hücrelere serbest yağ asidi alımını teşvik etmektedir (56).

Miyonektin, hepatositlerde ve adipositlerde CD36, yağ asidi taşıma proteinleri (FATP) ve yağ asidi bağlayıcı proteinlerin (FABP) ekspresyonunu indükleyerek, hepatositlere ve adipositlere artan yağ asidi alımına neden olur. Yani karaciğer yağ asidi alımını artırarak sistemik lipid metabolizmasını iyileştirmektedir (56).



Şekil 4. Miyonektin işlev modeli (56).

Miyonektin dokulardan daha fazla asit emerek dolaşımdaki serbest yağ asit miktarını azaltmaktadır. Serbest yağ asitlerinin dolaşım düzeylerini azaltarak ve yağ ile karaciğer dokularında serbest yağ asit alımını artırarak metabolik sağlık sonuçlarını iyileştirdiği gösterilmiştir. Egzersizler miyonektin geninin ekspresyonunu artırır ve obezite miyonektin düzeylerini azaltır (7).

Obezite ile miyonektin arasında ters yönlü ilişki olduğu belirtilmiştir. Seldin ve ark (2012) çalışmalarında yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin iskelet kasında azalmış mRNA seviyelerinden kaynaklanan azalmış miyonektin seviyelerini gösterdiler (7). Bu sonuçlar, dolaşımdaki miyonektin seviyelerinin azalmasının, yağ dokusunda serbest yağ asitlerinin alımının azalmasına ve dolayısıyla serbest yağ asitlerinin dolaşım seviyelerinin yükselmesine ve diğer dokularda ektopik birikime katkıda bulunabileceğini göstermektedir (57).

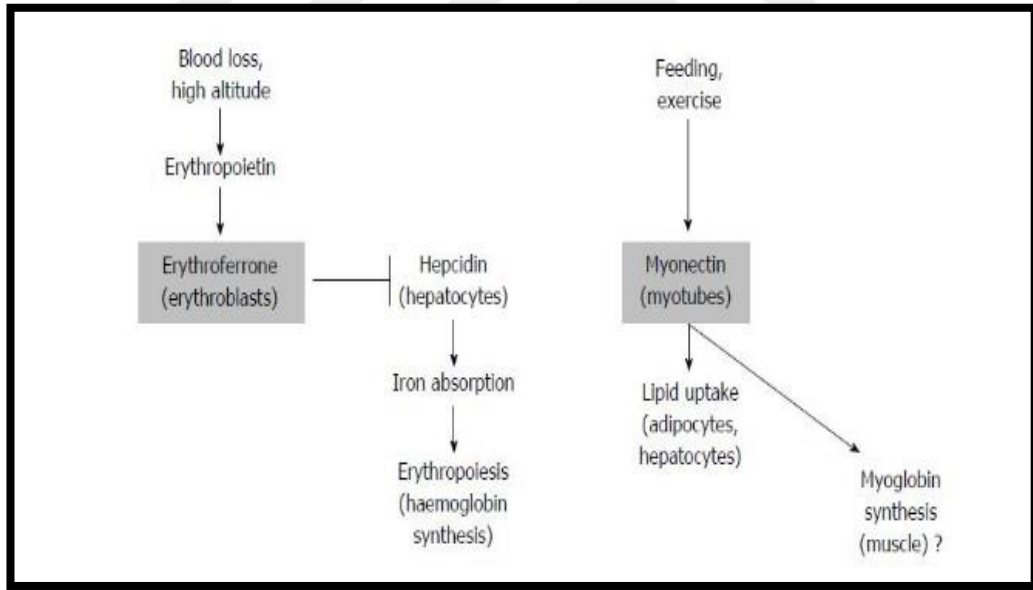
Miyonektinin seviyesinde artış serbest yağ asitlerinin (FFA) plazma konsantrasyonunu azaltır. Miyonektin seviyelerinde fiziksel hareketsizlik ve ya yüksek yağlı diyetin neden olabileceği bir düşüş dolaşımda aşırı FFA ve ardından diğer dokularda birikme ve insülin direnci ile ilişkilendirilmiştir (58).

Demir, hücre solunum, DNA onarımı ve sentezi veya oksijenin bu yolla taşınması gibi birçok biyolojik süreç için gerekli bir elementtir. Kemik iliğinde eritrosit öncüllerinin üretimi ve olgunlaşması vücutta bulunan demirin üçte ikisini harekete geçirir. Yüksek eritropoietik aktivite sırasında artan bir demir gereksinimi olduğunda eritroid öncüleri, eritroid düzenleyici adı verilen bir faktör veya faktörler üretir. Bunların işlevi, kemik iliği için demir mevcudiyetini artırmak amacıyla karaciğerde hepsidin ekspresyonunu bastırmaktır. Yeni bir eritroid düzenleyici olarak tanımlanan eritroferon (ERFE) hepsidini baskılar (59).

Hepsidin, demirin dolaşıma girmesinin önemli bir düzenleyicisidir. Memeli sistemlerinde demir mevcudiyeti, demir düzenleyici hormon hepsidinin hem hepsidin reseptörü hem de bilinen tek hücre solunum demir ihracatçısı olarak işlev gören bir molekül olan ferroportin ile etkileşimi ile kontrol edilir. Hepsidin, ferroportin yoluyla kan plazmasına demir ihracatını azaltarak, demirin depolardan mobilizasyonunu ve diyetdeki demirin emilimini engeller. Demir gerektiren birçok işlem arasında eritropoez, kan plazmasında dolaşan en çok demiri tüketen ve en çok demir alan işlemdir. Artmış eritropoez koşulları altında, hem ve hemoglobin sentezi için yeterli demir içeren gelişen eritroblastları sağlamak için daha fazla demir gerekir. İşte eritroferon hormonu, eritroblastlar tarafından üretilir, hepsidin üretimini baskılamak için hepatositlere etki eder ve böylece diyetle alınan demir emilimini ve depolardan mobilizasyonu artırır (60).

Eritroferronun yeni bir tedavi hedefi olduğu belirtilmektedir. Eritroferronu inhibe ederek, aşırı demir yükü olan kalıtsal anemili hastalarda hepsidin üretimi artırılabilir. Aksine, enflamatuar hastalık, kronik böbrek hastalığı veya kanser ile ilişkili anemili hastalara uygulanarak, aşırı hepsidin ile ilişkili demir eksikliği düzeltilebilir (59).

Miyonektinin metabolik rolüne odaklanan çalışmalar, eritroferonun demir metabolizmasındaki rolüne yönelik olanlardan farklıdır (7,61). Literatüre göre miyonektin iki farklı düzenleyici; bir miyokin ve bir eritroid demir düzenleyicisi olarak rol oynuyor gibi görünmektedir. Eritroferron/Miyonektin'in açıklanan iki işlevini uzlaştırmamanın bir yolu olabilir. Ayrıca, eritropoezde hemoglobin oluşumunu uyaran bir peptit de kasta miyozin oluşumunda rol oynayabilir (62).



Şekil 5. Eritroferronun iki potansiyel etkisi; Kan kaybından sonra, stres eritropoezi eritropoietin tarafından tetiklenir. Bu, eritroblastlardan eritroferron salınımı ve dolayısıyla hepsidinin azalması ile sonuçlanır. Sonuç olarak, demir Emilimi, hemoglobin sentezi ve eritropoez artar. Beslenme ve egzersiz yanıt olarak miyotüpler tarafından üretilen miyonektin (eritroferron), adipositler ve hepatositler

tarafından yağ asidi alımını tetikler. Eritroferronun eritropoezdeki işlevi dikkate alındığında, miyoglobinin düzenlenmesinin miyonektin salınımının olası bir sonucu olduğu ileri sürülmektedir (62).

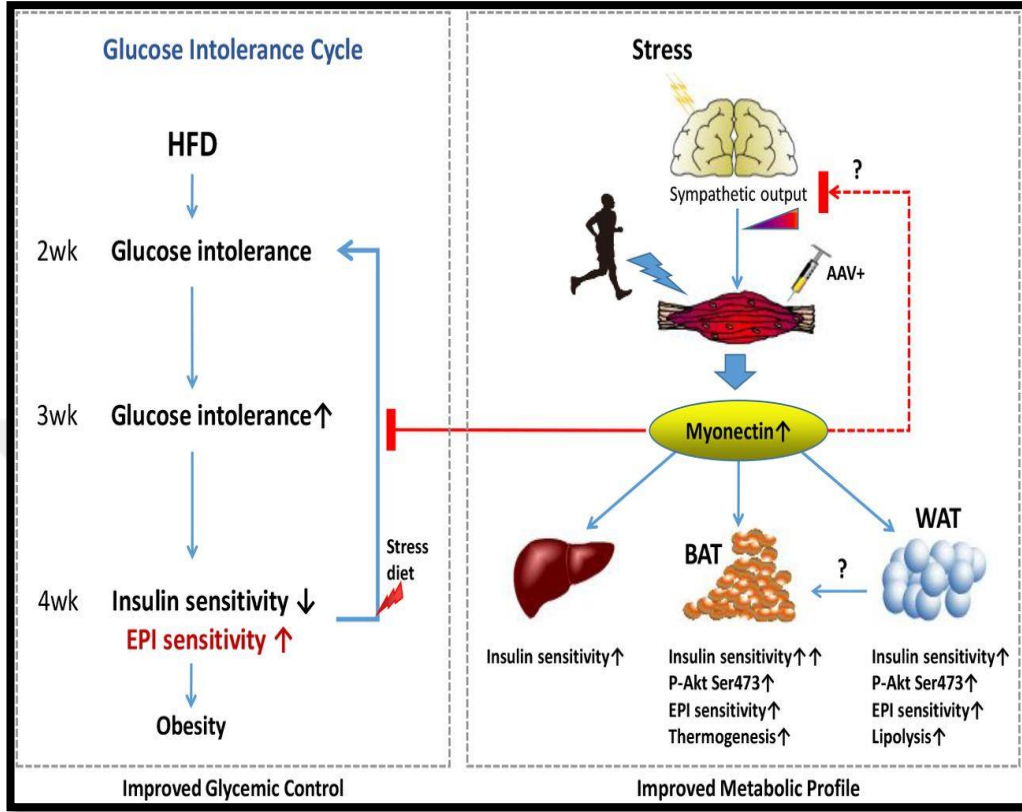
3.4.3. Egzersiz İle İlişkisi

Egzersiz, iskelet kasında miyonektinin salınımını ve dolaşımdaki seviyelerini artırır. Dolaşımdaki miyonektin iskelet kasını, karaciğer ve adipoz dokudaki lipid metabolizmasına bağlayan bir miyokin olarak işlev görür. Miyonektin, kas kasılmasıyla kan dolaşımına salınır ve fonksiyonel olarak insüline benzer. Çünkü yağ asidi taşıma genlerinin (CD36, FATP1, Fabp1 ve Fabp4) artan ekspresyonuyla hücrelere yağ asidi alımını teşvik eder (7,56).

İlginç bir şekilde, oksidatif/yavaş kasılan kas lifi türleri (örneğin soleus) glikolitik/hızlı kasılan kas lifi türlerinden (örneğin plantaris) daha yüksek bir miyonektin seviyesi ifade eder. Bu da mitokondriyal biyogenez ve hücresel enerji durumunu algılamada rol oynayabileceğini düşündürür (7,63). Ek olarak, miyonektin, glikoz alımındaki artışa ve yağ asitlerinin oksidasyonuna katkıda bulunur (64).

Yapılan bir çalışmada ortaya konulan düşünce; miyonektinin, iskelet kası atipik endokrinin önemli bir sinyali olup ekspresyonu ve seruma salınması çeşitli sempatik aktivitelerden (stres, egzersiz, soğuğa maruz kalma, beta-3 reseptör agonistleri vb.) kaynaklanır. Bununla birlikte, aşırı egzersiz yoğunluğu durumunda iskelet kası, miyonektin salınımının inhibisyonu ile kendini gösteren sempatik aşırı yüklenmeye direnebilir. Kana salınan miyonektin, bazı bilinmeyen reseptörler yoluyla hepatik insülin duyarlılığını ve adipositlerin insülin duyarlılığını, lipolizini ve termojenezini artırır. Miyonektin, WAT lipolizini ve BAT termojenezini

artırarak stres kaynaklı kilo kaybına katkıda bulunur. Kısa süreli stres, serum ve iskelet kası miyonektin seviyelerini yükseltir ve glikoz intoleransını iyileştirir (65).



Şekil 6. Sempatik çıktıyı glikoz intoleransının düzenlenmesine ve metabolik profil oluşturmaya dönüştürmede miyonektinin rolünü gösteren model (65).

Demir, dayanıklılık sporcuları için oldukça önemli olan eser bir mineraldir. Demir, enerji metabolizması, oksijen taşınması ve asit-baz dengesindeki rolü nedeniyle optimum atletik performans için kritik öneme sahiptir (66). Sporcular arasında demir eksikliği sıktır. Elit sporcularda sık görülen aerobik egzersiz ve sağlık üzerine zararlı etkilere sahip olabilen demir eksikliği (ID) ve demir eksikliği anemisidir (IDA)'dır. Her tür demir eksikliği fiziksel performansını etkileyebilir ve tedavi edilmelidir. Sporun demir eksikliğine yol açtığı ana mekanizmalar, artan demir talebi, yüksek demir kaybı ve hepsidin patlamaları nedeniyle demir

emiliminin bloke olmasıdır (67). Maraton koşusu kaynaklı hipoksi durumunda eritroferron biyosentezi uyarılır ve hepsidin biyosentezi üzerinde inhibe edici bir etki gösterir (68). Fakat yüksek irtifada hepsidinin baskılanması için eritroferronun açık bir rolü tanımlanmamaktadır (69).



4.GEREÇ VE YÖNTEM

Fırat Üniversitesinde yer alan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 22.09.2020 tarihli 413140 sayılı ve 2020/13 oturum sayılı etik kurul izni alınarak çalışmaya başlanmıştır. Bu tez çalışması; BSY-21-02 proje numarası ile Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) birimi tarafından desteklenmiştir.

Araştırmada kullanılan doku örnekleri Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 08.11.2017 tarihli ve 226744 sayılı ve 224 karar nolu etik kurul onayı ile yürütülen 'Sıçanlarda Enerji İçeceği Uygulaması İle Treadmill Egzersizinin ANGPTL8, Elabela, Serbest Radikaller, Antioksidanlar ve Lipit Metabolizması Üzerine Etkisi' başlıklı projeden alınmıştır.

