

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARELERDE BÜYÜME DÖNEMİNDE YAPILAN EGZERSİZİN
DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ (NATURAL KILLER) HÜCRE
SİTOTOKSİK AKTİVİTESİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

MİTAT KOZ

TEZ YÖNETİCİSİ

PROF.DR. AYDAN BABÜL

1996

İÇİNDEKİLER

	Sayfa NO
İÇİNDEKİLER	i
TEŞEKKÜR	iii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	
İmmün Sistem	4
İmmün Sistemin Hücresel Elemanları	5
T-Lenfositler	6
B-Lenfositler	7
Monosit/Makrofajlar	7
Granülositler.	7
Natural Killer(NK) Hücreleri	8
NK Hücrelerinin Farklılaşması ve Orijini	9
NK Hücrelerinin Sitotoksik Aktiviteleri	9
Sitolitik Etki Mekanizmaları	10
NK Hücrelerinin Fizyolojik Rolü	12
NK Sitotoksikite Ölçüm Yöntemleri	13
Egzersiz ve Enfeksiyonların Görülme Sıklığı:	
Epidemiyolojik Bulgular	13
Egzersiz ve İmmün Sistem Etkileşimi	
Akut Fiziksel Egzersizin İmmün Sistem Üzerine Etkileri	15
Lökositler	15
Lenfosit Alt Grupları	15
Lenfosit Fonksiyonları	16
Natural Killer Hücre Sitotoksik Aktivitesi(NKSA)	16
B-Hücre Fonksiyonları	17
Nötrofil Fonksiyonları	17
Sitokin Cevapları	18
Düzenli Egzersiz Eğitiminin İmmün Sisteme Etkileri	
Lökositler ve Lökosit Alt Grupları	18
Lenfosit Fonksiyonları	18

NK Sitotoksik aktivitesi	19
Olası Etki Mekanizmaları	20
Katekolaminler	21
Glukokortikoidler	22
Büyüme Hormonu(BH)	23
β -Endorfinler	23
Glutamin ve Serbest Yağ Asitleri	24
Çinko	25
MATERYAL VE YÖNTEM	
Materyal	26
Yöntem	28
Araştırma Planı	28
Egzersiz Protokolü	28
Kan Numunelerinin Alınması ve Hormon Ölçümü	29
Çinko Ölçümü	29
Etkin Hücrelerin Hazırlanması	30
Sitotoksosite Deneyi	31
İstatistiksel Yöntem	33
BULGULAR	33
TARTIŞMA	39
SONUÇ	46
ÖZET	47
SUMMARY	49
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	72

T E Ő E K K Ŭ R

Doktora çalışmalarımın ders ve tez dönemindeki yardımlarından dolayı G.Ŭ.Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Bilge GNŬL'e, tez danışmanım Prof. Dr. Aydan BABŬL ile tüm Fizyoloji Anabilim Dalı ğretim ūye ve elemanlarına, çalışmanın yürütülmesindeki yardımlarından dolayı A.Ŭ.Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı Yard.Doç.Dr. Gülfem ERSÖZ'e, İmmünoloji laboratuvarındaki yardımlarından dolayı doktora ğrencisi Said MIRSHAHIDI'ye teőekkürlerimi sunarım.

GİRİŞ VE AMAÇ

Klasik yaklaşıma göre düzenli olarak egzersiz yapmak faydalı kabul edilmektedir. Düzenli egzersiz eğitiminin koroner arter hastalığı riskini azalttığı, bozulmuş kan basıncının düzenlenmesine katkıda bulunduğu, psikolojik streslere karşı direnci artırdığı, yaşlanmayı geciktirdiği ve yaşam süresini uzattığı kabul edilmektedir^{1,2,3}. Düzenli egzersizin yararlı etkileri iyi bilinmekle birlikte, egzersiz ve immün sistem arasındaki ilişki son yıllarda yoğun araştırma konusu olmuştur^{1,2,3}.

Düzenli egzersizin immün sistemi nasıl etkilediği sorusu 1922 lerden günümüze kadar uzanan bir tartışmayı beraberinde getirmiştir. Örneğin Oppenheimer ve Spaeth (1922)⁴; günümüzde tıp dünyasında yorgun bireylerin hastalıklara yorgun olmayanlardan daha duyarlı olduğuna dair yaygın bir inanış olduğunu, Spaeth(1925)⁵; egzersizin diğer faydalı etkileri yanında, enfeksiyonlara doğal direnci artırdığının veya en azından aynı düzeyde tuttuğunun sıkça belirtildiğini ve geniş bir kesim tarafından da kabul gördüğünü, Fitzgerald(1988)⁶; yoğun egzersizin immün yetersizliğe yol açabileceğine dair yeterli bulgular olduğunu, Simon(1991)⁷; fiziksel aktivitenin enfeksiyonlara duyarlılığı değiştirdiğine dair kayda değer bulgu olmadığını, Nieman(1994)⁸; orta şiddetteki egzersiz eğitiminin enfeksiyonlara yakalanma riskini azalttığını ileri sürmektedirler.

Sunulan anekdotlarda da görülen ve günümüze kadar gelen kutuplaşmanın nedeni, konunun yeterince araştırılmaması değildir. Asıl neden immün sistemin karmaşıklığı, egzersizin ve deneklerin heterojenliğidir⁹. Çelişkili sonuçlara rağmen günümüzde geline nokta, orta şiddetteki düzenli aerobik egzersiz eğitiminin enfeksiyonlara direnci artırabileceği, buna karşın elit sporculardaki gibi, hergün yapılan

yüksek şiddetteki egzersiz eğitiminin ise enfeksiyonlara direnci azaltabileceği şeklindedir^{8,10}.

İmmün sistem üzerine egzersizin etkileri iki şekilde araştırılmaktadır: 1- İmmün sistemin özel birtakım elemanları yada fonksiyonları ile egzersizin ilişkisini araştıran laboratuvar temelli çalışmalar, 2-Çeşitli enfeksiyonlar ile egzersiz ilişkisini araştıran epidemiyolojik çalışmalar¹¹.

Laboratuvara dayanan araştırmalarda en çok incelenen, düzenli egzersiz eğitime en anlamlı cevabı veren immün hücre grubu Doğal Öldürücü(Natural Killer),(NK) hücreleridir¹²⁻²⁶.

Egzersizin yol açtığı immün değişikliklerin düzenlenmesinde monosit, lenfosit ve diğer hücre tiplerinden kaynaklanan sitokinler, katekolaminler, Büyüme Hormonu(BH), beta endorfinler, glukokortikoidler, glutamin ve serbest yağ asitlerinin önemli rol oynadığı düşünülmektedir^{27,28}. Ayrıca Zn lenfosit matürasyonu için gerekli bir kofaktördür²⁹. Uzun süreli fiziksel çalışma sonrasında elementin plazma düzeylerinin kronik baskılanması ise, egzersizdeki immün değişikliklerin yorumlanmasında çinkonun da yeri olabileceğini düşündürmektedir³⁰.

İmmün sistem fonksiyonları yaş ile birtakım değişiklikler göstermektedir. Hücrel ve immün fonksiyonlarda yaşlanma ile birlikte genel bir düşme olduğu deney hayvanlarında ve insanlarda belirgin bir bulgudur^{31,32}.

Yetişkin ve ilerlemiş yaştaki deneklerin immün sistem fonksiyonlarına egzersiz eğitiminin etkileri çok sayıda araştırmada incelenmiştir^{21,26,33,34,35,36}. Buna karşın fizyolojik büyümenin ve immün sistemin gelişmesinin aktif olduğu erken

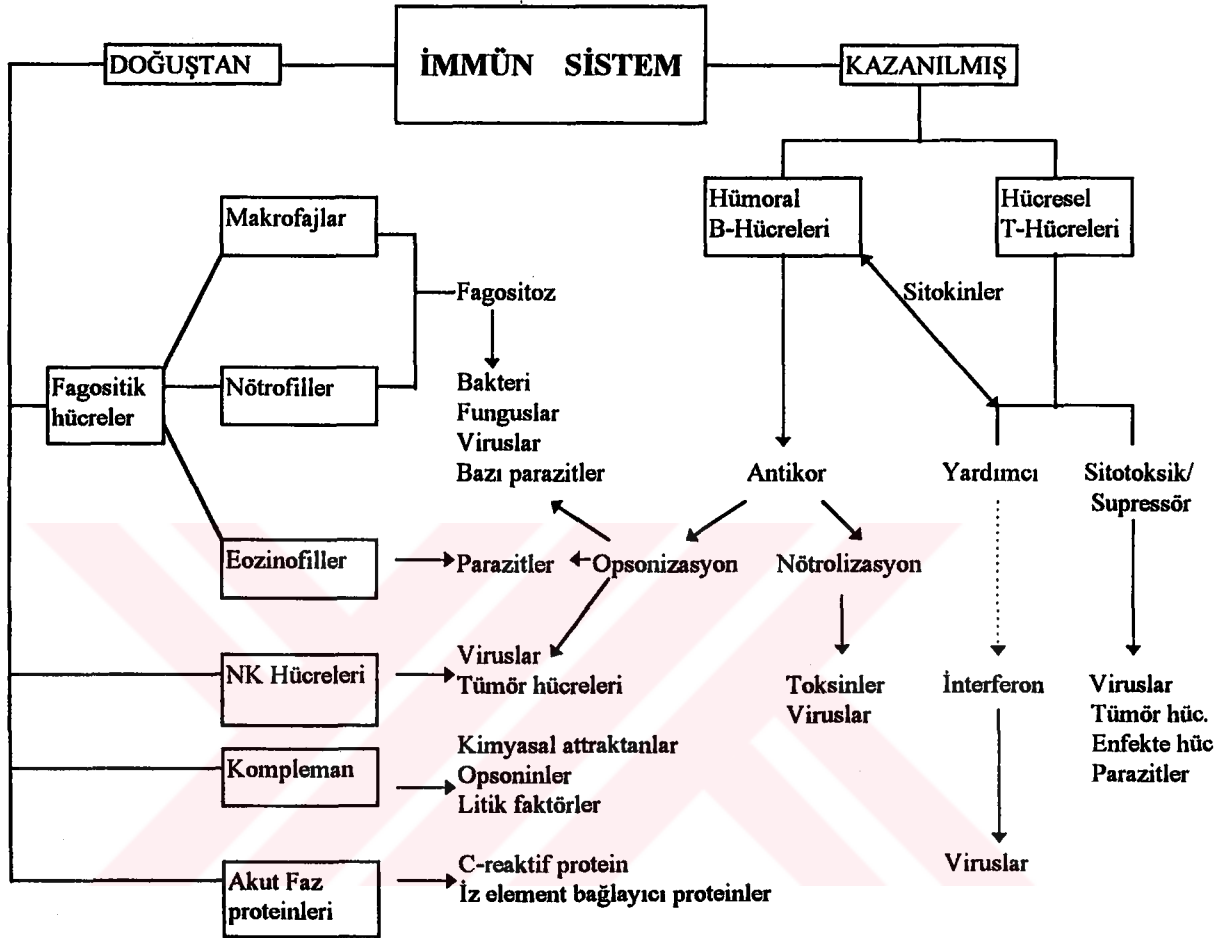
yaşlarda yapılan egzersizin immün fonksiyonlara etkisini araştıran herhangi bir araştırmaya rastlanılamamıştır. Günümüzde birçok spor dalında özel sportif çalışmalara ancak çok erken yaşlarda başlandığı zaman en yüksek performansa erişilebilmektedir. Sonuçta çocuğun yada büyümekte olan organizmanın zevk almak, eğlenmek için yaptığı hareketlerin yerini stresli, ne pahasına olursa olsun kazanma azmi ile yapılan ve büyükler tarafından organize edilen yarışmalar almaktadır. İmmün sisteminde gelişmekte olduğu bu erken dönemde yapılan egzersizler sistemi etkileyebilmektedir. Bu noktadan hareketle erken yaşlarda yapılan egzersizin immün sisteme etkisini gözlemek amacıyla bu çalışmada, orta şiddetteki egzersiz eğitiminin büyüme dönemindeki farelerin NK hücre sitotoksik aktivitesine (NKSA), plazma BH, glukokortikoid ve çinko düzeylerine etkisi araştırıldı.