4.1. Deney Hayvanlarının Barınma ve Beslenmeleri

Deney hayvanları FÜDAM'dan temin edilerek bakımları ve beslenmeleri aynı merkezde yapılmıştır. Çalışma süresince deney hayvanlarının barınmaları veteriner hekim kontrolünde, özel hazırlanmış kafeslerde, günlük temizlik ve bakımları yapılarak, sabit ısı (22-25°C) odalarda, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsü içinde ve % 40±5 nem ile laboratuvar koşullarında sağlanmıştır. Ratların beslenmeleri ad libitum olarak 8 mm standart rat pelet yemleri ve içme suları ise cam biberonlar ile sağlanmıştır.

4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Dört haftalık ortalama 101,96±9,75 gram ağırlığında, Wistar-Albino ırkı, toplam 28 adet erkek rat çalışmaya dâhil edilmiştir. Güç analizi yapılarak rat sayıları belirlenmiş ve ratlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrılmıştır. Gruplar aşağıdaki gibidir:

Kontrol Grubu (n=7): Standart yem ile beslenen hiçbir uygulamanın yapılmadığı grup.

Egzersiz Grubu (n=7): Günlük standart yem ile beslenen ve dört hafta boyunca günlük 30 dakika treadmill egzersizi yaptırılan grup.

Enerji İçeceği Grubu (n=7): Günlük standart beslenme ile birlikte dört hafta boyunca günde tek doz gavaj yöntemiyle (3,57 ml/kg/gün) enerji içeceği verilen gruptur. Deney hayvanlarının kiloları haftalık takibi yapılmış ve enerji içeceği dozu grupların kilo ortalamalarına göre ilk hafta 3,57 ml/kg, ikinci hafta 7 ml/kg/gün, üçüncü ve dördüncü hafta 10 ml/kg/gün şeklinde artırılarak uygulanmıştır. Enerji içeceği uygulaması sabah aynı saatlerde egzersizlerden önce rat başına tek doz gavaj yöntemi ile piyasada mevcut enerji içeceği (RedBull) verilerek yapılmıştır. Enerji içeceği uygulaması Mubarak'ın (2012) uyguladığı şekilde verilmiştir (70) .

Egzersiz+Enerji İçeceği Grubu (n=7): Günlük standart beslenmeye ek olarak dört hafta boyunca gavaj yolu ile tek doz (3,57 ml/kg/gün) enerji içeceği verilen ve dört hafta süresince 30 dk/gün treadmill egzersizi yaptırılan grup olarak ayrılmıştır.

4.3. Treadmill Egzersiz Uygulaması

Treadmill egzersiz prosedürünün birden fazla uygulaması bulunmaktadır. Bu çalışmada kullanılan treadmill prosedürü: egzersiz ve egzersiz+enerji içeceği grupları iki hafta boyunca haftada beş gün, günde 15 dakika en düşük hızla 10 cm/sn. ile %0 eğimli kemirgenler için koşu bandında uyum egzersizi şeklinde uygulanmıştır. Daha sonraki dört haftalık deney süresince Rico ve arkadaşlarının (1999) geliştirmiş olduğu koşu bandı protokolüne uygun olarak haftada beş gün, günde 30 dakika ile ortalama 45 cm/sn hız ile uygulama sürdürülmüştür (71).

4.4. Örneklerin Alınması ve Saklanması

Tüm gruptaki ratlar etik kurallara uyularak 224 nolu proje sonunda sakrifiye edilmiş ve karaciğer, böbrek ve iskelet kası dokuları alınmıştır. Ratlardan alınan karaciğer, böbrek ve iskelet kası doku örneklerinde ELISA yöntemi ile çalışabilmek için dokular -80 °C’de muhafaza edilmiştir. Alınan karaciğer, böbrek ve iskelet kası doku örneklerinde immünohistokimyasal yöntem ile çalışabilmek için dokular %10’luk formaldehite alınmış ve Tablo 4.2’deki prosedüre uyularak dokular parafine gömülerek muhafaza edilmiştir.



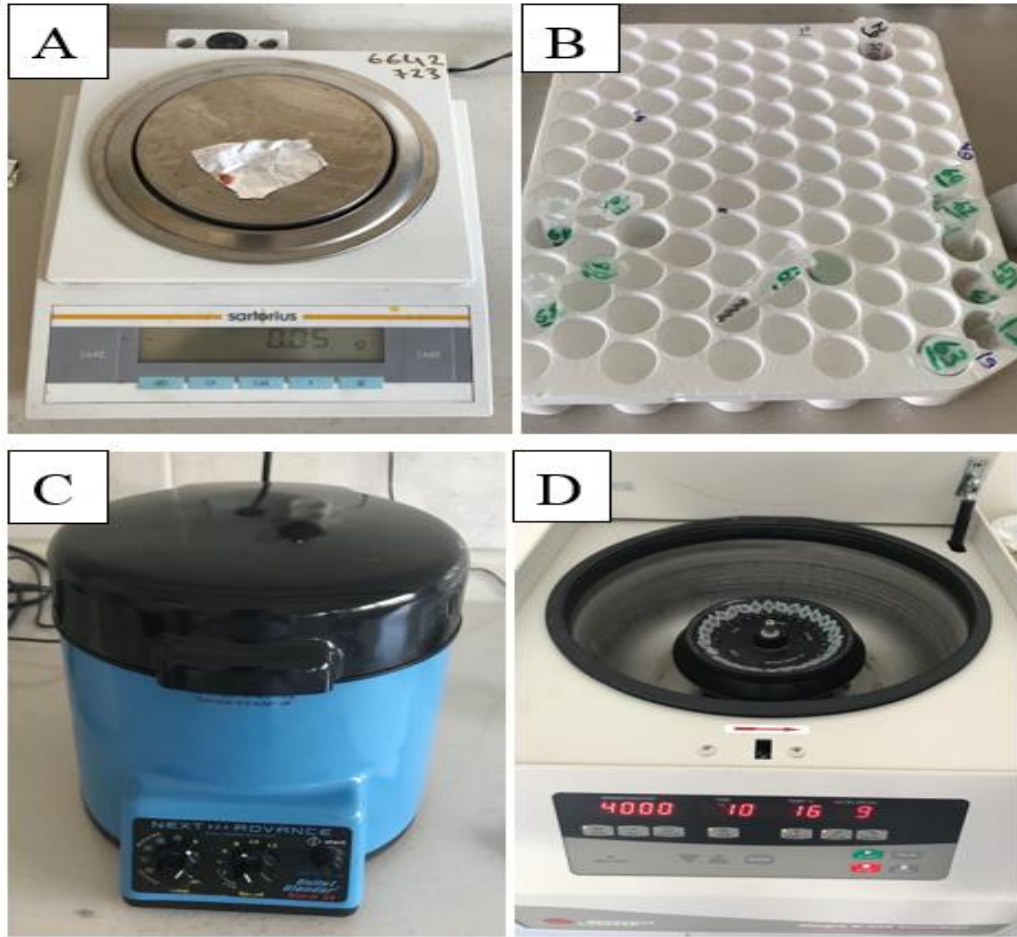
Şekil 7. ELISA için -80 °C’de muhafaza edilen doku örnekleri

4.5. ELISA Yöntemi İle Numunelerin Analizi

4.5.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Dokularda çalışabilmek için -80 °C’de saklanan karaciğer, böbrek ve iskelet kas doku örnekleri çıkartıldı. Dokular çözündükten sonra dokularda bulunan kalıntıları uzaklaştırmak için fosfat tampon solüsyonu ile yıkandı. Her gruptaki her bir doku örneğinden doku numuneleri steril bistüri kesildi ve hassas terazide 50 mg tartıldı. Daha önceden numaralandırılan her ependorfa 50 mg doku ile birlikte 3.2

mm çaplı 4 tane doku homojenizatör boncuğu (500 gr) ve 450 µl PBS konuldu. Homojenize için hazır olan mikrosantrifüj tüplerinin ağzları kapatıldı ve homojenizatörün (Bullet Blender, USA) içerisine yerleştirildi. Doku örnekleri homojenizasyon cihazında 5 dakika 8 şiddetinde homojenize edildi. Kontrol edildikten sonra 4000 RPM'de +4 °C'lik soğutmalı santrifüjde (Backman Coulter, Allegra® X-30 model) tekrar homojenize edildi. İşlemden sonra elde edilen süpernatant tabaka başka bir ependorf tüpe aktarıldı ve ELISA analizinde kullanılmak üzere saklandı.



Şekil 8. Homojenizasyon işleminin bileşenleri (Hassas tartıda 50 mg doku tartma işlemi (A), homojenizatör boncuğu ve PBS suyu ile hazırlanan ependorflar (B), homojenizasyon cihazı (C) ve soğutmalı santrifüj (D).

4.5.2. Miyonektinin ELISA Yöntemi Ölçümü

Elde edilen numunelerde rat miyonektin seviyeleri; ELISA yöntemiyle 201-11-6491 (Sunred Biological Technology Co., Ltd., Shanghai, CHINA) katalog numaralı kit katoloğunda verilen çalışma yönergelerine uygun olarak analiz edilmiştir. Rat miyonektin ELISA kitinin ölçüm aralığı: 0.1 ng/ml- 30 ng/ml, sensitivitesi 0.085 ng/ml, Intra-Assay: CV<10%, Inter-Assay: CV<12% olarak kılavuzda yer almaktadır. Kit içeriğinde bulunan malzemeler aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 1. Kit içeriği

Malzemeler	Miktarı
Standart solüsyonu (32 ng/ml)	0,5 mL
Standart dilüenti	3 mL
ELISA mikropaleti	12kuyucukX8strips
Str-HRP Konjugat Reaktif	6 mL
Yıkama solüsyonu	20 mL
Biotin	1 Ml
Kromojen A solüsyonu	6 mL
Kromojen B solüsyonu	6 mL
Stop solüsyonu	6 mL
Çalışma Klavuzu	1
Plate Kapama Jelatini	2

Kullanılan cihazlar plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) marka, absorbans okumalarında ChroMate, Microplate Reader P4300 marka cihazları (Awareness Technology Instruments, USA) kullanılmış ve test sonuçları ng/ml olarak belirtilmiştir.



Şekil 9. Araştırmacılar tarafından ELISA yönteminin uygulanması

4.6. İmmünohistokimyasal Yöntem İle Numunelerin Analizi

4.6.1. Doku Takibi ve Kesitlerin alınması

Tüm ratlardan alınan karaciğer, böbrek ve iskelet kas dokuları formaldehitte tespit edildikten sonra dokular 12 saat çeşme suyunda bırakıldı ve Tablo 4.1'deki prosedüre uyularak histolojik takip serilerinden geçirildi. Sonrasında dokular parafin bloklara gömüldü ve bu parafin bloklardan mikrotom (Leica, RM2125, Wetzlar, Almanya) ile 5-6 μ m kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler immünohistokimya metodu ile boyandı. Boyanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Leica DM500) incelendi ve fotoğraflandı (Leica DFC295).

Tablo 2. Histolojik takip serileri

Sıra	İşlem	İşlem Süresi
1	% 70'lik Alkol	2 saat
2	% 80'lik Alkol	1,5 saat
3	% 96'lık Alkol I	30 dakika
4	% 96'lık Alkol II	30 dakika
5	% 100'lük Alkol I	30 dakika
6	% 100'lük Alkol II	30 dakika
7	Alkol+Ksilol	15 dakika
8	Ksilol I	15 dakika
9	Ksilol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin+Ksilol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin+Sert parafin	1,5 saat
13	Sert parafin	3 saat
14	Gömme	

4.6.2. İmmünohistokimyasal Boyama Metodu

Çalışmada yer alan karaciğer, böbrek ve iskelet kası dokularının immünohistokimyasal analizleri için immünperoksidaz (72,73) yöntemi uygulandı. İmmünohistokimyasal boyama işlemi için polilizinli lamlara parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığındaki kesitler alındı. Bu kesitler deparafinize edildi ve dereceli alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra antigen retrieval için 15 dakika süre ile sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) kaynatıldı. Oda ısısında dokular 20 dakika bekletildi ve soğuyan dokular 15 dakika boyunca PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için dokular 5 dakika hidrojen peroksit blok solüsyonu ile inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block, TA-125-HP, Lab Vision

Corporation, USA). Daha sonra 5 dakika Ultra V Block (TA-125- UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu spesifik olmayan bağlanmaları engellemek için dokulara uygulandı. Bu işlemler tamamlandıktan sonra 60 dakika, nemli ortamda, oda ısısında, 1/150 oranında sulandırılan primer antikor (Rabbit miyonektin) ile dokular inkübe edildi. Dokular, PBS ile 15 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti mouse/rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, 34 USA) ile nemli ortamda oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. Sekonder antikor uygulanma aşamasından sonra dokular tekrar PBS ile 15 dakika yıkanıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile nemli ortamda oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra dokular tekrar PBS ile yıkandı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate+AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatıldı ve ışık mikroskopunda görüntü sinyali alınır alınmaz dokular PBS ile yıkamaya alındı. Dokuların zıt boyaması Mayer's hematoksilen ile yapıldı. Zıt boyama işlemi tamamlandıktan sonra dokular PBS ve distile sudan geçirildi. Daha sonra boyama işlemi tamamlanan dokular uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Leica DM500 mikroskopunda hazırlanan preparatlar incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295).

Yapılan immünohistokimyasal boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1:<%25, 0.4:%26-50, 0.6:%51-75, 0.9:%76-100) ve şiddeti (0:yok, +0.5: çok az, +1:az, +2: orta, +3:şiddetli) esas alınarak, histoskor (yaygınlık x şiddet) yapıldı.

4.7.İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen verilerin analiz edilmesinde istatistik SPSS 22.0 paket programı kullanılmıştır. Verilerin normal dağılımlarını sınamak için Shapiro-Wilk testi yapılmıştır. Normal dağılım sağlama kriterini göz önünde bulundurarak üç ve daha fazla grup karşılaştırmalarında One Way Anova testi, gruplar arasında ortaya çıkan farklılıkların hangi gruplarda arasında olduğunu belirlemek için ise Post-Hoc testlerinden LDS, Scheffe testleri kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler olarak aritmetik ortalama, standart sapma tekniklerden yararlanıldı.

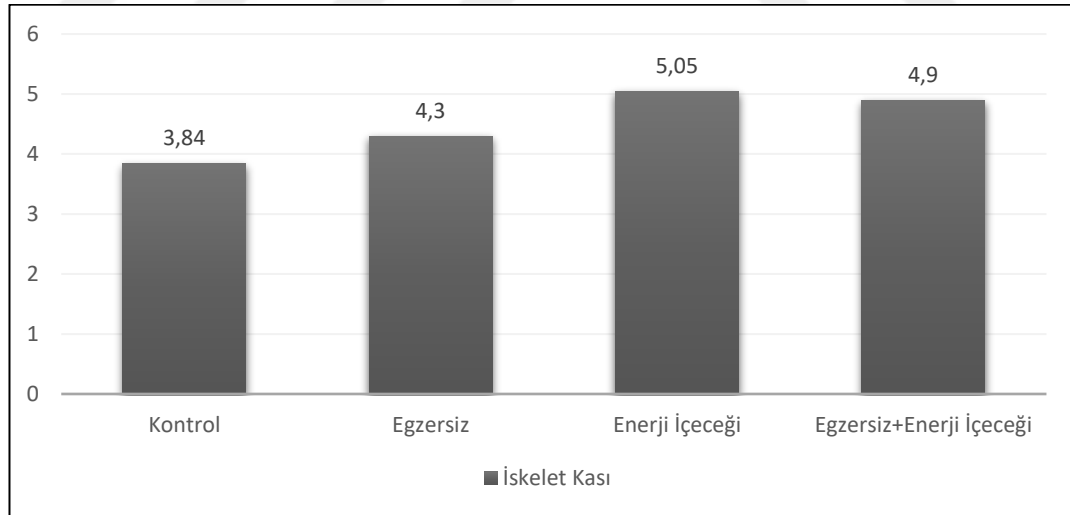
5.BULGULAR

5.1. ELISA Bulguları

Araştırmada dört hafta boyunca ratlara enerji içeceği verilmesi ve egzersiz uygulaması sonucunda iskelet kası, karaciğer, böbrek dokularının biyokimyasal parametrelerinin sonuçları analiz edilerek ortalama, standart sapma, ρ değeri ve gruplar arası farklılıklar tablolar halinde sunulmuştur.

Tablo 3. İskelet Kası Miyonektin Değerlerinin Analizi

Grup	N	Ortalama	SD	F	P	Grup Fark
Kontrol ¹	7	3.84	0.71			
Egzersiz ²	7	4.30	0.46			1<3.4
Enerji İçeceği ³	7	5.05	0.87	4.455	0.01	2<3
Egzersiz+Enerji İçeceği ⁴	7	4.90	0.67			



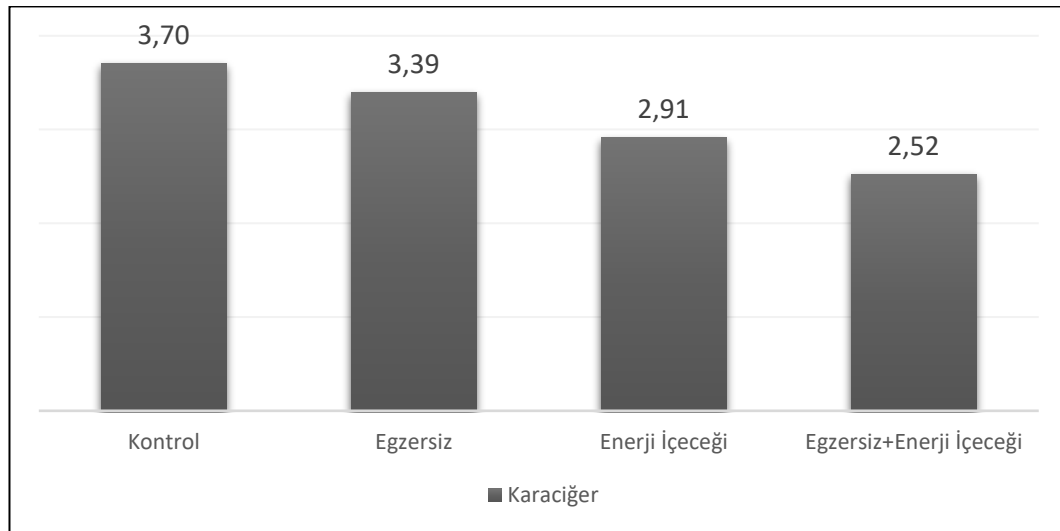
Şekil 10. Çalışma Gruplarına Ait İskelet Kası Miyonektin Seviyeleri Grafiği

Araştırma grubunun iskelet kası miyonektin değerleri incelendiğinde; gruplar arası miyonektin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($F=4.455$, $P=0.01$). Kontrol grubu, 3.84 ± 0.71 ; egzersiz grubu,

4.30±0.46; enerji içeceği grubu, 5.05±0.87; egzersiz+enerji içeceği grubu, 4.90±0.67 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arası iskelet kası miyonektin ekspresyon değerleri incelendiğinde; enerji içeceği ve egzersiz+enerji içeceği grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her iki grupta da anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi. Egzersiz grubunda ise elde edilen sonuç kontrol grubuyla benzerdi. Bir diğer istatistiksel olarak anlamlı fark ise egzersiz ve enerji içeceği grubu arasındadır (F=4.455, P=0.01). En yüksek miyonektin seviyesi takviye grubunda izlenirken en düşük değer kontrol grubunda tespit edilmiştir.

Tablo 4. Karaciğer Miyonektin Değerlerinin Analizi

Grup	N	Ortalama	SD	F	P
Kontrol ¹	7	3,70	1,07		
Egzersiz ²	7	3,39	0,46		
Enerji İçeceği ³	7	2,91	0,58	2.602	0.07
Egzersiz+Enerji İçeceği ⁴	7	2,52	1,10		

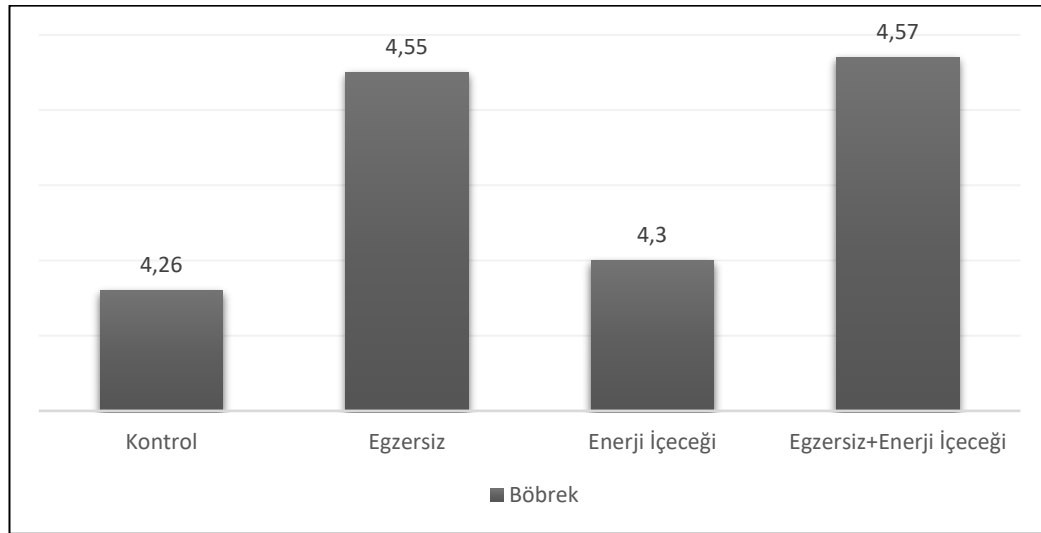


Şekil 11. Çalışma Gruplarına Ait Karaciğer Miyonektin Seviyeleri Grafiği

Araştırma grubunun karaciğer miyonektin değerleri incelendiğinde; gruplar arası miyonektin ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($F=2.602$, $P=0.07$). Kontrol grubu, 3.70 ± 1.07 ; egzersiz grubu, 3.39 ± 0.46 ; enerji içeceği grubu, 2.91 ± 0.58 ; egzersiz+enerji içeceği grubu, 2.52 ± 1.10 olarak tespit edilmiştir. En yüksek miyonektin seviyesi kontrol grubunda izlenirken en düşük değer egzersiz+enerji içeceği grubunda tespit edilmiştir.

Tablo 5. Böbrek Miyonektin Değerlerinin Analizi

Grup	N	Ortalama	SD	F	P
Kontrol ¹	7	4,26	1,83	0.172	0.91
Egzersiz ²	7	4,55	0,41		
Enerji İçeceği ³	7	4,30	0,54		
Egzersiz+Enerji İçeceği ⁴	7	4,57	0,69		



Şekil 12. Çalışma Gruplarına Ait Böbrek Miyonektin Seviyeleri Grafiği

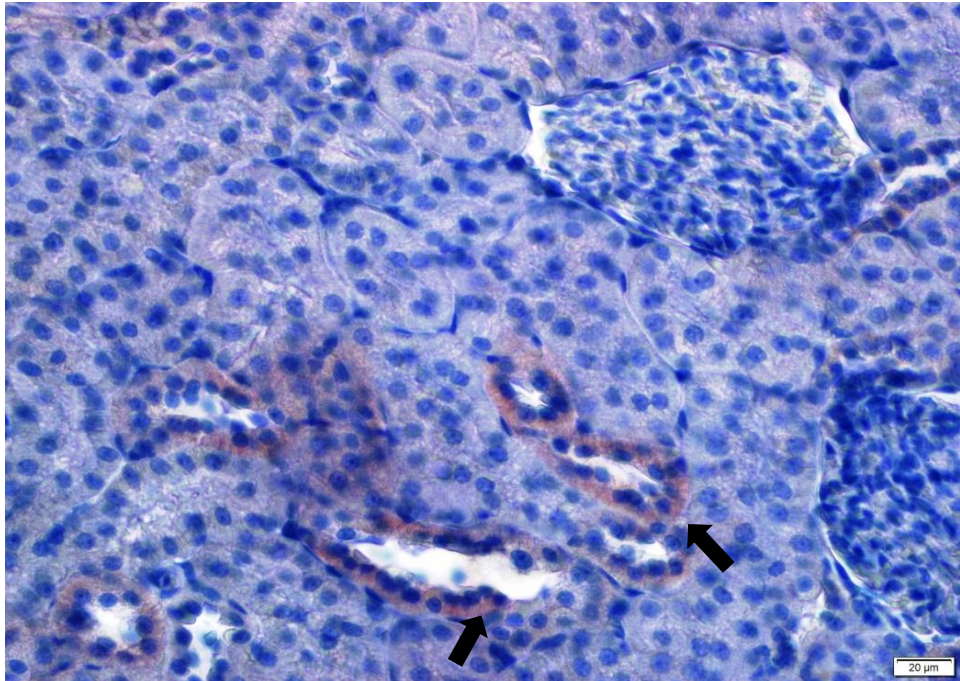
Araştırma grubunun böbrek miyonektin değerleri incelendiğinde; kontrol grubu, 4.26 ± 1.83 ; egzersiz grubu, 4.55 ± 0.41 ; enerji içeceği grubu, 4.30 ± 0.54 ; egzersiz+enerji içeceği grubu, 4.57 ± 0.69 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arası

böbrek miyonektin ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($F=0.172$, $P=0.914$). En yüksek miyonektin seviyesi egzersiz+enerji içeceği grubunda izlenirken en düşük değer kontrol grubunda tespit edilmiştir.

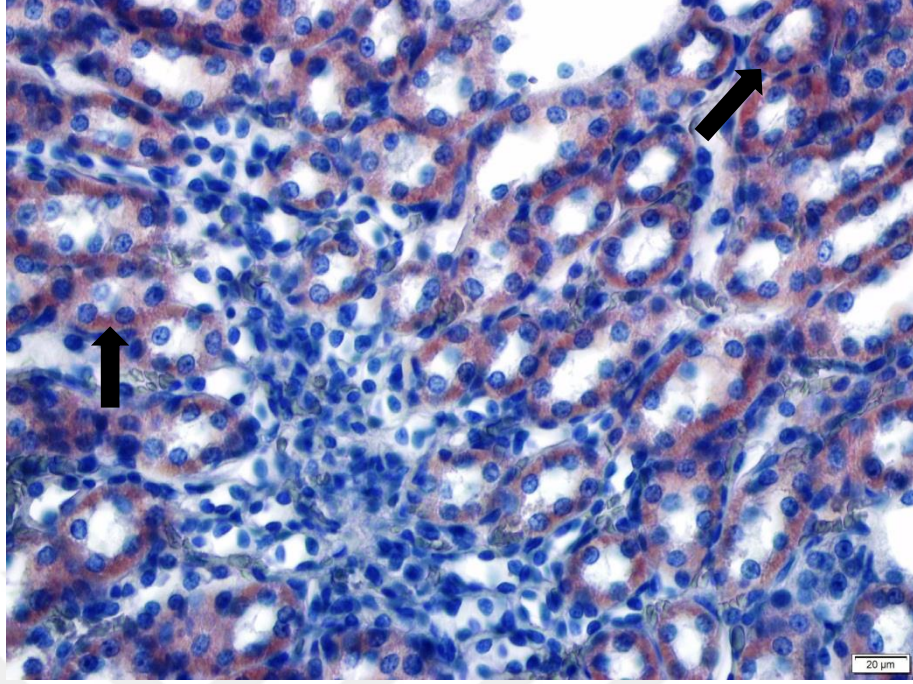
5.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

5.2.1. Böbrek Dokusuna Ait Bulgular

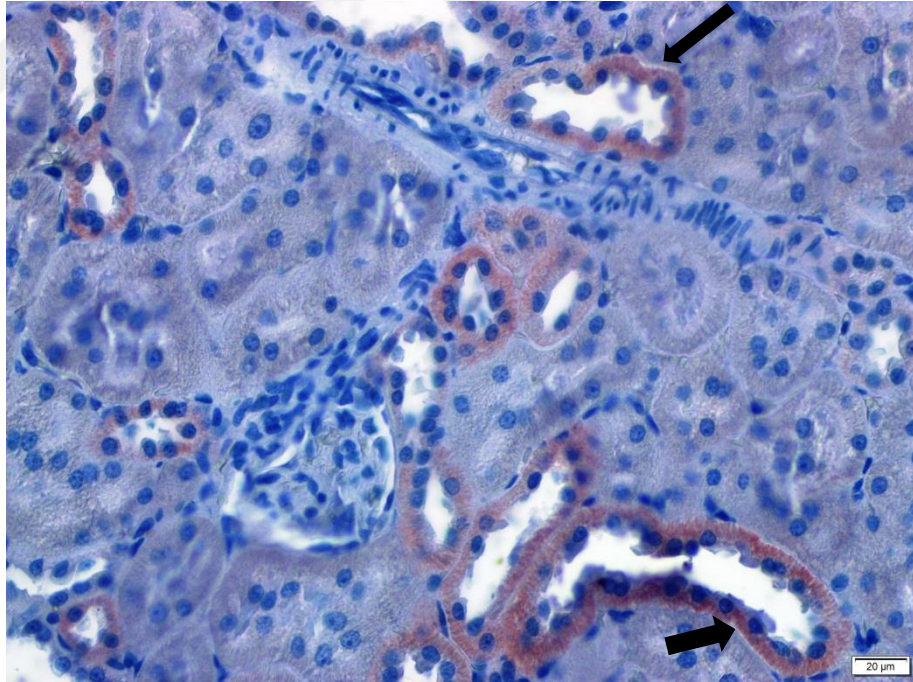
Böbrek dokusuna ait immünohistokimyasal bulgular incelendiğinde böbreğin korteks ve medulla kısmında bulunan distal tübüllerde miyonektin pozitifliğine rastlanmıştır. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında kontrol grubuna ait böbrek miyonektin seviyesi en düşük egzersiz+enerji içeceği grubunda ise en yüksek olarak gözlemlendi. Kontrol grubu ile enerji içeceği grubu karşılaştırıldığında miyonektin pozitifliğinin birbirine yakın olduğu gözlemlendi. Kontrol grubu ile egzersiz grubu karşılaştırıldığında miyonektin pozitifliğinin egzersiz ve grubunda daha yüksek olduğu gözlemlendi.