GENEL BİLGİLER

İmmün Sistem

Canlılar doku ve organlarına zarar veren bütün organizmalara veya toksinlere karşı koyma özelliğine sahiptirler. Canlıların bu özelliğine immünite denmektedir. İmmüitenin büyük bir bölümü özel immün sistem tarafından gerçekleştirilmektedir³⁷. Lökositler yabancı istilacılara karşı konak savunmasının birincil hücresel elemanlarıdır. Lökositler başlıca lenfositler ve fagositik hücreler olarak gruplandırılabilirler. Lenfositler ve fagositik hücreler arasında büyük etkileşim olmasına karşın immün sistem fonksiyonel olarak iki bölüme ayrılabilir (Şekil 1): 1- Doğuştan (doğal veya özel olmayan), 2-Kazanılmış (adaptive veya özel olan) immün sistem. Kazanılmış olan da kendi içinde ikiye ayrılmaktadır: 1-Hücre sel, 2-Hü moral bağışıklık. Hü moral bağışıklık plazma proteinlerinin γ -globulin fraksiyonunda yer alan dolaşımdaki antikorlara bağlıdır ve B lenfositleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu bağışıklık sistemi bakteriyel enfeksiyonlara karşı büyük bir savunma oluşturur. Hü cre sel bağışıklık ise gecikmiş allerjik reaksiyonlardan ve nakledilen dokunun reddinden sorumludur ve T lenfositleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu bağışıklık viruslar, mantarlar ve tüberküloz basili gibi birkaç bakteriye bağlı enfeksiyonlara karşı büyük bir savunma oluşturur, ayrıca tümörlere karşı savunmaya da yardım eder^{9,38,39}.

Doğuştan olan immün sistem ise fagositik hücreler, NK hü cre leri, kompleman elemanları ve akut faz proteinleri gibi soluble faktörler ile diğer mikrop öldürücü ajanlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu mekanizmalar kısmen istilacı mikroplara düşman bir çevre oluşturarak da fonksiyon görürler (Şekil 1)³⁹.



Şekil 1. İmmün sistemin doğuştan ve kazanılmış bölümlerinin ana bileşenlerinin ve hedeflerinin şematik özeti.

İmmün Sistemin Hüresel Elemanları

İmmün sistem nöroendokrin sistem gibi özel fonksiyonlara ve kimyasal habercilere sahip bir çok özelleşmiş hücre tipinden oluşmuştur. Genelde bu hücreler

fonksiyonlarına ve immünolojik olarak tanımlanmış hücre yüzeyindeki belirleyicilere göre isimlendirilmektedir ⁴⁰.

T- Lenfositler

Fötal gelişim esnasında kemik iliğinden gelen lenfosit öncüllerinden timusa yerleşenler, bu organ ortamında hücresel bağışıklıktan sorumlu hücrelere (T lenfositlerine) dönüşürler. Dolaşımdaki lenfositlerin % 75 ni oluşturan T hücreleri 4 ayrı türde olabilirler. Bunlar; 1-helper/inducer(yardımcı) T hücreleri, 2-supressör(baskılayıcı) T hücreleri, 3-sitotoksik (effektör yada katil) T hücreleri, 4-bellek T hücreleridir. Yardımcı ve baskılayıcı T hücreleri, B hücre türevleri tarafından antikor üretilmesinin düzenlenmesine katılırken, sitotoksik T hücreleri nakledilmiş ve diğer yabancı hücreleri tahrib ederler. Sitotoksik ve baskılayıcı T hücrelerinin yüzeylerinde monoklonal antikorlarla saptanan glikoprotein CD8 bulunduğundan bunlara sıklıkla T8 hücreleri de denir. Yardımcı T hücrelerinin yüzeyinde ise glikoprotein CD4 bulunduğundan bunlara da T4 hücreleri denir ³⁹.

T lenfositler conconavalin A(CON A), Phytohemagglutinin(PHA) ve Staphylococcal enterotoxin A gibi T-hücre mitojenlerine cevap verebilir. T hücresi mitojen ile etkileşime girdiğinde iki olay meydana gelir: 1-T lenfositler blastojenik cevaba maruz kalırlar, 2- lenfokin üretirler. Lenfokinler arasında en belirgin olanları interleukin-2 (IL-2) ve γ -interferon(IFN- γ) dur. IL-2 T lenfosit gelişmesini ve büyümesini sağlarken IFN- γ sitotoksik hücreleri ve makrofajları aktive eder, MHC kompleks antijenlerinin çıkışı artırır ve virus enfeksiyonunu inhibe eder ⁴⁰.

B-Lenfositler

İkinci ana lenfosit grubu B lenfositleridir. B lenfositleri de kemik iliğinden köken alır, kuşlarda bursa fabriciusa yerleşirler. Memelilerde bu yapı bulunmamakta, B lenfositlere dönüşüm bursa eşdeğerinde yani fetal karaciğerde ve doğumdan sonra kemik iliğinde görülmektedir. Dolaşımdaki lenfositlerin % 10-15 ini oluşturan B hücreleri uyarıldıkları zaman plazma hücreleri ile bellek B hücrelerine farklılaşırlar. Plazma hücrelerinin ana görevi dolaşıma büyük miktarlarda antikor sağlamaktır. Antikorlar plazmanın globulin fraksiyonunda bulunurlar ve immünglobulinler(Ig) adını alırlar. B lenfositleri hem bakteriyel lipopolisakkarit gibi(LPS) B hücre mitojenlerine cevap oluştururlar hem de T hücreleri gibi uyarıldıkları zaman blastogeneze maruz kalırlar ve ilaveten Ig ve IFN- α sentezleyebilirler ^{39,40}.

Monosit / Makrofajlar

Kemik iliğinden köken alıp olgunlaşan monositler dolaşıma girerler, periferel dolaşımdan karaciğer, dalak gibi farklı dokulara geçerek makrofajlara farklılaşırlar. Monosit / Makrofajlar Mac 1 adı verilen özel bir hücre yüzey belirleyicisi taşırlar ve bakteri benzeri yabancı materyalin fagositozu, Ig sentezi için antijen sunumu ve oluşumu, gecikmiş tipteki hipersensitivitenin oluşumu ve tümör immünitesi gibi birçok immünolojik fonksiyona katılırlar ^{9,40}. Kompleman bileşenleri , IFN- α ve IL-1 gibi immünolojik maddeler makrofajlar tarafından salgılanabilmektedir ⁴⁰.

Granülositler

Dolaşımdaki lökositlerin en belirgin olanı, polymorphonuclear (PMN) lökositler olarak da bilinen granülositlerdir. Olgun granülositin 3 tipi vardır: nötrofiller,

eozinofiller ve bazofiller⁴⁰. Toplam lökositlerin % 50-70 ni oluşturan nötrofillerin ana görevi bakterilerin ve enfeksiyona yol açan diğer ajanların fagositozudur. Nötrofiller vücudun en iyi fagositlerindendir^{9,39,40}. Bazofiller mast hücrelerine benzerler fakat aynı değildirler, anafilaktik ve allerjik reaksiyonlarda ve parazitlerin immünitesinde görev alırlar^{39,40}. Eozinofiller fagositoza uğratılamayacak kadar büyük olan parazitlere saldırırlar ve lökotrien C4 ve PAF üretirler: bu iki madde allerjik hastalıklara katılmaktadır³⁹.

NK Hücreleri

NK hücreleri tümör hücrelerine, virus ile enfekte hücrelere, kemik iliği ve timustaki bazı normal hürelere karşı doğal sitotoksisiteye sahip ve stoplazmalarında azurofilik granülleriyle karakteristik özellik gösteren 3. lenfosit alt grubudur⁴¹. NK hücreleri 1972-1973 yıllarında tanımlanmalarından itibaren viral enfeksiyonlara ve malign neoplazmik hastalıklara karşı vücudun geliştirdiği dirençte oynadıkları rol ile bütün dikkatleri üzerine çekmiştir⁴¹.

NK hücreleri bazı tipik özelliklerinden dolayı diğer iki lenfosit grubunu oluşturan T ve B lenfositlerinden farklılık göstermektedir. Sitoplazmalarındaki azurofilik granüllerden dolayı ve diğer lenfositlerden daha büyük olmaları nedeniyle iri granüllü lenfositler (LGL= Large granular lymphocyte) olarak da isimlendirilmektedir. LGL dalak ve periferik kandaki lenfositlerin küçük bir grubunu oluşturmaktadır(mononükleer hücrelerin % 2-4). Bu hücrelerin % 75 inden fazlasında NK lara özgü sitotoksik özellikler görülmektedir⁴¹.

NK Hücrelerinin Farklılaşması ve Orijini

NK hücreleri tüm hematopoietik hücreler gibi kemik iliği öncüllerinden kök almaktadır. Fakat bir çok sistemin de bu öncül hücrelerin olgun NK hücrelerine farklılaşmasına ve düzenlenmesine etkisi vardır ^{42,43}.

NK hücreleri kemik iliğinden çıktıktan sonra timusta olgulanmayan bir farklılaşma göstermektedir. Kemik iliğinden salınan NK hücrelerinin çoğu ya periferik kanda dolaşır yada dalağa göç ederler, çok az oranlarda da sağlıklı kişilerin timuslarında ve lenf düğümlerinde bulunabilirler ^{44,45}.