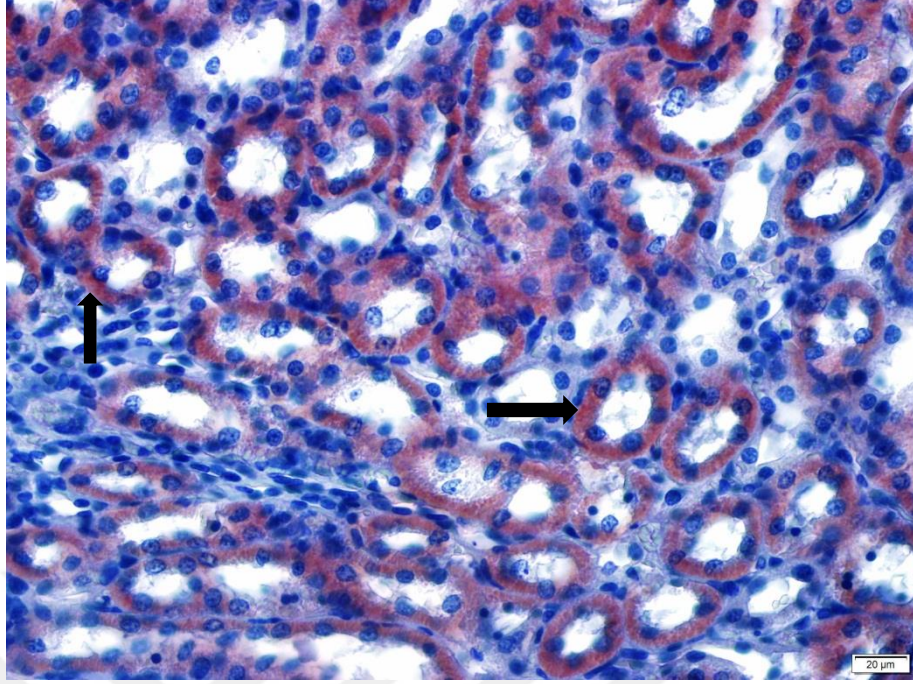
Şekil 13. Kontrol grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek korteksindeki distal tübüllerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



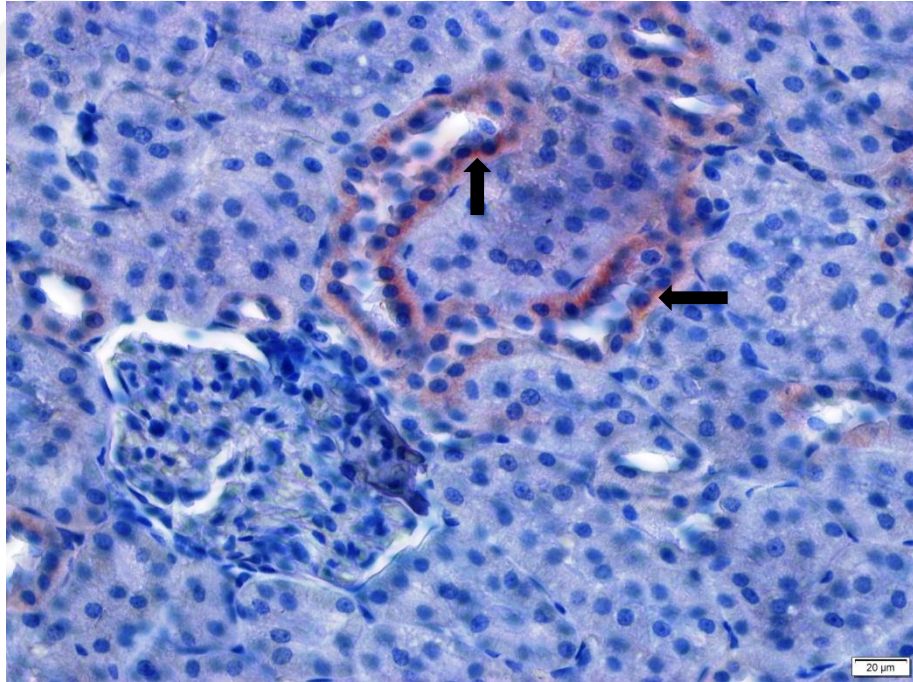
Şekil 14. Kontrol grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek medullasındaki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



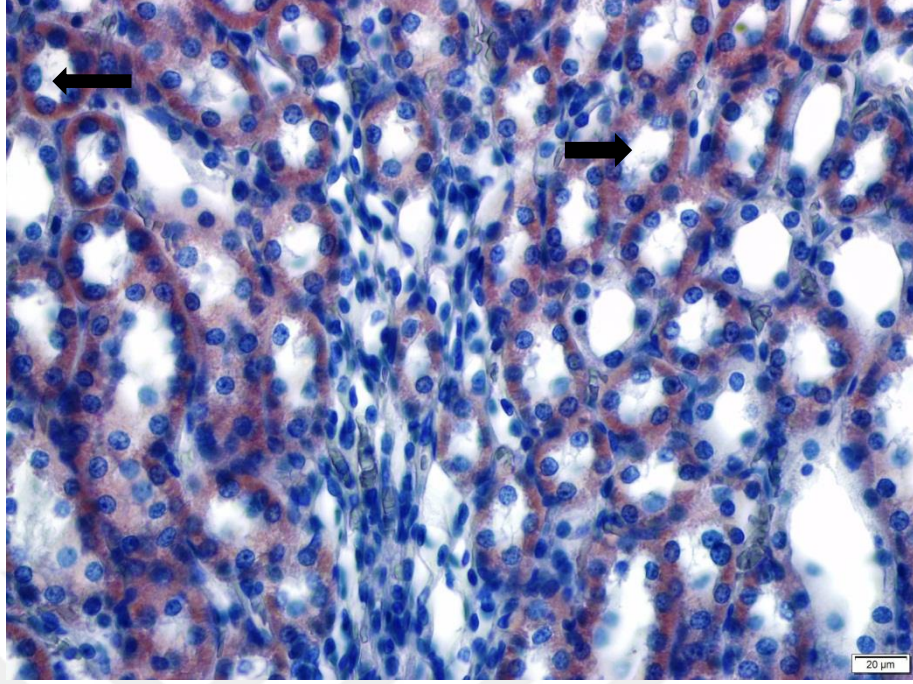
Şekil 15. Egzersiz grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek korteksindeki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



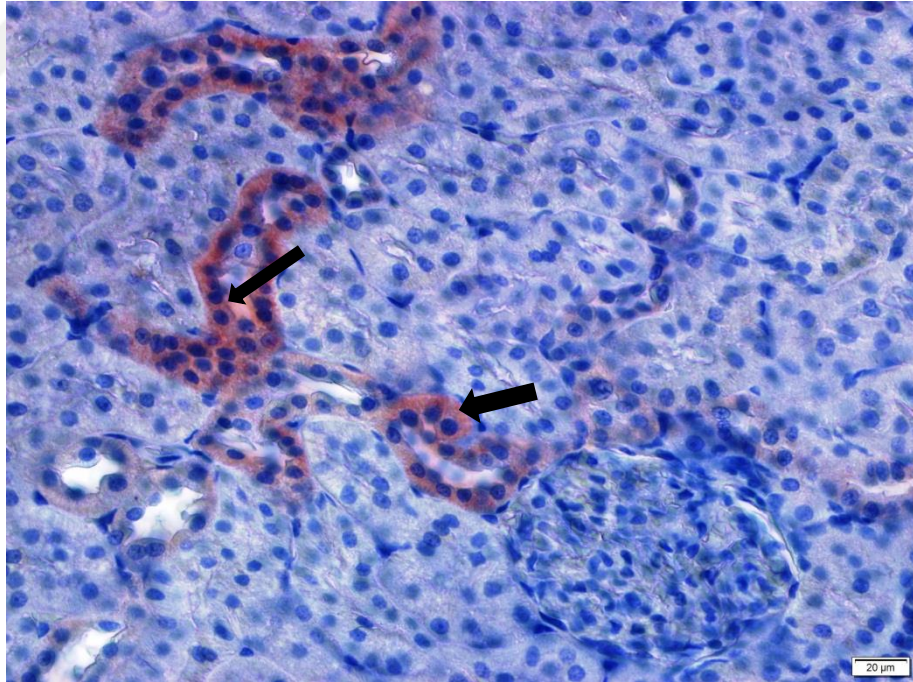
Şekil 16. Egzersiz grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek medullasındaki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



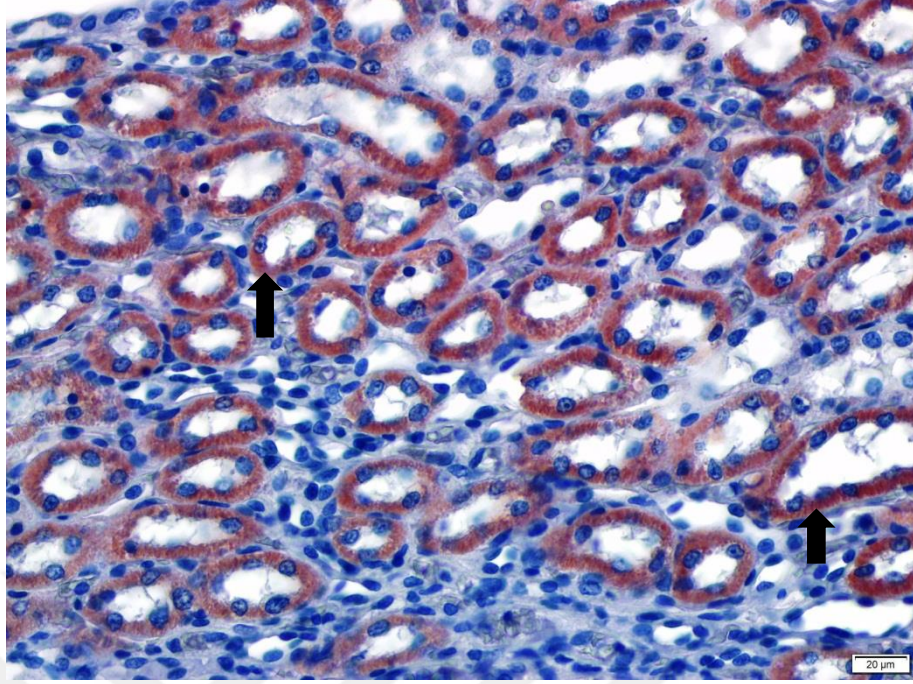
Şekil 17. Enerji içeceği grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek korteksindeki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



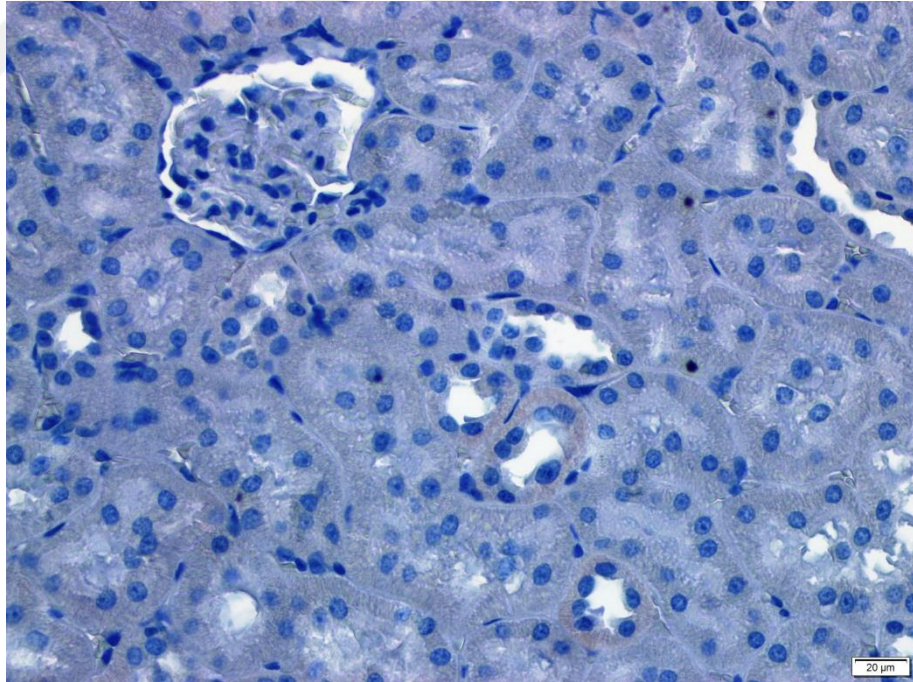
Şekil 18. Enerji içeceği grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek medullasındaki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



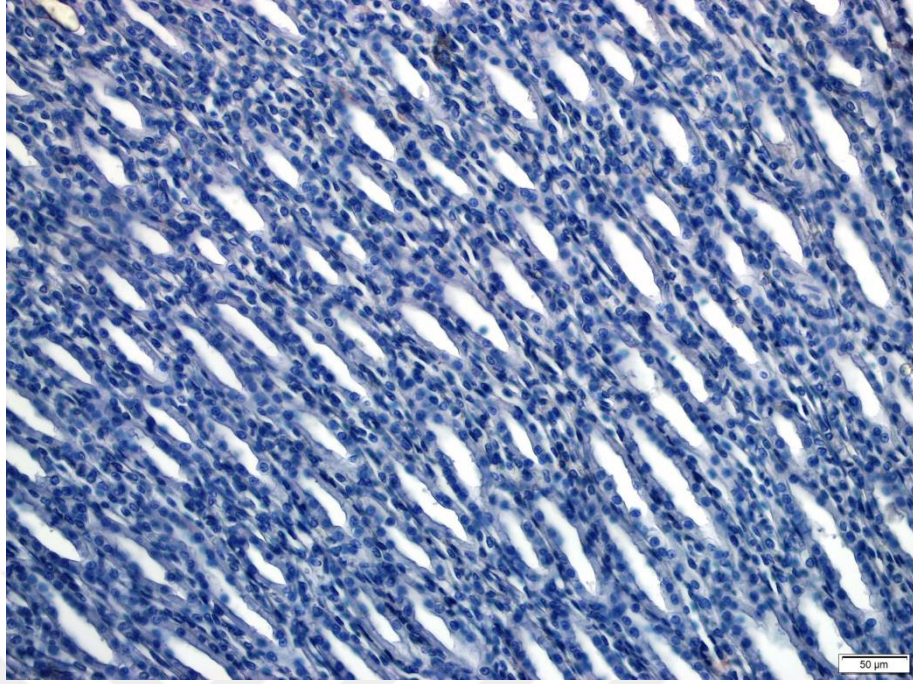
Şekil 19. Egzersiz+Enerji içeceği grubuna ait böbrek dokusu Böbrek korteksindeki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



Şekil 20. Egzersiz+Enerji içeceği grubuna ait böbrek dokusu. Böbrek medullasındaki distal tubüllerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



Şekil 21. Negatif kontrol (Böbrek korteksindeki distal tubüller)

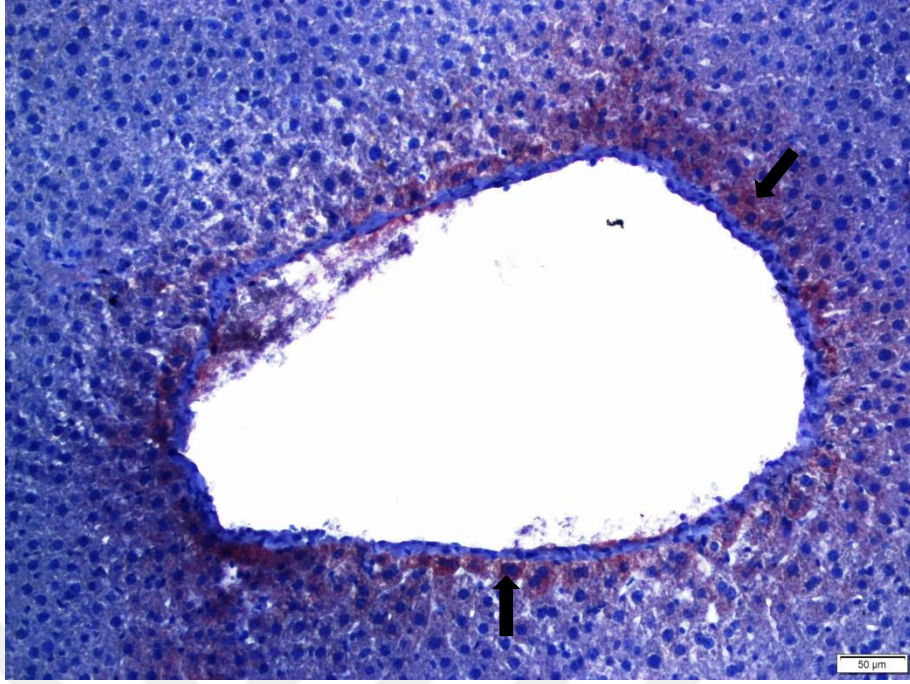


Şekil 22. Negatif kontrol (Böbrek medullasındaki distal tubüller)

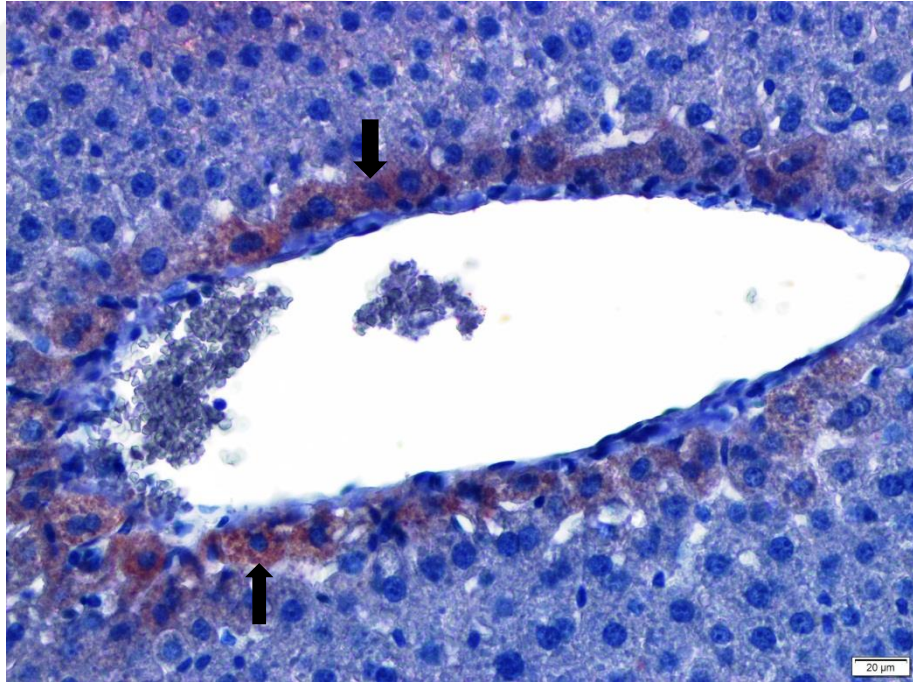
5.2.2.Karaciğer Dokusuna Ait Bulgular

Karaciğer dokusuna ait immünohistokimyasal bulgular incelendiğinde karaciğerdeki vena sentralisin etrafındaki hepatositlerde miyonektin pozitifliğine rastlanmıştır.

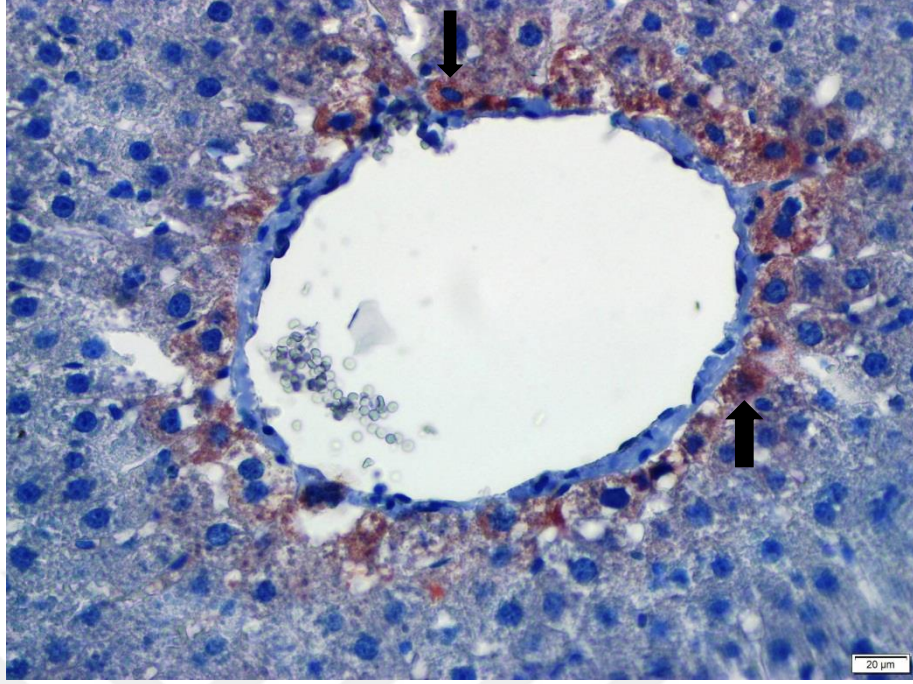
Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında kontrol grubuna ait karaciğer miyonektin seviyesi en yüksek, egzersiz+enerji içeceği grubunda ise en düşük olarak gözlemlendi. Kontrol grubu ile egzersiz grubu karşılaştırıldığında miyonektin pozitifliğinin egzersiz grubunda azaldığı gözlemlendi. Kontrol grubu ile enerji içeceği grubu karşılaştırıldığında miyonektin pozitifliğinin enerji içeceği grubunda azaldığı gözlemlendi.



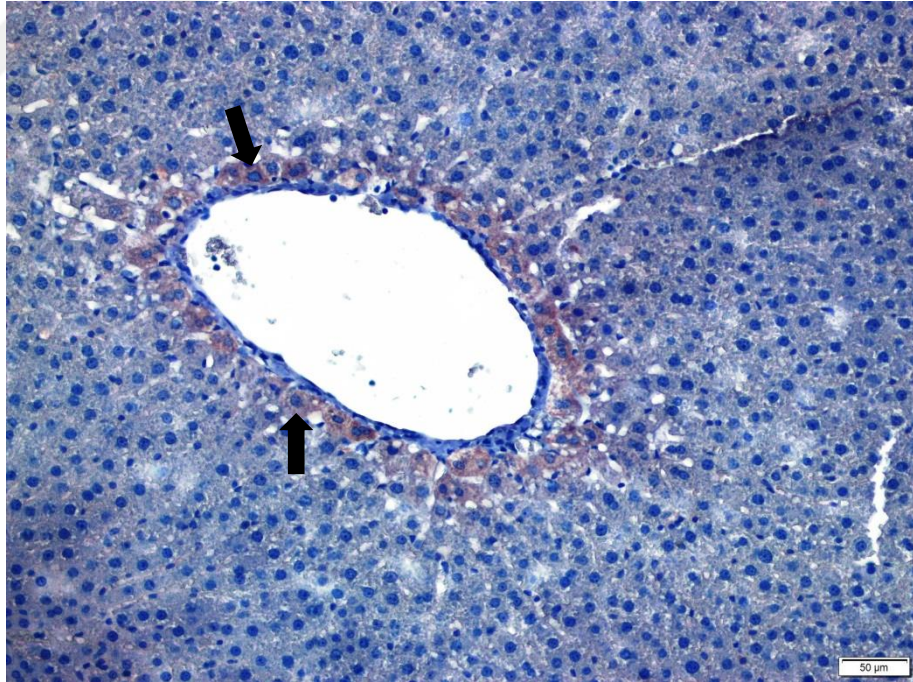
Şekil 23. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu. Vena sentralisin etrafındaki hepatositlerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



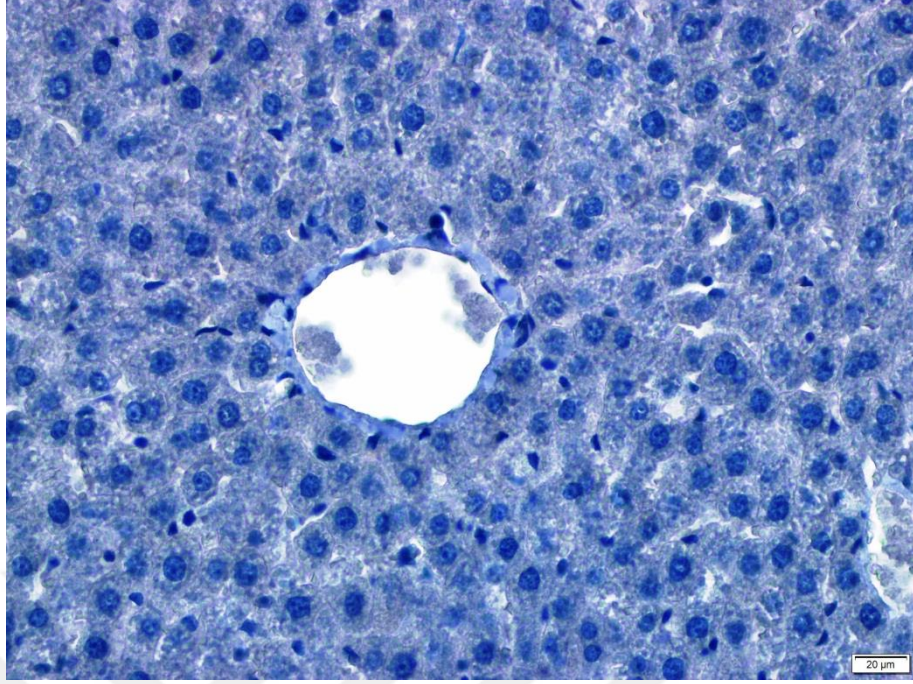
Şekil 24. Egzersiz grubuna ait karaciğer dokusu. Vena sentralisin etrafındaki hepatositlerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



Şekil 25. Enerji içeceği grubuna ait karaciğer dokusu. Vena sentralisin etrafındaki hepatositlerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



Şekil 26. Egzersiz+Enerji içeceği grubuna ait karaciğer dokusu Vena sentralisin etrafındaki hepatositlerde miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).