NK Hücrelerinin Sitotoksik Aktiviteleri

Değişik çalışmalarda NK ların hedef hücrelerini spontan olarak öldürebilen lenfositler gibi fonksiyonlara sahip olduğu açıklanmıştır. NK aktivitesi, bazı özelliklerinden dolayı T hücrelerinin tipik sitolitik aktivitelerinden farklıdır. Bunlar: 1- Hedef hücrelere etkisi spesifik bir immünizasyondan önce daha kısa bir sürede olur. 2- Hedef hücrelerindeki self-MHC antijenlerin çıkışına ihtiyaç duymazlar. 3- Klonal olarak bir özellik göstermezler ^{42,45,46}.

NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesinin insanlarda doğumdan orta yaşa doğru dereceli bir artma gösterdiği bildirilirken³¹, farelerde türden türe değişmekle birlikte genellikle doğumdan sonraki 3-4. haftalarda başladığı, 7-8. haftalarda en yüksek değerine ulaştığı ve 11-12. haftalardan sonra ise düşmeye başladığı bildirilmektedir ^{47,48,49}.

Sitolitik Etki Mekanizmalar

LGL morfolojisi gösteren dinlenme halindeki NK hücreleri, hedef hücreye bağlandıkları zaman sitolitik granüllerini salgırlar⁴⁵. Granül ekzositozu sonucu etkin hücreler, hedef hücrelerinin plazma membranının bağlandığı bölgeye perforinleri, serin esterazları ve kondroitin sülfat proteoglikanları salarlar^{50,51,52}. Perforinler genelde sitolizinler veya por oluşturma proteinleri olarak da isimlendirilir. Hedef hücre membranındaki monomerleri polimerize ederek silindirik transmembran porları oluşturlar ve bu da hedef hücrenin ozmotik lizisine neden olur⁵⁰.

Perforine bağımlı membran bozulması NK sitolizisinin tek mekanizması değildir. NK hücreleri, NK sitotoksik faktör veya NKCF olarak da isimlendirilen IL-3, GM-CSF, M-CSF, IFN- α , β , γ , TNF- α , β gibi eriyebilen sitokinleri de salarlar^{42,50,53,54}.

TNF- α NK hücrelerinin litik aktivitesinin en önemli mediatörüdür. TNF- α hedef hücre DNA sını 180-200 bazlık fragmanlara ayırabilen hedef hücre endonükleazlarını aktive eder. Apoptozis veya programlanmış hücre ölümü olarak da isimlendirilen bu işlem perforinler veya komplemanın neden olduğu ozmotik lizise benzemektedir⁵⁰.

Çeşitli sitokinler sitolitik aktiviteyi ve NK hücre proliferasyonunu etkileyebilmektedirler (Tablo 1)⁴². Bunlardan interferonlar ve IL-2, üzerinde en çok çalışılanlardır. Interferonlar virusla enfekte hücrelerden salınan proteinler olarak tanımlanmışlardır ve viral replikasyonu inhibe etme özelliğindedirler. IFN- α , β ve γ nın üçü de NK hücrelerinin sitolitik aktivitesini arttırmaktadır⁵⁵⁻⁵⁷. IFN lar NK hücrelerinin

sitolitik aktivitesinin artmasına aracılık ederken, tek başlarına NK proliferasyonuna neden olmazlar, fakat IL-2 ile oluşan proliferasyonu azaltabilirler^{56,58}.

Tablo 1. İnsan NK hücre fonksiyonlarına sitokinlerin etkileri.

Sitokin	<u>Dinlenme Halindeki</u>		<u>IL-2 ile Aktive Olmuş</u>	
	NK Hücreleri		NK Hücreleri	
	Sitotoksosite	Proliferasyon	Sitotoksosite	Proliferasyon
IL-1	↑	0	↑	↑
IL-2	↑	↑		
IL-3	0	0	0	-
IL-4	0	0	↑↓	↑↓
IL-7	↑	-	0	-
TNF- α / β	↑	0	↑	↓
IFN- α	↑	0	↑	0
TNF- α	↑	-	↑	-
NKSF	↑	0	-	0
PDGF	↓	-	0	-

PDGF: Platelet derived growth factor, NKSF: NK cell stimulatory factor,

↑: Artar, ↓:inhibe eder, ↑↓:değişgen etki, -:etkisi belli değil, 0:etkisiz.

NK hücreleri IL-2 ile muamele edildiklerinde, 4-6 saat içerisinde hedef hücre ölümünde artış gözlenmiştir. Fakat bu sitolitik aktivitenin stimülasyonu 18-24 saat içerisinde optimum düzeye ulaşmaktadır⁵⁹⁻⁶³. IL-2 NK hücresi üzerindeki bu etkisini IL-2 reseptörü (IL-2R) ile gerçekleştirmektedir. IL-2R'nün α , β ve γ alt ünitelerinden oluştuğu düşünülmektedir. 55 kDa α (IL-2 Rp 55) zinciri CD 25 olarak da isimlendirilmektedir. Alfa zinciri düşük afinitelidir, T hücre aktivasyonunda önemi

vardır. 70-75 kDa ağırlığındaki β zinciri (IL-2 Rp 75) kuvvetli bağlanma özelliğine sahiptir. Üçüncü alt grup ise 64 kDa daki γ zinciridir¹².

NK hücreleri tarafından gerçekleştirilen hedef hücre ölümündeki artışın IL-2 Rp55 zincirine karşı kullanılan monoklonal antikorlar tarafından engellenememesi, IL-2 bağımlı sitolitik aktivite artışının IL-2 Rp 75 zincirine bağlı olduğunu ortaya çıkarmıştır^{60,62}.

IL-2, NK hücresi üzerindeki yüzey yapışma moleküllerini ve NK sitoplazmasındaki granüllerin sayısı ve büyüklüğünü artırmaktadır⁶⁴. Prostaglandinlerin, lipooksijenaz ara yol inhibitörlerinin ve kortikosteroidlerin, NK hücre sitotoksik aktivitesini baskılayıcı etkisi vardır^{65,66}.

NK Hücrelerinin Fizyolojik Rolü

NK hücreleri, interferonlarla olan etkileşimleri nedeniyle virus enfekte hücreler üzerinde etkili ve selektif bir lizise sahiptirler. Hücre yüzeyindeki viral antijenlerin ve diğer hücresel yapıların varlığı, NK sitolizisi için sensitiviteyi artırmaktadır⁶⁷. NK hücreleri gram pozitif ve gram negatif bakterilerini⁶⁸, bir fungus olan *Cryptococcus neoformans*⁶⁹, bir protozoa olan *Toxoplasma gondii*⁷⁰, ve *Trypanosoma cruzi*⁷¹ ve diğer enfeksiyon patojenlerini öldürebilmektedir.

Otolog tümörlerin tahrib edilmesinde NK hücreleri T hücrelerinden daha fazla etkilidir⁷². Ayrıca NK hücreleri hematopoezin regülasyonunda da rol almaktadır⁷³.

NK Hücre Sitotoksiste Ölçüm Yöntemleri

Sitotoksik hücrelerin veya mediatörlerin etkisi sonucunda görülen hücre ölümünün belirlenmesi amacıyla değişik yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin bir kısmı ölen hücreleri, bir kısmı da canlı kalan hücreleri ölçmektedir. Yöntemlerin çoğu aritmetik formülün değiştirilmesi ile iki yönlü kullanılabilir. Cr^{51} salınım yöntemi özellikle NK ve antikor bağımlı sitotoksitenin ölçümünde en yaygın kullanılan yöntemdir⁷⁴⁻⁷⁸. NK sitotoksik aktivitesinin ölçümünde insan lenfositleri K562 ile, fare lenfositleri YAC-1 ile, tümör hücreleri Cr^{51} ile işaretlenerek kullanılmaktadır. Fakat radyoaktif salınma esasına dayanan Cr^{51} salınım yöntemi gibi metodların basit laboratuvar koşullarında çalışılması değişik nedenlerden dolayı güçlük verdiği için , radyoaktif madde kullanmadan da aynı sensitiviteyi gösterebilecek Nötral kırmızısı boya alım yöntemi, Metilen mavisi yöntemi ve mitokondriyal fonksiyonun MTT (3-(4,5-dimethy-thiazil)-2,5 diphenyl tetrazolinin bromide) ile indirgenmesi ve saptanması gibi kolorimetrik yöntemler geliştirilmiştir⁷⁹⁻⁸³.

Egzersiz ve Enfeksiyonların Görülme Sıklığı: Epidemiyolojik

Bulgular

Egzersiz ve enfeksiyonların görülme sıklığı arasındaki ilişkileri araştırmak amacıyla uzun yıllar süren prospektif çalışmalar yapılmış ve çeşitli spor takımlarında başlıca enfeksiyonların görülme sıklığı incelenmiştir. Bunlardan en sık araştırılan üst solunum yolu enfeksiyonlarıdır(ÜSYE). Çünkü Amerika Birleşik Devletlerinde (A.B.D.) her yıl 425 milyonun üzerinde ÜSYE vakasının oluştuğu ve bunun da iş yerlerinde ya da okullarda 2.5 milyon dolarlık maddi kayba neden olduğu bildirilmektedir⁸. Yine A.B.D.' de her 100 kişiden 80 ninin yılda bir kez ÜSYE'nuna

maruz kaldığı saptanmıştır. İnsanlar arasında en sık görülen enfeksiyon olan ÜSYE ile egzersiz arasındaki ilişki çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir. Nieman ve ark. 2311 maraton koşucusunda ÜSYE'nin görülme sıklığını araştırmışlardır. Çalışmada 1987 Los Angeles Maratonu'ndan 1 hafta önce ve 1 hafta sonraki iki aylık dönemde (Ocak-Şubat) ÜSYE episodları incelenmiştir. Maratona katılanların % 12.9'nun yarışı takiben enfeksiyona yakalandıkları, katılmayan kontrollerde ise bu oranın % 2.2 olduğu bildirilmiştir ⁸⁴.

Bir yıl süren prospektif çalışmada ise 12 yaşındaki 137 denekte spor aktivitelerine katılımın, solunum yolu enfeksiyonlarında fark oluşturmadığı, 175 genç yetişkinde yapılan retrospektif bir başka çalışmada ise spor aktivitesi ile solunum yolu enfeksiyonlarının görülme sıklığı ve süresi arasında ilişki olmadığı bulunmuştur ^{85,86}.

Beş çeşit solunum yolu virüsü içeren burun akıntısı damlacıkları ve plasebo uygulamalarında; enfeksiyon insidansının ölçülebilen psikolojik stresler ile ilişkili olduğu, fakat yürüme, koşma, joggin, yüzme, aerobik egzersiz ve ev civarında yapılan iş gibi egzersiz indeksleri ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir ⁸⁷.