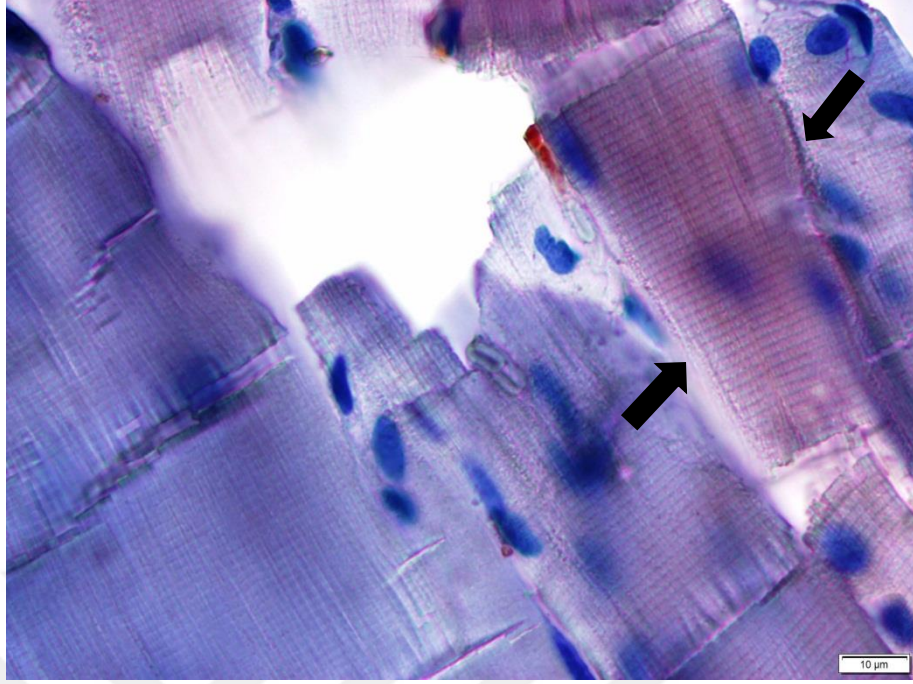


Şekil 27. Negatif kontrol (Vena sentralis ve etrafındaki hepatositler)

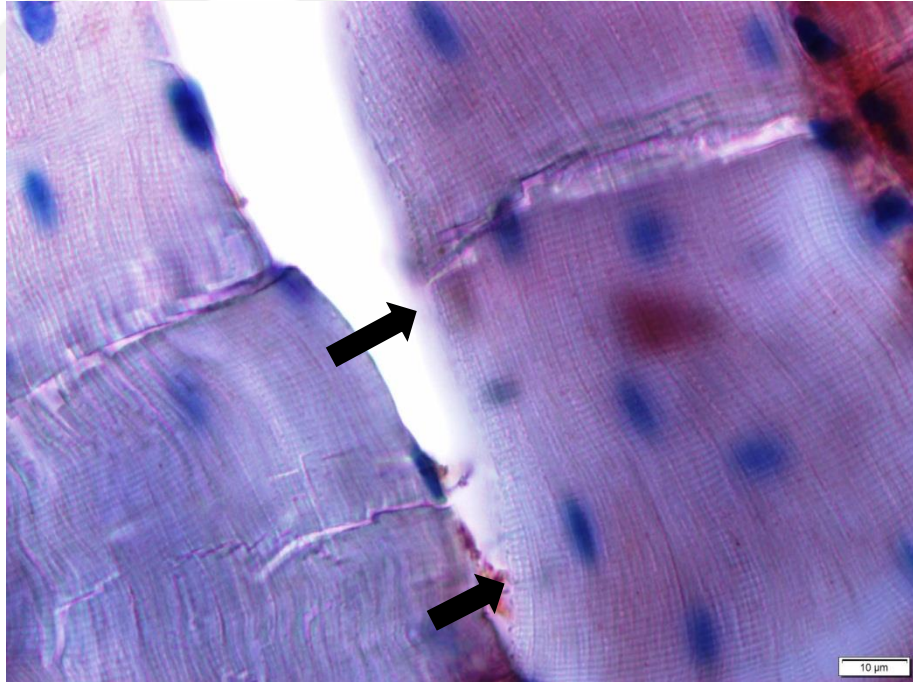
5.2.3.İskelet Kas Dokusuna Ait Bulgular

İskelet kası dokusuna ait immünohistokimyasal bulgular incelendiğinde iskelet kasında bulunan bantlar (A ve I bandı) üzerinde miyonektin pozitifliğine rastlanmıştır.

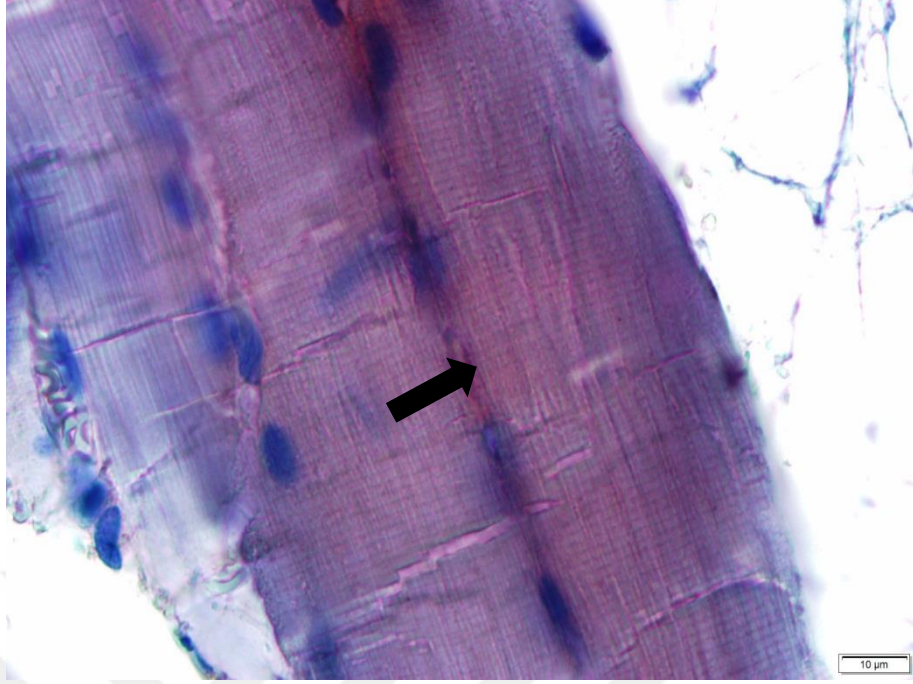
Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında kontrol grubuna ait iskelet kası miyonektin seviyesi en düşük, enerji içeceği grubunda ise en yüksek olarak gözlendi. Kontrol grubu ile egzersiz grubu karşılaştırıldığında miyonektin pozitifliğinin egzersiz grubunda daha yüksek olduğu gözlendi. Kontrol grubu ile egzersiz+enerji içeceği grubu karşılaştırıldığında miyonektin pozitifliğinin egzersiz+enerji içeceği grubunda daha yüksek olduğu gözlendi.



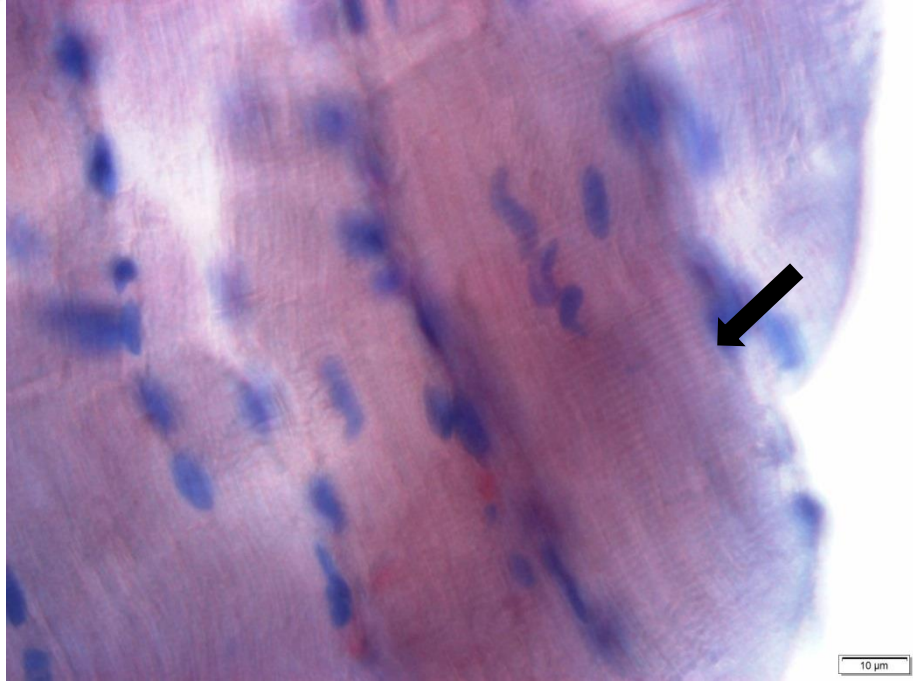
Şekil 28. Kontrol grubuna ait iskelet kası dokusu (Boyuna kesit). Bantlarda miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



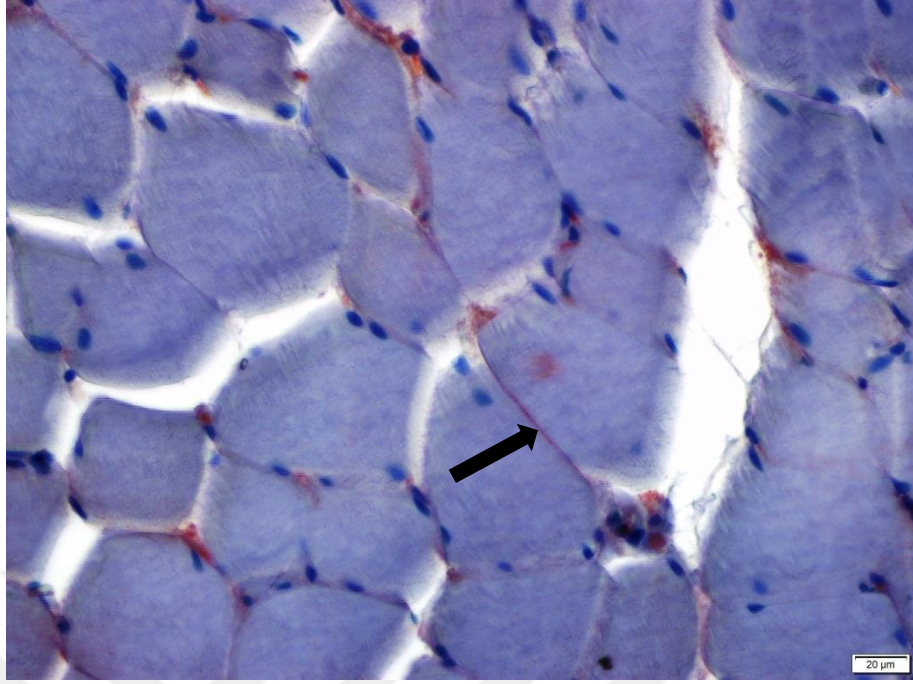
Şekil 29. Egzersiz grubuna ait iskelet kası dokusu (Boyuna kesit). Bantlarda miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



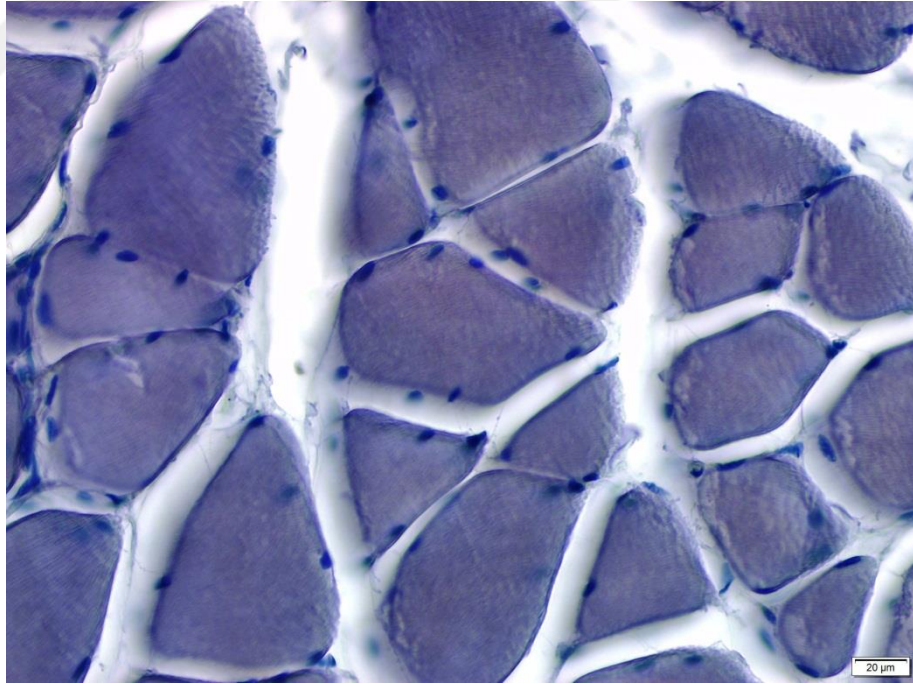
Şekil 30. Enerji içeceği grubuna ait iskelet kası dokusu (Boyuna kesit). Bantlarda miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



Şekil 31. Egzersiz+Enerji içeceği grubuna ait iskelet kası dokusu (Boyuna kesit). Bantlarda miyonektin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



Şekil 32. İskelet kası dokusu (Enine kesit). Bantlarda miyonektin immünreaktivitesi (Siyah ok).



Şekil 33. Negatif kontrol (İskelet kası dokusu-Enine kesit).

6. TARTIŞMA

Yapılan çalışmada ratların karaciğer, böbrek ve iskelet kası dokularındaki miyonektin ekspresyonları ve bu ekspresyonlara egzersiz uygulaması ve enerji içeceği kullanımının etkileri biyokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak araştırıldı. Elde edilen veriler ile kontrol grubu, egzersiz grubu, enerji içeceği grubu ve egzersiz+enerji içeceği grupları arasında karşılaştırma yapıldı ve sonuçlar değerlendirildi.

İskelet kası son zamanlarda miyokinler olarak bilinen proteinleri sentezleyen ve salgılayan endokrin bir organ olarak tanımlanmıştır. Otokrin, parakrin ve endokrin biyoaktiviteleri olan ve kaslar tarafından salgılanan proteinlere miyokin adı verilir. Miyokin sentezi ve salgılanması için iskelet kasının kasılması birincil muhtemel sebep olabilir. Kasların kasılmasıyla indüklenen miyokin salgılanması, egzersizin faydalarına aracılık eder (74).

Çalışmadaki tüm gruplarda iskelet kası miyonektin seviyeleri istatistiksel olarak incelendiğinde, kontrol grubu, 3.84 ± 0.71 ; egzersiz grubu, 4.30 ± 0.46 ; enerji içeceği grubu, 5.05 ± 0.87 ; ve egzersiz+enerji içeceği grubu, 4.90 ± 0.67 olarak tespit edilmiştir. En yüksek iskelet kası miyonektin seviyesi enerji içeceği grubunda izlenirken en düşük miyonektin seviyesi ise kontrol grubunda tespit edilmiştir. Elde edilen bu verilere göre; enerji içeceği ve egzersiz+enerji içeceği grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her iki grupta da anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($F=4.455$, $P=0.01$). Egzersiz grubunda ise elde edilen sonuçlar kontrol grubuyla benzerdi. İskelet kası miyonektin seviyelerindeki bir diğer anlamlı fark ise egzersiz ve enerji içeceği grubu arasındadır. Bu iki gruptaki veriler kendi aralarında

karşılaştırıldığında, enerji içeceği grubundaki artış egzersiz grubundaki artıştan daha yüksek bulunmuştur ($F=4.455$, $P=0.01$).

Seldin ve arkadaşları (7) miyonektinin genel bir karakterizasyonunu ifade ettikleri çalışmalarında; iki haftalık gönüllü egzersize maruz kalmanın iskelet kasında miyonektin ekspresyonunun ve dolaşımdaki protein seviyelerinin arttığını göstermişlerdir. Miyonektinin en fazla iskelet kasında, az da olsa diğer dokularda salgılandığını bildirmişlerdir. Seldin ve arkadaşlarının (7) yaptığı çalışmadaki bu bilgiler dikkate alındığında, gönüllü egzersizle ilişkili miyonektin kaynağının iskelet kası olduğu düşünülebilir. Yapılan bu çalışmada karaciğer, böbrek ve iskelet kası dokularındaki miyonektin seviyeleri incelendiğinde, en yüksek miyonektin seviyesine sahip olan doku iskelet kasıdır. Seldin ve arkadaşlarının (7) sundukları veriler ile yapılan çalışmadaki sonuçlar birbirini desteklemektedir.

Seldin ve arkadaşları (7) fareler üzerinde yaptıkları çalışmada 2 haftalık gönüllü egzersizin farelerin iskelet kasındaki (soleus ve plantaris) ve dolaşımdaki miyonektin salınımını önemli ölçüde arttırdığını bildirmişlerdir. Otaka ve arkadaşları (75) fareler üzerine yaptıkları çalışmada 6 haftalık koşu bandı egzersizinin farelerin iskelet kasındaki miyonektin salınımını indüklediğini ifade etmişlerdir. Peterson ve arkadaşları (76) yaptıkları çalışmada 9 haftalık aerobik eğitimin hem obez Zucker sıçanı (OZR) hem de zayıf Zucker sıçanlarının (LZR) iskelet kasında miyonektin içeriğini arttırdığını bildirmişlerdir.

Sunulan tez çalışmasında egzersize bağlı iskelet kasındaki miyonektin seviyesinin artışı, bu konuda yapılan çalışmalar (7,75,76) ile paralellik göstermektedir. Tez çalışmasında elde edilen verilere göre en yüksek iskelet kası miyonektin seviyesi enerji içeceği grubunda elde edilmiştir. Ancak konu hakkında

yapılan daha önceki çalışmalarda enerji içeceği grubu bulunmadığından dolayı sunulan tez çalışmasındaki bu veriyi karşılaştıracak daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Sunulan çalışmadaki tüm gruplarda karaciğer miyonektin seviyeleri istatistiksel olarak incelendiğinde, kontrol grubu 3.70 ± 1.07 ; egzersiz grubu 3.39 ± 0.46 ; enerji içeceği grubu 2.91 ± 0.58 ; egzersiz+enerji içeceği grubu 2.52 ± 1.10 olarak tespit edilmiştir. En yüksek miyonektin seviyesi kontrol grubunda izlenirken en düşük değer egzersiz+enerji içeceği grubunda tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki karaciğer miyonektin seviyelerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Seldin ve arkadaşları (64) miyonektinin $PI_3K/Akt/mTOR$ sinyal yolunun aktivasyonu yoluyla, kas atrofisini indükleyen bir mekanizma olarak kabul edilen (77) otofajiyi, inhibe etmek için karaciğer üzerinde etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Otofajinin özel önem taşıdığı organlardan biri de karaciğerdir. Karaciğer açlığa dramatik bir şekilde tepki verir. Açlık, karaciğer otofajisini aktive ederken gıda eksikliğinin ardından besin takviyesi otofajiyi inhibe etmiştir. Miyonektinin otofajiyi baskılama yeteneği ile protein bozulmasını inhibe ederek kas kütlesini artırmada önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir. Rekombinant miyonektin uygulaması, fare karaciğerinde ve kültürlenmiş hepatositlerde, LC3'e bağlı otofagozom oluşumunu, p62 bozulmasını ve diğer otofajiye bağlı gen ekspresyonunu inhibe ederek açlığın neden olduğu otofajiyi baskıladığını bildirmişlerdir.

Sini ve arkadaşları (78) alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı olan sıçanlarda yaptıkları çalışmada, 8 hafta süren aerobik antrenmanın serum miyonektin seviyeleri, insülin direnci ve karaciğer enzimleri üzerindeki etkisini

araştırmışlardır. Aerobik egzersizin, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda kilo alımını, insülin direncini ve miyonektin seviyesini azaltarak karaciğer hastalığını iyileştirebileceğini belirtmişlerdir.

Ayrıca Little ve arkadaşları (79) yaptıkları çalışmada, miyonektin eksikliğinin adipoz yağ depolanmasını teşvik ettiğini ve karaciğer yağlanmasını azalttığını belirtmişlerdir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerin hem iç hem de deri altı yağ depolarında daha fazla yağ depolanması nedeniyle daha fazla adiposit hipertrofisi gözlemlemişlerdir. Yağ dokularındaki artan yağlanmaya karşı, miyonektin eksikliği olan hayvanların karaciğerindeki yağ birikiminde çarpıcı bir azalma gözlemlemişlerdir.

Yukarıda verilen literatürlerde (78, 79) serum miyonektin seviyeleri incelenmiş ve miyonektin seviyesindeki düşüşün karaciğer yağlanmasını iyileştirdiği ve böylece karaciğer üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmamızdaki karaciğer doku örneklerindeki miyonektin seviyelerine bakıldığında kontrol grubuna göre diğer gruplarda azalan bir miyonektin seviyesi tespit edilmiştir. Sunulan tez çalışmasında serum örnekleri ve yağ dokusu incelenmedi. Bu nedenle miyonektinin karaciğer yağlanmasını azaltabileceği rolünü doğrulamak veya aksini iddia etmek için yeterli bir bilgi elde edilmemiştir. Düzenli fiziksel aktivite ile daha düşük karaciğer yağlanması ve visceral yağlanma ilişkilendirilmiş olsa da bu durum egzersizin tek başına yararlı etkisini açıklayamaz. Sonuç olarak karaciğer yağlanmasının önlenmesinde ve tedavisinde egzersizin etkisi olduğu bilinsede, egzersiz ile birlikte salınan ve yağ dokusu üzerinde etkisi olan miyonektinin de bazı sağlık sorunlarına olumlu etkilerinin olabileceği düşünülmektedir.

Sunulan çalışmadaki tüm gruplarda böbrek miyonektin seviyeleri istatistiksel olarak incelendiğinde, kontrol grubu $4,26 \pm 1,83$; egzersiz grubu $4,55 \pm 0,41$; enerji içeceği grubu $4,30 \pm 0,54$; egzersiz+enerji içeceği grubu $4,57 \pm 0,69$ olarak tespit edilmiştir. Böbrek miyonektin seviyelerinde anlamlı bir fark görülmemiştir. Bütün gruplar birbiriyle benzerlik göstermiştir ($F=0.172$, $P=0.914$).

Zhang ve arkadaşları (80) yaptıkları çalışmada diyabetik nefropati (DN) hastalarında serum miyonektin seviyesinin azaldığını ve böbrek fonksiyonu ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Diyabetik nefropati son dönem böbrek yetmezliğinin önde gelen bir nedenidir. Serum miyonektin konsantrasyonları ile DN arasındaki ilişkiyi değerlendiren bu çalışmaya göre tip 2 diyabet hastaları (T2DM) kontrol grubuna kıyasla daha düşük serum miyonektin konsantrasyonları göstermiştir.

Li ve arkadaşları (81) çalışmalarında dolaşımdaki miyonektin seviyelerinin T2DM hastalarında ve obez kişilerde azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca serum miyonektin seviyeleri T2DM'nin metabolik belirteçleri ile ilişkiliydi. Bu veriler miyonektinin obezite ve T2DM gelişimini öngörmeye yararlı bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir.

Literatür taramasında doğrudan böbrek dokusunda miyonektin seviyesini inceleyen çalışmaya rastlanmamış olsa da serum örneklerine bakılarak kronik böbrek rahatsızlıkları ile ilişkilendirilmiştir. Miyonektin salgılanması insanlarda kronik rahatsızlıklara karşı telafi edici bir mekanizma oluşturabilir. Bu sebepten dolayı kronik rahatsızlıklarda yeni bir tedavi yöntemi oluşturulabilmesi için dolaşımdaki miyonektin ve doku bazlı miyonektin seviyesinin incelenmesi ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Li ve arkadaşları (82) 45 dakikalık akut bir egzersiz yaptırılan sağlıklı genç bireylerde dolaşımdaki miyonektin düzeyleri değişmediğini gösterdiler. Lim ve arkadaşları (83), genç (18-28 yaş) ve yaşlı (55-77) sağlıklı kadınlarda aerobik egzersiz eğitiminin (10 haftalık) miyonektin seviyeleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada a her iki grupta da dolaşımdaki miyonektin düzeylerini önemli ölçüde düşüğünü ifade etmişlerdir. Bahremand ve arkadaşları (84) 8 haftalık CrossFit ve eşzamanlı aerobik + direnç eğitiminin (CT) genç kadınlarda dolaşımdaki miyonektin seviyelerini araştıran bir çalışmaya göre her iki grupta da miyonektin seviyelerinde değişiklik olmamıştır. Adıgozalpour ve arkadaşları (85) erkek wistar sıçanlarında 8 haftalık direnç antrenman programına yanıt olarak serum miyonektin düzeyi azalır.

İnsanlar ve ratlar üzerindeki egzersiz çalışmaları kasılma yoluyla miyonektin düzenlenmesine ilişkin farklı sonuçlar vermektedir. Tutarsızlığın nedeni açık olmasa da nedenler arasında şunlar sıralanabilir: Çalışmaların insanlar veya hayvanlar üzerinde uygulanması, deneklerin sağlıklı veya metabolik sendromlu (obez, insilün dirençli vs.) olması, tek cinsiyetin kullanılmış olması, akut veya uzun süreli egzersizlerin uygulanmasının farklı etkileri, miyonektinin ölçümü için farklı kitlerin veya analiz yönteminin kullanılmasıdır. Akut egzersizin veya kronik egzersizin miyonektin ekspresyonunu düzenleyip düzenleyemeyeceğini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

7.SONUÇ VE ÖNERİLER

Miyonektin başlıca iskelet kası proteini olup doku metabolizmasının düzenlenmesinde rol almaktadır. Miyonektinin esas olarak iskelet kasından salgılanmış olmasına rağmen karaciğer ve böbrek dokularının da miyonektin varlığının bulunduğu ELISA ve İmmünohistokimyasal yöntemlerle tespit edildi. Egzersiz uygulamasının ve enerji içeceği takviyesinin birlikte kullanımıyla miyonektin seviyesinin yükseldiği ve bu yükselişi egzersize bağlı olarak metabolizmanın artan ihtiyaçlarına göre ayarlandığı ilk defa çalışmamız ile gösterildi.

Böbreklerdeki miyonektin düzeylerine egzersiz ve enerji içeceğinin katkı yaptığı sonucuna varılmıştır. Enerji içeceğine bağlı olarak karaciğerde miyonektin düzeyleri baskılanırken iskelet kasında ise indüklendiği tespit edilmiştir. Egzersize bağlı olarak iskelet kasında artan enerji ihtiyacını enerji içeceği takviyesiyle Miyonektin salınımını arttırarak beraberinde yağların kullanılmasıyla enerji açığını karşıladığı düşünülmektedir. Bu durumu destekleyen en kıymetli bulgu ise karaciğer dokusunda enerji içeceklerine bağlı olarak miyonektin düzeylerinin baskılanarak iskelet kasına doğru yönelmiş olmasıdır. Karaciğerde miyonektinin baskılanmış olması karbonhidrat kökenli enerji içeceği takviyesiyle muhtemel sebeplerden olabilir. Enerji içeceklerinin karaciğer dokusunda miyonektini baskılamış olması karbonhidrat ve yağ metabolizması ile doğrudan ilişkili olduğunu ve karaciğerin enerjiye ihtiyacı olan dokulara (örneğin iskelet kası) miyonektini yönlendirdiği düşünülmüştür. Bu durumda enerji iskelet kasında harcandığından enerji içeceğinin kilo alımına etki etmeyeceğini öngörmekteyiz. Karaciğer ve böbrekler vücudun iki önemli eliminasyon organı olduğundan bu veriler karaciğer

ve böbrek yetmezliği durumlarının aydınlığa kavuşturulmasında kıymetli bir laboratuvar verisi olarak karşımızda durmaktadır.

Mevcut literatürler ışığında egzersizin tipi ve şiddetine bağlı olarak farklı dozda enerji içeceği kullanımının sporcu performansı ve sağlığı üzerine net sonuçlar oluşturarak güncel yaklaşımlara ulaşabiliriz.



8. KAYNAKLAR

1. Özer MK. Fiziksel Uygunluk. Nobel Basımevi. Ankara, 2006.
2. Zorba E, Saygın Ö. Fiziksel Aktivite ve Fiziksel Uygunluk. İnceler Ofset Mat. Amb. San. Tic. Ltd. Şti. İstanbul, 2009.
3. Groop L, Stenman S, Groop PH, Makiperna A, Teppo AM. The effect of exercise on urinary excretion of different size proteins in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 1990;50(5): 525-532.
4. Turgut M, Cinar V, Pala R, et al. Biotin and chromium histidinate improve glucose metabolism and proteins expression levels of IRS-1, PPAR- γ , and NF- κ B in exercise-trained rats. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2018;15(1):1-10.
5. Dikici S, Aydın LY, Kutlucan A, Ercan N. Enerji içecekleri hakkında neler biliyoruz?. *Dicle Tıp Dergisi*, 2012; 39(4):609-613.
6. Nakilcioğlu E, Hacıhasanoğlu FE, Ötleş S. 18 yaş altı ile 18 yaş üstü bireylerin enerji içeceği tüketimi eğilimlerinin belirlenmesi: İzmir ili örneği. *ÖHÜ Müh. Bilim. Derg*, 2019;8(1):111-120.
7. Seldin MM, Peterson JM, Byerly MS, Wei Z, Wong G W. Myonectin (CTRP15), a novel myokine that links skeletal muscle to systemic lipid homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*, 2012;287(15): 11968-11980.
8. Kautz L, Jung G, Valore EV, Rivella S, Nemeth E, Ganz T. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nature Genetics*, 2014;46(7), 678-684.
9. Ünal M. Egzersiz Fizyolojisi. 1. Baskı, İstanbul: Tıp Kitapevleri, 2019.
10. Günay M, Tamer K, Cicioğlu İ. Spor Fizyolojisi ve Performans Ölçümü. . Baskı, Ankara: Gazi Kitabevi, 2019.
11. Ergen E. Egzersiz Fizyolojisi. 2. Baskı, Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 2007.
12. Demir E. Spor Bilimlerine Giriş. 1. Baskı, Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık, 2015.
13. Ehrman JK, Kerrigan DJ, Keteyian SJ, İleri Egzersiz Fizyolojisi. Baltacı G(Çeviri Editörü). Ankara: Hipokrat Kitabevi, 2018.
14. 'Energy Drinks'. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559836/> (10.05.2021)
15. Reissig CJ, Strain EC, Griffiths RR. Caffeinated energy drinks—a growing problem. *Drug and Alcohol Dependence*, 2009;99(1-3):1-10.
16. Wolk BJ, Ganetsky M, Babu KM. Toxicity of energy drinks. *Current Opinion in Pediatrics*, 2012;24(2):243-251.
17. Higgins JP, Babu K, Deuster PA, Shearer J. Energy drinks: A contemporary issues paper. *Current Sports Medicine Reports*, 2018;17(2):65-72.
18. Somers KR, Svatikova A. Cardiovascular and Autonomic Responses to Energy Drinks—Clinical Implications. *Journal of Clinical Medicine*, 2020; 9(2):431.
19. MacKnight JM. Energy Drink Use in Sport: All Risk, No Gain. *Current Sports Medicine Reports*, 2020;19(3):102-103.
20. Higgins JP, Tuttle TD, Higgins CL. Energy beverages: content and safety. In *Mayo Clinic Proceedings*, 2010; 85(11): 1033-1041.
21. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/06/20170930-23.htm> (14.05.2021)
22. Heckman MA, Sherry K, De Mejia EG. Energy drinks: an assessment of their market size, consumer demographics, ingredient profile, functionality, and regulations in the United States. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2010;9(3):303-317.