Hepatid, polio, menenjit ve deri hastalıkları gibi diğer enfeksiyonlar açısından incelendiğinde ise; okuldaki çeşitli spor takımlarında oynayan öğrencilerin hepatid B, polio, menejit gibi hastalıklara yakalanmalarının diğerlerinden çok daha fazla olduğu ^{88,89,90}, gastrointestinal sistem enfeksiyonlarının ve deri hastalıklarının sporcularda normal popülasyonun 2 katı daha fazla görüldüğü bildirilmektedir ⁹¹.

Egzersiz ve İmmün Sistem Etkileşimi

Akut Fiziksel Egzersizin İmmün Sistem Üzerine Etkileri

Tek bir egzersiz periyodu ile immün sistemde meydana gelen ani değişiklikler egzersize akut cevap olarak tanımlanmaktadır. Bu değişiklikler egzersiz bitiminden 6 saat sonra kaybolmaktadır⁹². Akut bir egzersiz immün sistem elemanlarının sayısı ve fonksiyonu üzerine çeşitli etkilere sahiptir.

Lökositler

Yüksek şiddetteki endurans egzersizi dolaşımdaki lökosit sayıları üzerinde iki yönlü etkilere sahiptir. Böyle bir egzersizden hemen sonra dolaşımdaki toplam lökosit sayısı % 50-100 artar, buna monositlerin katkısı azdır, çoğunlukla nötrofil ve lenfosit sayılarındaki artışa bağlıdır. Maraton yarışı gibi uzamış endurans egzersizini takiben artış % 200-300 lere ulaşabilir⁹³⁻⁹⁷. Egzersizden sonraki 30 dakika içerisinde lenfosit sayıları egzersiz öncesinin % 30-50 altına düşer ve bu düzeyde 3-6 saat kalır. Kandaki eozinofil sayısı da yükselir , fakat bazofil sayısı değişmez. Egzersizde artan nötrofil sayıları egzersizden sonraki toparlanma döneminde de artmaya devam eder^{98,99,100}. Yüksek şiddetteki egzersizde gözlenen bu değişikliklerin yanında orta şiddetteki egzersiz daha az lökositoz, lenfositoz, nötrofili ve lenfositopeniye yol açmaktadır^{24,99,100}.

Lenfosit Alt Grupları

T, B, ve NK hücrelerinden oluşan lenfosit alt grupları egzersize cevap açısından incelendiklerinde, en fazla cevap veren grubun NK hücreleri olduğu

görülmektedir ²⁴. Yüksek yoğunluktaki bir egzersizde, olayın başlaması ile birlikte, NK hücreleri tipik olarak %50-300 oranında artar ve sonuçta da genel lenfositoya katılır^{24,26,97,101-104}. Dolaşımdaki T8 hücrelerinin de sayısı % 50-100 oranında artar, T4 hücreleri ve B hücreleri nisbeten etkilenmezler ^{97,99,105}. Bununla birlikte artışlar geçicidir ve egzersizden sonraki 30 dakika içerisinde kortizolün etkisiyle her bir lenfosit alt grubu dolaşımdan ayrıldığı için kandaki düzeyleri düşer ¹⁰⁶.

Lenfosit Fonksiyonları

Lenfosit fonksiyonlarının egzersiz ile ilişkisinin değerlendirilmesinde genellikle plant lektinlerine invitro cevaplar ölçülmektedir. Bu yöntemde PHA ve Con A poliklonal T lenfosit mitojenleridir. Pokeweed mitojen(PWM) ise T ve B hücre mitojeni olarak kullanılır ²⁸.

Akut bir fiziksel egzersizde lenfositlerin kandaki düzeyleri yükselmesine karşın herbir mitojen ve antijene lenfosit proliferatif cevabı egzersiz anında yada hemen sonra baskılanmaktadır⁹. Bu baskılanmanın % 35-50 oranlarında olduğu ve egzersizden sonraki 2 saat içerisinde normale döndüğü bildirilmektedir ^{96,98,99,107-109}.

NK Hücre Sitotoksik Aktivitesi (NKSA)

Yoğun bir egzersizi takiben NKSA % 40-100 oranlarında artar, fakat egzersizden sonraki 1-2 saat içerisinde egzersiz öncesi değerin % 25-35 altına düşer ^{24,26,28,98,101-103}. Egzersizden hemen sonra gözlenen NKSA artışından sorumlu olan, dolaşıma katılan çok sayıdaki NK hücresidir. Egzersizden bir süre sonra gözlenen azalmanın nedenleri ile ilgili olarak çeşitli görüşler vardır. Bir kısım araştırmacı NKSA

deki bu azalmadan, NK hücrelerindeki sayısal değişimleri sorumlu tutarken, bir kısmı da aktive monosit ve nötrofillerden kaynaklanan prostaglandinleri ve NK hücre aktivitesini baskılayabilecek yüksek hormon düzeylerini sorumlu tutmaktadır^{24,26,28,110,111}

B Hücre Fonksiyonları

Egzersiz takiben B lenfosit fonksiyonları antikor üretme kapasiteleri açısından incelendiğinde, ya azaldığı yada değişmediği gözlenmiştir. Örneğin sedanter bireylerde yüksek şiddetteki 1 saatlik bisiklet egzersizi sonrasında aktif monositlerin inhibitör etkisi nedeniyle, B lenfosit fonksiyonlarının baskılanabildiği bildirilirken¹¹²; diğer çalışmalarda egzersiz sonrası B lenfosit fonksiyonlarında değişiklik olmadığı ileri sürülmektedir¹¹³. Veriler genelde egzersiz anında ve sonrasında B lenfosit fonksiyonlarının değişmediği yönünde yoğunlaşmakta ve bu da hücre sayısının değişmemesi ile açıklanmaktadır²⁸.

Nötrofil Fonksiyonları

Orta ve yüksek şiddetteki endurans egzersizlerinin kan nörofilleri ve peritoneal makrofajlar üzerinde uzun süreli olumlu etkilere sahip olduğu bildirilmektedir^{8,114,115}. Fakat 20 km lik bir yarış sonrasında ise, burun boşluğundaki nötrofillerin bakteri öldürme özelliğinin azaldığı ileri sürülmektedir¹¹⁶. Yarış atlarında da benzer şekilde akciğer nötrofillerinin mikrop öldürme aktivitesinin yarış sonrasında bozulduğu bildirilmektedir¹¹⁷. Dolaşımdaki ve solunum yollarındaki nötrofillerin yoğun egzersize verdikleri fonksiyonel cevaplar değişebilmektedir⁸.

Sitokin Cevapları

Sitokinler aktive lenfositlerin ve hücrel immüno-inflamatuvar cevaplara katılan diğer hücre tiplerinin polipeptid ürünleridirler. Sitokinler immün sistem hücreleri ve olayları arasında moleküler bir haberci gibi görev yaparlar, bunların fazlalıkları veya noksanlıkları enfeksiyöz ve immüno-inflamatuvar hastalıklara neden olabilir ^{28,118}. Şiddetli bir egzersizden sonra IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α , IFN- γ gibi sitokinlerin değişen sürelerde arttığı bildirilmektedir ^{119,120,121}. Özellikle eksentrik kas kasılmalarının yoğun olduğu egzersizlerde oluşan kas hasarı ve beraberindeki akut faz cevabının sonucu olarak kas dokusunda IL-1 β , plazma IL-1, IL-6 ve TNF- α düzeyleri artmaktadır ¹²².

Düzenli Egzersiz Eğitiminin İmmün Sisteme Etkileri

Lökositler ve Lökosit Alt Grupları

Düzenli egzersizin immün sisteme etkilerini incelemek amacıyla yapılan çok sayıdaki çalışma, düzenli egzersizin dolaşımdaki toplam lökosit sayıları veya lökosit alt grupları üzerine önemli bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Eğitimli atletlerin serum immünglobulin düzeylerinin de normal referans sınırları içerisinde olduğu ve sedanterlerinkine benzediği bildirilmektedir ^{14,16,17,18,123-130}.

Lenfosit fonksiyonları

Düzenli aerobik egzersiz eğitiminin lenfosit fonksiyonlarına etkisi deneğin yaşına, fiziksel uygunluk düzeyine ve çalışmanın şiddetine göre değişmektedir. Çünkü yaşlanmanın etkilerine en duyarlı immün sistem elemanı T lenfositleridir. Genç

denekler ile karşılaştırıldığında T lenfositlerinin mitojene verdikleri proliferasyon cevabının % 45-65 azaldığı bildirilmektedir¹⁶. Düzenli egzersiz eğitimi yaşlı deneklerde T hücre fonksiyonunu artırabilirken, genç deneklerde bu etki görülmemektedir. Örneğin 73 yaşındaki antrene olan ve olmayan bayanların T hücre fonksiyonunun karşılaştırıldığı çalışmada antrene grupta % 56 lık anlamlı artış bildirilmektedir¹⁶. Bu sonuç deney hayvanlarında yapılan bazı çalışmalar ile de desteklenmiştir. Örneğin 15 haftalık % 75 VO₂ maksimumdaki treadmill koşu egzersizinin yaşlı sıçanların dalak T hücre fonksiyonunda dramatik artışlara neden olduğu bildirilmektedir²¹. Gençlerde ise lenfosit fonksiyonlarında egzersiz eğitimi ile kalıcı değişiklikler oluşmamaktadır¹²⁶.

NK Sitotoksik Aktivitesi

İnsanlarda yapılan çok sayıda çalışma ile egzersiz eğitiminin NKSA üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu gösterilmiştir¹³⁻¹⁸. İnsanlarda özellikle orta şiddetteki egzersiz eğitimi bu etkileri ortaya çıkarmaktadır³⁴.

Deney hayvanlarında ise birbiri ile çelişkili sonuçlar alınmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan fareler türden türe değişmekle birlikte şu özelliklere sahiptirler: Yaşam süreleri 460-780 , üreme yaşları 300-400 gün arasındadır, pubertenin başlangıcı doğumdan sonraki 4. haftadır, gebelik 19-20 gün, laktasyon 3 hafta kadar devam eder¹³¹. Egzersiz eğitimi ile farelerin NKSA nin arttığını bildiren çalışmaların yanında^{15,19,126}, artışın olmadığını , hatta azalmanın saptandığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır^{21,36,132,133}. Bu çelişkili sonuçların nedenleri arasında denek tipinde , egzersiz çalışmasında ve kullanılan yöntemlerdeki farklılıklar sayılmaktadır¹³⁴. Denek tipi ele alındığında NKSA'nın farelerde yaş ile (yaklaşık 12. haftadan itibaren) azaldığı^{47,48,49}, insanlarda ise doğum ile başlayıp ilerleyen yaş ile dereceli olarak arttığı örneği verilebilir³¹. Egzersiz çalışmasında ise insanlarda yüzme, koşma, aerobik, jogging ve özel spor branşları kullanılmasına karşın, deney hayvanlarında yüzme ve koşu

egzersizleri kullanılabilmektedir. Ayrıca deney hayvanlarında treadmill koşusu en yaygın egzersiz türü olmakla birlikte, elektrik şokları ve egzersizin zamanı gibi dış stres yapıcı faktörler bu egzersiz türünde de egzersizden beklenen sonuçları etkilemektedir⁹.

Olası Etki Mekanizmaları

Egzersiz şiddeti % 60 VO₂ maksimum üzerine çıktığı zaman adrenalin, noradrenalin, BH, β -endorfinler ve kortizol gibi çok sayıdaki stres hormonunun kan konsantrasyonları artar. Ayrıca şiddetli egzersiz vücut ısısında da yükselmeye neden olur. İlaveten lenfositlere enerji desteğinin azalması da egzersize cevabı etkilemektedir^{26,122}.

İmmün ve nöroendokrin sistem arasındaki iki yönlü ilişki nedeniyle, egzersiz immün sistem hücrelerinin özelliğini etkileyen koordine edilmiş hormonal cevaplar zincirini indükler^{40,122}. Örneğin egzersize cevapta adrenal medüllayı innerve eden sempatik splanchnic sinirlerden gelen uyarılar plazmaya adrenalin ve noradrenalin salınımına neden olur: bu medüller hormonlar kalp hızı ve vazomotor tonüs üzerine ve sonuçta da lenfoid dokulara kan akışı ve lökosit dolaşım şekilleri üzerine belirgin fizyolojik etkilere sahiptirler. Egzersiz anında hipotalamusun uyarılması ACTH ve glukokortikoid salınmasına da neden olur. Glukokortikoidler makrofajlar, monositler ve NK hücreleri üzerinde güçlü immün baskılayıcı etkilere sahiptirler. β -endorfinler ve BH gibi diğer ön hipofiz hormonları da uzamış orta şiddetteki egzersizin sonucu olarak salınmaktadır¹²². Makrofaj ve lenfositler için önemli bir enerji kaynağı olan glutamin ile lenfosit gelişmesi için gerekli bir kofaktör olan çinko uzun süreli egzersizlerde ve sonrasında azalabilmektedir^{11,29,30}. Ayrıca uzun ve yoğun egzersizlerde ve hemen sonrasında yeterli karbonhidrat alınmadığında lenfositler yağ

asitlerine, özellikle de doymamış yağ asitlerine maruz kalabilmektedirler. Yağ asitleri ise lenfosit matürasyonunu inhibe edebilmektedir¹¹. Adı geçen bu metabolik ve hormonal faktörler egzersiz ve egzersiz eğitiminin yol açtığı immün değişikliklerin düzenlenmesinde etkili olmaktadır.

Katekolaminler

Katekolaminler lökositlerin damar duvarındaki endotele yapışmasını azaltırlar ve bu nedenle β -adrenoreseptör antagonistleri katekolaminler ile indüklenen lökositozu bir dereceye kadar önleyebilir. Dalak, lenf nodları, karaciğer ve timus adrenoreseptörden zengin organlardır ve egzersiz ile sempatik sistemin uyarılması bu organlardan lökosit salınmasını artırır. Bundan başka katekolaminler, α -adrenerjik stimülasyon ile CD3+, CD4+ ve CD8+ lenfositlerin de proliferasyonunu artırırken, β -adrenerjik uyarılma ile proliferasyonu inhibe ederler, bu etki T4 lenfositlerde T8 lerden daha belirgindir. Bu nedenlerle akut bir egzersizde iş yüküne bağlı olarak katekolamin artışı β -adrenoreseptör aracılığı ile lökositozun başlangıcında ve lenfosit proliferasyonunda önemli rol oynar. Katekolaminlerin etkileri yalnızca kandaki konsantrasyonlarına bağlı değildir, aynı zamanda lenfositler üzerindeki β -adrenoreseptör sayısına da bağlıdır. β -adrenoreseptör sayısı ağır bir egzersiz sonrası çoğu durumda egzersizin tipine ve süresine bağlı olarak artar¹³⁵⁻¹³⁹.

NK hücreleri β -adrenerjik reseptör açısından zengindir ve adrenalın infüzyonu ile oluşturulan akut sempatik aktivasyon, akut egzersiz ve psikolojik stresler benzer yollar ile dolaşımdaki NK hücrelerinin sayısını artırır^{110,140,141}.

Uzun süreli egzersiz esnasında arteriyel plazma katekolamin konsantrasyonları egzersizin yoğunluğu ile paralel olarak artar ve egzersiz bitiminden hemen sonra düşmeye başlar. Düzenli egzersiz eğitimi ile aynı iş yüküne verilen hormonal cevaplar azalır. Antrene bireyler sedanterler ile aynı iş yükünde egzersiz yaptıklarında oluşan cevaplar daha düşüktür ¹⁴². Düzenli aerobik egzersiz eğitimi lenfositler üzerindeki β -adrenoreseptörlerin katekolaminlere duyarlılığını down regülasyon mekanizması ile azaltır ¹⁴³.

Glukokortikoidler

Kortizol, immün regülasyonda immün sistemi baskılayıcı ve antiinflamatuvar etkilere sahip bir glukokortikoid hormondur. Kortizolün bu etkileri sitokinler ile karşılıklı ilişki sonucu oluşmaktadır. Kortizol IL-1'i inhibe eder. T4 hücrelerinin stimülasyonunu ve IL-2' reseptör ekspresyonunu azaltarak IL-2 oluşumunu azaltır ve lenfosit proliferasyonunu inhibe eder. B, NK ve bellek hücrelerinin aktivasyonu, T4 hücrelerinin monosit IL-1 ve otokrin IL-2 tarafından uyarılmasına bağlı olduğundan, kortizol T hücreleri yanında diğer hücre gruplarını da etkiler ¹³⁸. Kortizol B hücre fonksiyonlarını ve NKSA de inhibe etmektedir¹⁰. Ayrıca kortizol kemik iliğinden lökosit salınımını ve kandan lenfosit çıkışını artırırken, dolaşıma lenfosit girişini, monosit/makrofaj fonksiyonlarını ve nötrofil mikrop öldürme aktivitesini de inhibe eder ^{10,138}.

Kortizol cevapları egzersizin süresine ve şiddetine bağlıdır. Akut kısa süreli bir egzersizde kortizol konsantrasyonlarında minimal artışlar görülmektedir ve bu hormonun diüurnal değişimleri ile açıklanmaktadır¹⁴⁰. Orta ve hafif şiddette yapılan egzersizlerde gözlenen değişikliklerin ise immün sistemin düzenlenmesinde rolü olup

olmadığı açık değildir. Fakat uzun süreli yüksek yoğunluktaki egzersizlerde kortizol önemli rol oynamaktadır. Kortizol salınımı adrenalinden daha yavaş olduğu için, egzersiz bitiminden sonra da kan kortizol düzeyi yüksek olabilmektedir. Dolayısıyla şiddetli egzersizlerde ve sonrasındaki yüksek kortizol düzeyleri immün sistemin baskılanmasına neden olurken orta ve hafif şiddetteki egzersizlerde bu tür etki görülmemektedir^{10,99}.

Büyüme Hormonu(BH)

İnsan mononükleer hücreleri üzerinde yaklaşık olarak 7000 adet membran bağımlı BH reseptörü bulunduğu ileri sürülmektedir^{144,145}. BH immün sistemin gelişmesinde, fonksiyonlarının gerçekleşmesinde ve devamlılığının sağlanmasında önemli bir role sahiptir¹⁴⁶. Ayrıca lenfositlerin kültür ortamında 2-5 saat sonra kendiliklerinden BH sentezlemeye başladıkları ve bunun lenfositler için endojen otokrin büyüme faktörü olduğu gösterilmiştir¹⁴⁷⁻¹⁴⁹. BH timus gelişmesi için özellikle gereklidir, fakat lenfosit proliferasyonunun, T hücre sitotoksitesinin ve NK hücre sitotoksik aktivitesinin oluşmasında da γ -interferon kadar kuvvetli etkilidir¹⁰.

β -Endorfinler

İmmün sistem fonksiyonlarında, özellikle de NKSA'nın egzersizde ani yükselmesinde ve sonrasında azalmasında etkili olduğu düşünülen faktörlerden biri de β -endorfinlerdir. Bu peptidler monosit, lenfosit ve granüositlere bağlanabilirler ve invitro NK hücreleri üzerine çeşitli etkiler yapabilirler¹⁵⁰. Diğer taraftan makrofajlar, lenfositler ve plazma hücrelerinin, duyu nöronlarının periferik terminalleri üzerindeki opioid reseptörlerine bağlanabilen β -endorfin üretme yetenekleri vardır¹⁵¹. β -endorfinler

genelde egzersizin hemen başlangıcında artmaya başlarlar ve egzersizden sonraki 20-30 dakikalık toparlanma döneminde normale dönerler ^{152,153}.

Glutamin ve Serbest Yağ Asitleri

Bu gün lenfositler ve monositler için en azından iki ana enerji kaynağı olduğu kabul edilmektedir ki bunlar; glukoz ve glutamindir. Glukoz nedeniyle insülin T hücreleri ile monosit ve makrofajların metabolizmasında, B hücrelerinin de antikor oluşturmada gereklidir. Çünkü immün hücrelerin enerji ihtiyacı insülinin aracılık ettiği ve glukoz taşıyıcılarının aktivasyonuna yol açan glukoz girişi ile sağlanmaktadır. Ayrıca insülin lenfositlerde amino asit alınımını ve protein metabolizmasını da kolaylaştırmaktadır ¹³⁸. Egzersizde kan glukoz ve insülin düzeyleri değişmesine rağmen kan glukozu çok değişik faktörler tarafından genelde sürekli dengede tutulabildiği için bu sırada lenfositlere glukoz desteği devam edebilmektedir.

İmmün sistem hücreleri metabolizmalarında glukoz kadar, hatta ondan daha hızlı bir şekilde glutamini de kullanabilmektedirler. Glutaminin bir bölümü glutamat, laktat, alanin ve aspartata çevrilebildiği için pürin ve adenin nükleotidlerinin sentezinde de kullanılır. Hipoglisemide glukoz dengesinin sağlanması için glutamin glukoz prekürsörü olarak kullanılmakta ve dolayısıyla, lenfositlere glutamin desteği azalmaktadır ¹¹. Glutamini üreten ana doku iskelet kası olduğundan, immün hücrelerin glutamin kullanımında iskelet kası önemli rol oynar ¹¹. Maksimal egzersiz ve endurans egzersizi anında immün hücreler yüksek miktarda enerjiye ve fonksiyonlarını devam ettirecek yeni hücrelere ihtiyaç gösterirler. Bu nedenle yoğun fiziksel egzersizde, yarıklarda, yaralanmalarda ve sepsiste lenfoid sistem glutamin yetersizliğine maruz kalabilir ve fonksiyonları etkilenebilir ¹¹.