23. Seifert SM, Schaechter JL, Hershorin ER, Lipshultz SE. Health effects of energy drinks on children, adolescents, and young adults. *Pediatrics*, 2011;127(3):511-528.
24. Chaban R, Kornberger A, Branski N, et al. In-vitro examination of the positive inotropic effect of caffeine and taurine, the two most frequent active ingredients of energy drinks. *BMC Cardiovascular Disorders*, 2017;17(1), 1-8.
25. Enriquez A, Frankel DS. Arrhythmogenic effects of energy drinks. *Journal of Cardiovascular electrophysiology*, 2017;28(6):711-717.
26. Thorlton J, Colby DA, Devine P. Proposed actions for the US Food and Drug Administration to implement to minimize adverse effects associated with energy drink consumption. *American Journal of Public Health*, 2014;104(7):1175-1180.
27. "Caffeine". <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519490/> (19.05.2021).
28. Higgins JP, Babu KM. Caffeine reduces myocardial blood flow during exercise. *The American Journal of Medicine*, 2013;126(8):730.
29. Magkos F, Kavouras SA. Caffeine use in sports, pharmacokinetics in man, and cellular mechanisms of action. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2005;45(7-8):535-562.
30. Laurent D, Schneider KE, Prusaczyk WK, et al. Effects of caffeine on muscle glycogen utilization and the neuroendocrine axis during exercise. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2000; 85(6):2170-2175.
31. Higgins JP, Yarlagadda S, Yang B. Cardiovascular complications of energy drinks. *Beverages*, 2015;1(2):104-126.
32. Schaffer SW, Jong CJ, Ramila KC, Azuma J. Physiological roles of taurine in heart and muscle. *Journal of Biomedical Science*, 2010;17(1):1-8.
33. Lourenco R, Camilo ME. Taurine: a conditionally essential amino acid in humans? An overview in health and disease. *Nutricion Hospitalaria*, 2002;17(6):262-270.
34. Imagawa TF, Hirano I, Utsuki K, et al. Caffeine and taurine enhance endurance performance. *International Journal of Sports Medicine*, 2009;30(07):485-488.
35. Matsuzaki Y, Miyazaki T, Miyakawa S, et al. Decreased taurine concentration in skeletal muscles after exercise for various durations. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 2002;34(5):93-97.
36. Ali F, Rehman H, Babayan Z, Stapleton D, Joshi DD. Energy drinks and their adverse health effects: a systematic review of the current evidence. *Postgraduate Medicine*, 2015;127(3):308-322.
37. Shao A, Hathcock JN. Risk assessment for the amino acids taurine, L-glutamine and L-arginine. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2008; 50(3):376-399.
38. Finnegan D. The health effects of stimulant drinks. *Nutrition Bulletin*, 2003; 28(2):147-155.
39. Kennedy DO, Haskell CF, Robertson B, et al. Improved cognitive performance and mental fatigue following a multi-vitamin and mineral supplement with added guarana (*Paullinia cupana*). *Appetite*, 2008; 50(2-3):506-513.
40. Haskell CF, Kennedy DO, Wesnes KA, Milne AL, Scholey AB. A double-blind, placebo-controlled, multi-dose evaluation of the acute behavioural effects of guaraná in humans. *Journal of Psychopharmacology*, 2007;21(1): 65-70.
41. Lima WP, Carnevali Jr LC, Eder R, Rosa LFBC, Bacchi EM, Seelaender MC. Lipid metabolism in trained rats: effect of guarana (*Paullinia cupana* Mart.) supplementation. *Clinical Nutrition*, 2005;24(6):1019-1028.
42. Depeint F, Bruce WR, Shangari N, Mehta R, O'Brien PJ. Mitochondrial function and toxicity: role of the B vitamin family on mitochondrial energy metabolism. *Chemico-Biological Interactions*, 2006;163(1-2):94-112.

43. Souza DB, Del Coso J, Casonatto J, Polito MD. Acute effects of caffeine-containing energy drinks on physical performance: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Nutrition*, 2017;56(1):13-27.
44. Davis JM, Zhao Z, Stock HS, Mehl KA, Buggy J, Hand GA. Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2003;284(2):399-404.
45. Graham TE. Caffeine and exercise. *Sports Medicine*, 2001; 31(11):785-807.
46. Ivy JL, Kammer L, Ding Z, Wang B, Bernard JR, Liao YH, Hwang J. Improved cycling time-trial performance after ingestion of a caffeine energy drink. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 2009;19(1):61-78.
47. Forbes SC, Candow DG, Little JP, Magnus C, Chilibeck PD. Effect of Red Bull energy drink on repeated Wingate cycle performance and bench-press muscle endurance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 2007;17(5):433-444.
48. Campbell BI, Kilpatrick M, Wilborn C, et al. A commercially available energy drink does not improve peak power production on multiple 20-second Wingate tests. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2010;7(1):1-2.
49. Campbell B, Wilborn C, La Bounty P, Taylor L, Nelson MT, Greenwood M, Kreider RB. International Society of Sports Nutrition position stand: energy drinks. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2013;10(1):116.
50. Astorino TA, Matera AJ, Basinger J, Evans M, Schurman T, Marquez R. Effects of red bull energy drink on repeated sprint performance in women athletes. *Amino Acids*, 2012;42(5):1803-1808.
51. Nadeem IM, Shanmugaraj A, Sakha S, Horner NS, Ayeni OR, Khan M. Energy Drinks and Their Adverse Health Effects: A Systematic Review and Meta-analysis. *Sports Health*, 2021;13(3):265-277.
52. Toloza FJ, Mantilla-Rivas JO, Pérez-Matos, MC, et al. Plasma levels of myonectin but not myostatin or fibroblast-derived growth factor 21 are associated with insulin resistance in adult humans without diabetes mellitus. *Frontiers in endocrinology*, 2018; 9(5).
53. Kautz L, Jung G, Nemeth E, Ganz T. Erythroferrone contributes to recovery from anemia of inflammation. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 2014;124(16):2569-2574.
54. Seldin MM, Tan SY, Wong GW. Metabolic function of the CTRP family of hormones. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2014;15(2), 111-123.
55. Srole DN, Ganz T. Erythroferrone structure, function, and physiology: Iron homeostasis and beyond. *Journal of Cellular Physiology*, 2021;236(7): 4888-4901.
56. Seldin MM, Wong GW. Regulation of tissue crosstalk by skeletal muscle-derived myonectin and other myokines. *Adipocyte*, 2012;1(4):200-202.
57. Gamas L, Matafome P, Seiça R. Irisin and myonectin regulation in the insulin resistant muscle: implications to adipose tissue: muscle crosstalk. *Journal of Diabetes Research*, 2015;1-8
58. Santos ARD, Zanuso BDO, Miola VFB, et al. Adipokines, Myokines, and Hepatokines: Crosstalk and Metabolic Repercussions. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021;22(5): 2639.
59. Kautz L. Erythroferrone, an erythroid regulator of iron metabolism. *Medicine Sciences*, 2014;30(10):834-836.
60. Coffey R, Ganz T. Erythroferrone: an erythroid regulator of hepcidin and iron metabolism. *HemaSphere*, 2018;2(2):35.
61. Pagani A, Nai A, Silvestri L, Camaschella C. Hepcidin and anemia: a tight relationship. *Frontiers in Physiology*, 2019;10: 1294.

62. Lawen A. Is erythroferrone finally the long sought-after systemic erythroid regulator of iron?. *World Journal of Biological Chemistry*, 2015; 6(3):78.
63. Lee JH, Jun HS. Role of myokines in regulating skeletal muscle mass and function. *Frontiers in Physiology*, 2019;10:42.
64. Seldin MM, Lei X, Tan SY, Stanson KP, Wei Z, Wong GW. Skeletal muscle-derived myonectin activates the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway to suppress autophagy in liver. *Journal of Biological Chemistry*, 2013;288(50):36073-36082.
65. Qi Z, Xia J, Xue X, et al. Stress-induced myonectin improves glucose homeostasis by inhibiting glycemic response to HPA axis. *BioRxiv*, 2019;838003.
66. Hinton PS. Iron and the endurance athlete. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 2014;39(9):1012-1018.
67. Clénin G, Cordes M, Huber A, et al. Iron deficiency in sports-definition, influence on performance and therapy. *Swiss Medical Weekly*, 2015;145:14196.
68. Tomczyk M, Kortas J, Flis D, et al. Marathon run-induced changes in the erythropoietin-erythroferrone-hepcidin axis are iron dependent. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020;17(8):2781.
69. Talbot NP, Smith TG, Lakhal-Littleton S, et al. Suppression of plasma hepcidin by venesection during steady-state hypoxia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 2016;127(9):1206-1207.
70. Mubarak R. Effect of red bull energy drink on rats submandibular salivary glands (light and electron microscopic study). *The Journal Of J American Science*, 2012;8(1), 366-72.
71. Rico H, Gervas JJ, Hernandez ER, et al. Effects of alprazolam supplementation on vertebral and femoral bone mass in rats on strenuous treadmill training exercise. *Calcified tissue international*, 1999; 65(2):139-142.
72. Hsu SM, Raine L, Fanger H. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics. *Am J Clin Pathol* 1981; 75(6):816-821.
73. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29(4):577-580.
74. Carson BP. The potential role of contraction-induced myokines in the regulation of metabolic function for the prevention and treatment of type 2 diabetes. *Frontiers in Endocrinology*, 2017;8: 97.
75. Otaka N, Shibata R, Ohashi K, Murohara T, Ouchi N. Myonectin/CTRP15 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury. *European Heart Journal*, 2017;38(1):1142.
76. Peterson JM, Mart R, Bond CE. Effect of obesity and exercise on the expression of the novel myokines, Myonectin and Fibronectin type III domain containing 5. *PeerJ Journals*, 2014; 2: 2.
77. Bonaldo P, Sandri M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Disease Models & Mechanisms*, 2013; 6(1), 25-39.
78. Koohestani Sini Z, Afzalpour ME, Mohammadnia Ahmadi M, Sardar MA, Gorgani Firuzjaee S. The Effect of Aerobic Continuous Training on Myonectin, Insulin Resistance and Liver Enzymes in Rats with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Annals of Applied Sport Science*, 2020;8:855.
79. Little HC, Rodriguez S, Lei X, et al. Myonectin deletion promotes adipose fat storage and reduces liver steatosis. *The FASEB Journal*, 2019; 33(7):8666-8687.
80. Zhang J, Hu W, Lin P, Wang R. Decreased serum myonectin concentrations in diabetic nephropathy patients. *Clinical and Experimental Medicine*, 2020; 20(4):601-607.
81. Li Z, Yang YL, Zhu YJ, Circulating serum myonectin levels in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 2019.

82. Li K, Liao X, Wang K, et al. Myonectin predicts the development of type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2018;103(1): 139-147.
83. Lim S, Choi SH, Koo BK, et al. Effects of aerobic exercise training on C1q tumor necrosis factor α -related protein isoform 5 (myonectin): association with insulin resistance and mitochondrial DNA density in women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2012; 97(1):88-93.
84. Bahremand M, Hakak Dokht E, Moazzami M. A comparison of CrossFit and concurrent training on myonectin, insulin resistance and physical performance in healthy young women. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 2020;1-7.
85. Adigozalpour M, Safarzade A. Effect of resistance training with two different volumes on serum myonectin levels in rats fed with sucrose solution. *Annals of Applied Sport Science*, 2017;5(2):11-19.



9.EKLER

EK.1. Etik Kurul Onayı



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARARLARI

Oturum Tarihi
01/10/2020

Oturum Saati
09:00

Oturum Sayısı
2020/13

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 01/10/2020 tarihinde saat 09:00'da Kurul Başkanı Prof. Dr. Mustafa İSSİ başkanlığında, aşağıda imzaları bulunan kurul üyelerinin katılımlarıyla toplanarak gündemdeki konuları görüşmüş ve aşağıdaki kararları almıştır.

Prof. Dr. Vedat ÇINAR tarafından yürütülecek olan "**Egzersiz Uygulanan Ratlarda Enerji İçeceği Kullanımının Karaciğer, Böbrek ve İskelet Kasında Myonectin Ekspresyonlarının İmmunohistokimyasal ve ELİSA Yöntemiyle Belirlenmesi**" başlıklı araştırma projenizde daha önceden onay aldığınız 2017/105 protokol nolu projede kullanılan **28 Adet Wistar Albino Sıçan'** dan alınan dokuların kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı beyan edilmiştir. Bu çerçevede aşağıda ismi bulunan araştırmacılara ait bu çalışmanın "Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi" hükümleri yönünden uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

1. Prof. Dr. Vedat ÇINAR
2. Yük. Lis. Öğr. Esma Çağla AVCU
3. Prof. Dr. Süleyman AYDIN
4. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU
5. Arş. Gör. Dr. Taner AKBULUT
6. Arş. Gör. Dr. Zariife PANCAR

Kurul Üyeleri:

Prof. Dr. Mustafa İSSİ
Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE
Prof. Dr. Sinan CANPOLAT
Prof. Dr. Asiye BAŞUSTA (Bulunmadı)
Doç. Dr. Serkan DÜNDAR
Doç. Dr. Bureu GÜL BAYKALIR
Dr. Öğr. Üyesi Eşef BOLAT
Vet. Hek. Ebru GÖKDERE
Onur UYGUR
Murat DAĞHAN (Bulunmadı)

Başkan
E-İmzalıdır
Prof. Dr. Mustafa İSSİ
Kurul Başkanı

Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE

Prof. Dr. Sinan CANPOLAT

Doç. Dr. Serkan DÜNDAR

Doç. Dr. Bureu GÜL BAYKALIR

Dr. Öğr. Üyesi Eşef BOLAT

Ebru GÖKDERE