Lenf nodları genellikle adipoz doku ile yakın ilişkide bulunmaktadır, bu nedenle adipositlerden yağ asitlerinin mobilize olduğu şartlarda lenf dokularının yüksek miktarda yağ asidine maruz kalmaları beklenir. Fizyolojik düzeylerdeki yağ asitleri, özellikle de doymamış yağ asitleri, lenfosit proliferasyonunu inhibe edebilmektedir. Bunun invivo şartlarda immün baskılanmaya neden olabileceği tahmin edilmektedir. Nitekim yüksek hızdaki yağ asidi mobilizasyonu da lenf nodlarındaki lenfosit proliferasyonunun inhibisyonuna yol açmaktadır¹¹. Stresin plazma yağ asidi konsantrasyonlarını özellikle de uzun, ağır egzersiz sezonlarından sonra yeterince karbonhidrat alınmadığı durumlarda yükselttiği iddia edilmektedir.

Çinko

Çinko birçok metaloenzimin vital fonksiyonunu yapabilmesi için esansiyel bir iz elementtir. Çinko aynı zamanda insanlarda ve hayvanlarda lenfosit gelişimi için gerekli bir kofaktördür. Ciddi çinko yetersizliği lenfoid organların atrofisine, timik hipoplaziye, lenf nodlarındaki germinal merkezlerin yok olmasına neden olmaktadır^{29,154}. Çinko yetersizliği T hücre sitotoksik fonksiyonunu, NKSA ni ve yardımcı T hücre aktivitesini de olumsuz yönde etkilemektedir¹⁵⁵⁻¹⁵⁷ ve NKSA çinko konsantrasyonları ile ilişkili olarak değişmektedir. Örneğin bağırsak sendromu ve sickle hücre hastalığında NKSA ve çinko düzeyleri değişmektedir^{29,155-157}. Diğer taraftan çinko düzeyleri uzun süreli egzersizlerde de azalabilmektedir³⁰.

MATERYAL VE YÖNTE M

Materyal

Cam Eşyalar:

- Pastör pipet
- Dereceli pipet
- Petri kutusu(120 mm)
- Tüp

Aletler:

- Fare koşu bandı
- Makas
- Penset
- Plastik santrifüj tübü
- Tüberkülin enjektör
- İğne ucu
- Çelik süzgeç
- Otomatik mikropipet
- Soğutmalı santrifüj
- CO₂ li etüv
- Vorteks
- Thoma lamı
- V tabanlı mikrotitrasyon plak(Sterilin G.B.)
- Düz tabanlı mikrotitrasyon plak(MicrotestII Falcon USA)

Kimyasal Tamponlar ve Besiyeri:

- Lenfosit ayırma solüsyonu: Histopaque 1077 (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA)
- Fetal Calf Serum/FCS (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA)
- Phosphate Buffered Saline/PBS (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA)
- Kristal viyole boyası
- Lugol stok solüsyonu
- Tween 20 (Sigma 500 ml USA)
- Trypan blue (% 0.2 lik solüsyon)
- Kanlı besiyeri

Kimyasal Tamponlar ve Besiyeri Bileşimleri:⁸³

-Kristal viyole boyası

a. Kristal viyole 2 gr

Alkol (% 95 lik) 20 gr

b. Amonyum okzalat 0.8 gr

Distile su 80 gr

-Lugol stok solüsyonu

iyot 5 gr

potasyum iyodür 10 gr

Distile su 100 ml

-Kanlı besiyeri

Brain Heart Infusion Agar 47 gr./lt.

Oxoid (U.K.)	500 ml
Agar Bacteriological % 1	10 gr/lt
Difbrine kan	50 ml/lt

Kullanılan Deney Hayvanı, Hücre ve Mikroorganizma Tipleri:

- Lenfositler: Çalışmamızda albino farelerin dalaklarından elde edildi.
- Maya Hücreleri: G.Ü. Mikrobiyoloji laboratuvarından alınan *Candida stellatoidea* maya hücreleri kullanıldı.
- Deney Hayvanları: Çalışmamız Swiss/Albino erkek fareler üzerinde gerçekleştirildi .

Yöntem

Araştırma Planı

Çalışma yaşları 3-4 hafta olan 56 adet Swiss/Albino erkek fare üzerinde gerçekleştirildi. Denekler rastgele seçilerek 7 gruba ayrıldı. Her bir grup 8 fareden oluşturuldu ve tablodaki gibi düzenlendi (Tablo 2).

Çalışma süresince tüm denekler normal diyet ve su ile beslendiler.

Egzersiz Protokolü

Yaşı 3 haftalık olan deney gruplarındaki yavru farelere; egzersize uyum sağlamaları amacıyla bir hafta süre ile, günde 5 dakika ve 10 m/dk. lık sabit hız ve eğimde treadmill egzersizleri yaptırıldı. Dört haftalık yaşa ulaştıklarında ise tüm deney gruplarında esas egzersizlere başlandı. Bu amaçla Fizyoloji Anabilim Dalı'nda geliştirilen treadmill üzerinde, haftada 5 gün, 30 dakika süre ile 15 m/dk hızda olan orta

şiddette bir egzersiz programı uygulandı¹⁵. Deney protokolüne göre denekler; E4 grubunda 4 hafta, E8 grubunda 8 hafta, E12 grubunda 12 hafta egzersiz yapmış oldu. Kontroller(K0, K4, K8 ve K12) ise herhangi bir egzersiz yapmaksızın kendi normal şartlarında bırakıldılar.

Tablo 2. Çalışmanın genel özeti.

Gruplar	K0	K4	E4	K8	E8	K12	E12
n	8	8	8	8	8	8	8
Denek Yaşı(hf)	4	8	8	12	12	16	16
Egzersiz Süresi(hf)	-	-	4	-	8	-	12

K=Kontrol, E=Egzersiz

Kan Numunelerinin Alınması ve Hormon Ölçümü

Çalışmanın sonunda akut egzersizin etkilerinden kaçınmak için son egzersiz eğitiminden sonra, 3 gün dinlenim halinde tutulan fareler eter ile uyutulup dekapite edildi , kanları heparinli tüplerde toplandı ve plazmaları ayrıldı. Farelerde ana glukokortikoid olan kortikosteron ile BH nun plazmadaki düzeyleri ticari olarak mevcut RIA kitleri ile ölçüldü. Sonuçlar µg/dl olarak ifade edildi.

Çinko Ölçümü

Çinko ölçümü için asit ve deiyonize su ile yıkanmış cam tüplere alınan kanın plazması ayrıldı ve çinko konsantrasyonları atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile ölçüldü (Model 103 Perkin Elmer).

Etkin Hücrelerin Hazırlanması⁸³

- 1-Steril yöntemle dalak çıkartıldı.
- 2-PBS konulmuş petri kutusunda dalak iki parçaya ayrıldı.
- 3-İğne ucu veya makas ucu ile yavaş bir şekilde dalak zarından PBS içine hücreler aktarıldı.
- 4-Yapışmış hücreleri birbirinden ayırmak için tüberkülin enjektör ile püskürtme işlemi yapıldı.
- 5-Çelik süzgeç ile süzüldü.
- 6-Plastik tübün içerisine konulmuş Histopaque üzerinde hücreler yavaşça yayıldı.
- 7-1400 rpm' de + 21 °C' de 35 dakika santrifüj edildi.
- 8-Buffy-coat tabakası pastör pipeti yardımıyla toplandı.
- 9-Toplanan hücreler: 2500 rpm'de +4 °C' de 20 dakika ve 1800 rpm'de +4 °C' de 10 dakika(2 kez) olmak üzere toplam üç defa PBS ile yıkandı.
- 10-Süpernatant atıldı, çökelek 1 ml FCS ile karıştırılarak, 1 ml FCS ile kaplanmış petri kutusuna(120 mm çaplı) monositlerin yayılmasını sağlamak amacıyla yayıldı.
- 11-37 °C' de % 5 CO₂ içeren etüvde 2 saat inkübe edildi.
- 12-Inkübasyondan sonra petri kutusunun yüzeyindeki yapışmayan hücreler pastör pipetiyle toplandı.
- 13-1800 rpm'de +4 °C'de 10 dakika PBS ile yıkandı.
- 14-Süpernatant atıldı, kalan hücreler 1 ml PBS ile süspanse edildi.
- 15-Trypan blue ile (1:1 oranında) Thoma lamında canlılık yüzdesi hesaplandı ve yalnızca % 85-95 canlılık gösteren hücreler deneyde kullanıldı.

16-Hücreler 10^8 /ml olacak şekilde ayarlandı.

Hedef Olarak Kullanılan maya Hücrelerinin Hazırlanması ⁸³

1-Candida stellatoidea suşunun kanlı agara pasajı yapıldı ve 24 saatlik kültüründen 15-20 koloni alınıp tübün içersinde PBS ile karıştırıldı.

2-Üzerine 3 ml kristal viyole boyası konulup homojen olacak şekilde karıştırıldı.

3-2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

4-Süpermatan atıldı kalan kısım vorteksde karıştırılarak süspansiyon haline getirildi

5-2000 rpm'de 5 dakika PBS ile yıkandı.

6-Süpermatan atıldı, candida sedimentinin vortexle süspansiyonu hazırlandı.

7-2 ml Lugol solüsyonu(1:15 stok solüsyon) ilave edilip vortex ile karıştırıldı.

8-2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi, süpermatan atıldı.

9-Alt faz üç kez PBS ile yıkandı ve 2000 rpm de üçer dakika çevrildi.

10-Süpermatan atıldı, Candida hücreleri 1 ml PBS içinde süspansiyon haline getirildi.

11-Thoma lamında maya hücreleri sayılarak 10^7 /ml olacak şekilde ayarlandı.

Sitotoksosite Deneyi ⁸³

Bu deney için V tabanlı mikrotitrasyon plak kullanıldı. Bu işlemde:

1-İlk sıranın ilk altı çukuruna(spontan salınım çukurları) 100 µl PBS konuldu (A1-A6).

2-İlk sıranın diğer altı çukuruna 100 µl Tween 20 konuldu (A7-A12). Tween 20 deterjan etkisi ile Candida hücrelerinin yapılarını bozarak, hücre içeriğinin(bu çalışmada boyanın) dışarı çıkmasını sağlar.

3-Etkin:Hedef(E:H) hücreleri değişik oranlarda hazırlandı ve her E:H oranı için 3 çukur çalışıldı.

a.B1-B3 çukurlarına 5×10^6 'şar lenfosit konuldu, E:H oranı 5:1 oldu.

b.B4-B6 çukurlarına 10^6 'şar lenfosit konuldu, E:H oranı 1:1 oldu.

c.B9-B12 çukurlarına 5×10^5 'er lenfosit konuldu, E:H oranı 0.5:1 oldu.

4-Bütün dolu çukurlara 100 µl Candida süspansiyonu(10^7 maya hücre/ml, 10^6 Candida hücresi) eklendi.

5-Plak, 500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.

6-37 C, % 5 CO₂ içeren etüvde 1 saat inkübe edildi.

7-Inkübasyon sonunda, her çukurdaki süpernatandan 100 µl alınıp düz tabanlı mikrotitrasyon plağına aktarıldı.

8-Oluşan rengin absorbanş değeri(optik dansite (OD)) 595 nm'lik filtre ile multi-scan spektrofotometre'de değerlendirildi.

9-Her bir parametre için (Maksimal, Spontan, Deney) okunan değerlerin ortalaması alındı.

Doğal Antikandidiyal etki aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\% \text{ Sitotoksosite} = \frac{\text{Deney OD} - \text{Spontan salınım OD}}{\text{Maksimal salınım OD} - \text{Spontan salınım OD}} \times 100$$

İstatistiksel Yöntem

Her bir egzersiz grubu aynı yaştaki kontrol grupları student's t testi ile karşılaştırıldı. NKSA ile plazma kortikosteron , BH ve çinko arasındaki grup içi ilişkiler incelemek amacıyla basit korelasyon testleri yapıldı¹⁵⁹.

Anlamlılık düzeyi olarak $P < 0,05$ kabul edildi.

B U L G U L A R

Deneklerin egzersiz öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları ile bu ölçümler arasındaki farklar Tablo 3 de verilmiştir. Bu değerlere göre egzersiz öncesinde, deneklerin vücut ağırlıkları arasında fark bulunmadığı ve ilerleyen yaşlarına uygun olarak da ağırlık kazandıkları anlaşılmaktadır.

Tablo 3. Deneklerin egzersiz öncesi, sonrası ve çalışma süresince kazandıkları vücut ağırlıkları.

Gruplar	N	Egzersiz Öncesi		Egzersiz Sonu		Vücut Ağırlığı Artışı (gr)
		Vücut Ağırlığı (gr)	$\bar{X} \pm SD$	Vücut Ağırlığı (gr)	$\bar{X} \pm SD$	
K0	8	17.25±1.61		-		-
K4	8	17.93±1.32		26.68±1.77		8.75±0.84
E4	8	17.93±1.32		27.18±2.08		9.12±1.12
K8	8	18.31±0.96		32.81±3.39		14.5±3.18
E8	8	18.56±1.14		33.43±4.46		14.93±3.76
K12	8	18.62±2.11		36.56±3.25		18.31±2.41
E12	8	17.93±1.17		39.06±2.65		21.12±2.46

Kontroller kendi egzersiz grupları ile karşılaştırıldığında, egzersizin vücut ağırlığını artırmada daha etkili olduğu görülmektedir. Farkın en yüksek olduğu E12 grubunda, kontrollerine oranla % 15 lik artış olduğu ölçülmüştür. Fakat bütün bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Tablo 4. Deneklerin 5:1, 1:1 ve 0.5:1 E:H oranlarındaki NKSA değişimleri

Gruplar	N	Sitotoksiste Yüzdesi		
		E:H, 5:1 $\bar{X} \pm SD$	E:H, 1:1 $\bar{X} \pm SD$	E:H, 0.5:1 $\bar{X} \pm SD$
K0	8	12 $\pm$ 2.44	7 $\pm$ 1.55	4 $\pm$ 0.83
K4	8	34 $\pm$ 3.10	24 $\pm$ 2.58	17 $\pm$ 2.37
E4	8	33 $\pm$ 2.32	22 $\pm$ 1.92	17 $\pm$ 1.75
K8	8	24 $\pm$ 2.81	17 $\pm$ 3.42	11 $\pm$ 3.41
E8	8	23 $\pm$ 4.22	15 $\pm$ 3.92	10 $\pm$ 2.39
K12	8	17 $\pm$ 1.84	12 $\pm$ 2.12	7 $\pm$ 1.41
E12	8	20 $\pm$ 1.92*	14 $\pm$ 1.86*	8 $\pm$ 1.40

* $P < 0.05$ ile K12 grubundan farklı

Deneklerin her bir E:H oranında ölçülmüş olan NKSA değişimleri de Tablo 4’de verilmiştir. Bu değerlere göre; 4. haftadan itibaren NKSA nin artmaya başladığı, 8. haftada en yüksek değerlere ulaştığı, 12. haftada ise düşmeye başladığı, 16. haftada da azalmanın devam ettiği görülmektedir. Fakat yaşamlarının 16. haftasında (K12) NKSA(E:H 5:1) nin, 4 haftalıklardan(K0) % 42 daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Aynı yaşlardaki gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında ise 4(E4) ve 8(E8) hafta egzersiz yapmış olanlarda NKSA değerlerinin, egzersiz yapmamış benzer yaşlardaki kontrollerine kıyasla değişmediği; 12 haftalık egzersiz programı uygulanan gruplarda(E12) tüm E:H oranlarında daha yüksek olduğu gözlenmiştir (sırasıyla, %18, %17, %14) ve 5:1, 1:1 E:H oranlarındaki artışlar anlamlı bulunmuştur($P < 0.05$).

Plazma kortikosteron, BH ve çinko konsantrasyonları Tablo 5 de topluca görülmektedir.

Tablo 5. Plazma kortikosteron, BH ve çinko konsantrasyonlarında meydana gelen değişimler.

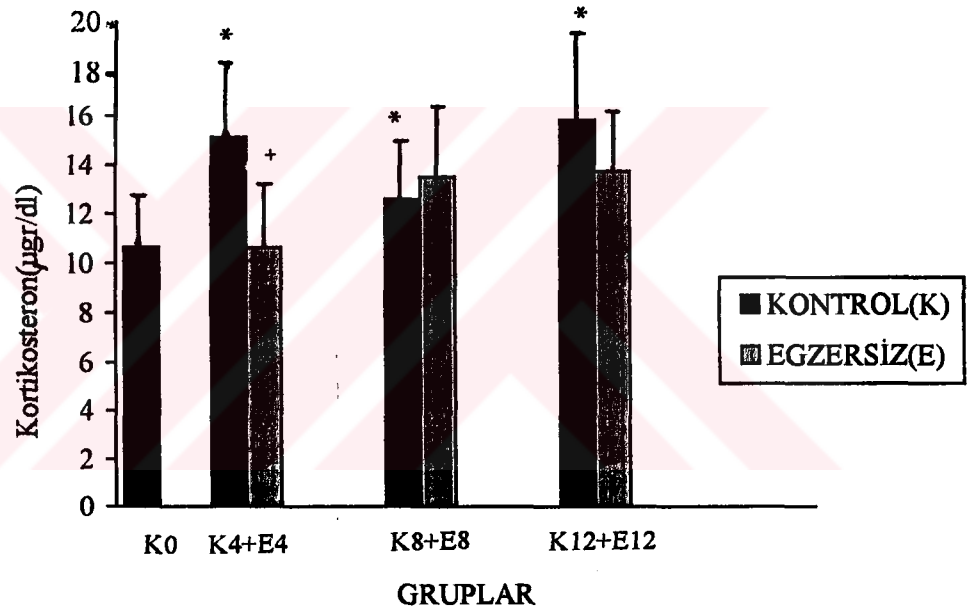
Gruplar	N	Kortikosteron ($\mu\text{gr/dl}$)	Büyüme Hormonu ($\mu\text{gr/dl}$)	Çinko ($\mu\text{gr/dl}$)
		$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
K0	8	10.62 $\pm$ 2.06	11.7 $\pm$ 2.59	72 $\pm$ 11.85
K4	8	12.62 $\pm$ 2.97*	8.43 $\pm$ 2.30*	74 $\pm$ 8.41
E4	8	15.12 $\pm$ 2.29*†	10.33 $\pm$ 2.97	67 $\pm$ 11.07
K8	8	12.62 $\pm$ 2.19*	6.73 $\pm$ 1.76*	71 $\pm$ 9.61
E8	8	13.50 $\pm$ 2.44	9.42 $\pm$ 3.22	69 $\pm$ 10.79
K12	8	15.87 $\pm$ 3.27*	6.23 $\pm$ 1.41*	72 $\pm$ 12.30
E12	8	13.75 $\pm$ 2.49	10.55 $\pm$ 3.66 ⁺	70 $\pm$ 9.72

* $P < 0.05$ ile K0 grubundan farklı

+ $P < 0.05$ ile K12 grubundan farklı

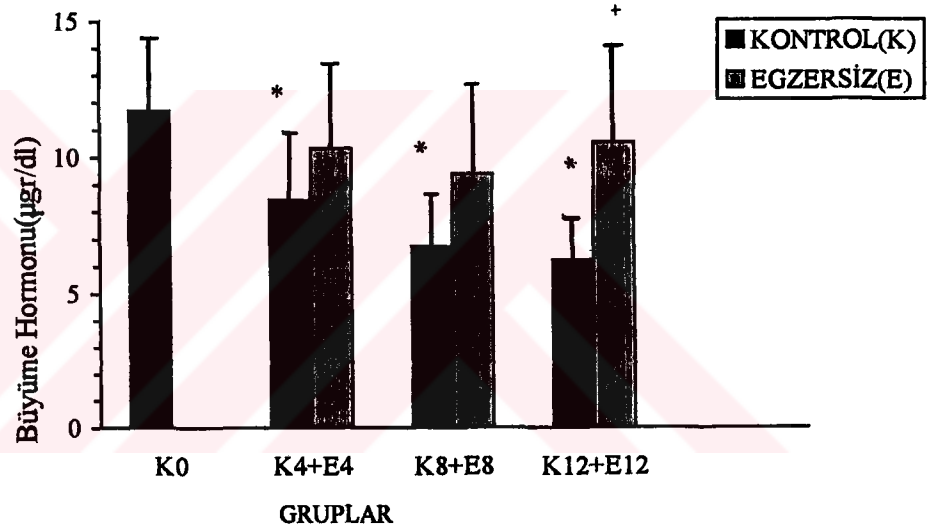
† $P < 0.05$ ile K4 grubundan farklı

Kontrol gruplarındaki plazma kortikosteron düzeylerinin 4. haftadan itibaren yaş ile birlikte artmaya başladığı, aralarındaki farkın 8 ve 12. haftada % 19, 16. haftada ise % 49 oranlarında olduğu gözlemlendi ve tüm bu artışlar da anlamlı bulundu ($P < 0.05$). Aynı yaşlardaki gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında ise E4 grubunda K4 grubuna oranla anlamlı ($P < 0.05$) yükselme gözlenirken diğer yaş gruplarında kontrol ile egzersiz deneklerimiz arasındaki fark anlamlı bulunmadı (Şekil 2.).



Şekil 2. Plazma kortikosteron konsantrasyonlarında medana gelen değişimler. * $P < 0.05$ ile K0 grubundan. + $P < 0.05$ ile K4 grubundan farklı.

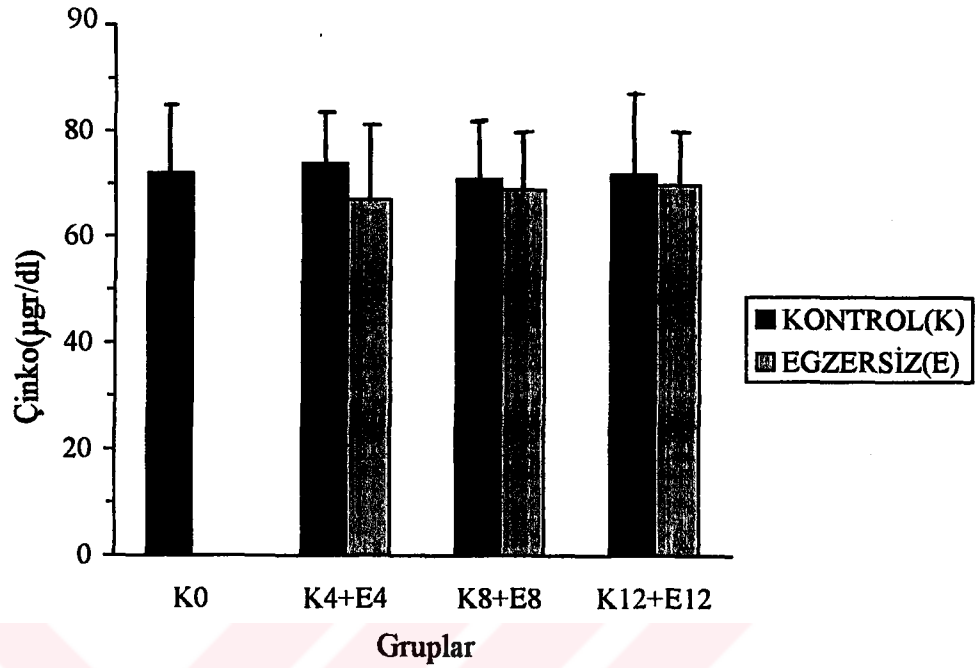
Plazma BH konsantrasyonlarının da K0 grubuna kıyasla K4'de % 28, K8'de %42, K12'da %47 oranında anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu gözlenmiştir. Kontrol ve egzersiz grupları birbiri ile karşılaştırıldığında ise bütün egzersiz gruplarında BH'nun kontrollerine oranla daha yüksek olmasına karşın yalnızca E12 grubundaki %69 'luk yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$)(Şekil 3).



Şekil 3. Plazma büyüme hormonu konsantrasyonlarındaki değişimler.

* $P < 0.05$ ile K0 grubundan, + $P < 0.05$ ile K12 grubundan farklı.

Plazma çinko konsantrasyonlarının ise gerek yaş, gerekse kontrol-egzersiz karşılaştırması, gruplar arasında önemli bir fark olmadığını göstermiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Plazma çinko konsantrasyonlarındaki değişimler.

Bir başka kıyaslamada da NKSA(E:H 5:1) nın; kortikosteron, BH ve çinko düzeyleri ile ayrı ayrı grup içi ilişkisini saptamak amacıyla basit korelasyon testleri uygulandı. Buna göre kortikosteron-NKSA arasında K4 ve K12 gruplarında negatif ilişki (sırasıyla: $r = -0.74$ $r^2 = 0.55$, $r = -0.76$ $r^2 = 0.59$), BH-NKSA karşılaştırmasında da yalnız E12 grubunda pozitif ilişki ($r = 0.93$ $r^2 = 0.87$) bulunmuştur. Bu ilişkilerin istatistiksel olarak da anlamlı olduğu ($P < 0,05$) saptanmıştır. Diğer karşılaştırmalarda ise ilişkiler anlamsız bulunmuştur.

TARTIŞMA

Büyüme döneminde yapılan egzersiz eğitiminin NKSA'ne etkisinin araştırıldığı bu çalışmada; yeni doğan farelerin eğitilebilir duruma gelmeleri için 3. haftaya kadar beklendi. Bu süre sonunda vücut ağırlıklarının birbirine uygun bulunması yavruların homojen bir gelişim içinde olduklarını göstermiştir. Düzenli egzersiz eğitiminin bedensel gelişim ve fizyolojik parametreler üzerindeki etkileri oldukça iyi bilinmektedir. Fakat günümüzde düzenli egzersiz eğitiminin immün sistem üzerindeki etkilerine ait veriler henüz kesinlik kazanmamıştır. Örneğin literatürde NKSA' nin düzenli egzersiz eğitimi ile arttığını^{15,160}, değişmediğini^{21,132} ve azaldığını¹³³ bildiren yayınlar bulunmaktadır.

Egzersiz şekli bizimki ile aynı olan Macneil ve Hoffman-Goetz'in¹⁵ çalışmaları istemli veya zorunlu kronik egzersizin sitotoksik aktiviteyi artırdığını göstermiştir. Araştırmacılar zorunlu treadmill grubuna bizim deneklerimizdeki gibi 30 dk/günde ve 15 m/dk sabit hızda 5 gün/haftada, koşu egzersizi yaptırmışlardır. 6-7 haftalık C3He farelerinin kullanıldığı ve 9 hafta süren bu çalışma sonunda bizim egzersiz gruplarımızda gözleendiği gibi zorunlu koşu grubundaki farelerin, diğerlerine oranla daha fazla kilo kazandıkları ve besin tükettikleri saptanmıştır. Çalışmada hem zorunlu ve hem de istemli koşu gruplarında NKSA artışının gözlenmesi nedeniyle araştırmacılar, bu değişiklikleri egzersizin fizyolojik etkileri ile açıklamışlardır. Bütün gruplarda ölçümler dinlenim anında yapıldığından bunun akut egzersizdeki geçici etkiden ziyade kalıcı bir aktivite değişikliği olduğu sonucuna varmışlardır. Bizim çalışmamızda egzersizin NKSA'ni artırıcı etkisi 12 haftalık egzersiz sonrasında gözlenmiştir. Deneyler arasındaki farkın nedeni kullanılan farelerin tür ve yaşlarından

kaynaklanabilir. Çünkü bizim çalışmamızdaki fareler 4 haftalık Swiss/Albino cinsi iken, Macneil ve Hoffman-Goetz 6-7 haftalık C3He fareler kullanmışlardır ve 9 haftalık çalışma sonunda fareler 15 haftalık yaşa ulaşmışlardır. Dolayısıyla bu araştırmacıların bulguları bizimkilere oranla daha ileri yaş grubuna aittir. Nitekim bizim çalışmamızda da egzersizin en olumlu etkisi en yaşlı grupta (E12) gözlenmiştir.

Diğer yandan Blank ve ark.¹³³ 7 haftalık C57BL/6J farelere 10 haftalık egzersiz eğitimi (% 8 eğitimde, 12 m/dk.lık sabit hızda, haftada 5 gün, günde 60 dakika) yaptırdıklarında; bazal NKSA'nın % 30 baskılandığını, IL-2 cevabının ise değişmediğini gözlemişlerdir. Araştırmacılar NKSA'deki baskılanmanın dalaktaki NK hücre sayısındaki azalmaya bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Fakat farede egzersiz eğitiminin dalak NK hücre yüzdesini arttırdığını veya değiştirmedeğini gösteren yayınlardan sonra, çalışmalarını, hücre elde etme yöntemini değiştirerek tekrarlamışlardır. Bunun sonucunda da, egzersizin NK hücre yüzdesini etkilemediği, NKSA'nın azalmadığı, hatta % 17 ye kadar yükseldiği ölçülmüş ve orta şiddetli endurans egzersizinin NKSA'nın parakrin kontrolüne katkıda bulunabileceği açıklanmıştır¹³².

Deney hayvanlarının türü, egzersiz eğitiminin süresi, şiddeti ve NKSA ölçüm yöntemlerindeki farklılıkların çalışmalar arasındaki çelişkilere sebep olabileceğini göstermesi açısından, Blank ve ark.nın araştırmaları^{132,133} tipik bir örnek oluşturmaktadır. Kullanılan fare türleri kıyaslandığında da en yüksek NK hücre yüzdesi ve dolayısıyla sitotoksik aktivitenin sırasıyla C3 He ve B57BL/6J lerde, en az ise Balb-c ve Albino farelerde gözlemlendiği bildirilmektedir⁴⁷. Macneil ve Hoffman-Goetz'in¹⁵ ile bizim bulgularımız arasındaki farklılıkların nedeni de bu aktivite farkı ile açıklanabilir.

Bu durumda C3He farelerde egzersiz çalışması ile ilgili NKSA değişikliklerini belirlemek, diğer türlere oranla daha kolaydır. Araştırmacılar B57BL/6J türü farelerde beklenen yüksek NK yüzdelerini saptayamamaları ise çalışmalarda bir başka faktörü; egzersiz süresinin ve şiddetinin yeterli olup olmadığını akla getirmektedir. Egzersiz süresi ve şiddeti Macneil ve HoffmanGoetz'in ¹⁵ çalışmasına uygun olan 8 haftalık egzersiz grubumuzda (E8) NKSA artışlarının bulunmaması; Swiss/Albino farelerde 8 haftalık egzersiz eğitiminin yetersiz kalmış olmasıyla açıklanabilir.

Yaşa bağlı olarak baskılanan immün fonksiyonlara egzersiz eğitiminin etkilerini göstermek amacıyla da bazı araştırmalar yapılmış ve birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin Pahlavani ve ark. ³⁶ 1,6,12 ve 18 aylık sıçanlarda, 6 aylık yüzme egzersizi çalışması (günde 2x60 dakika, haftada 5 gün) sonrasında, aynı yaştaki kontrollere kıyasla vücut ağırlığının azaldığını, böbrek üstü bezi ağırlığının ise anlamlı bir şekilde arttığını göstermişlerdir. İmmün sistemin de izlendiği bu çalışmada : lenfosit proliferasyonunda ve IL-2 üretiminde yaşlanma ile ilgili azalmanın egzersiz ile önlenemediği, aksine arttığı, fakat sıçan yaşı ilerledikçe egzersizin inhibitör etkisinin de azaldığı saptanmıştır. Pahlavani ve arkadaşlarının çalışmasında kullanılan egzersiz türü ve şiddetinin, immün fonksiyonlardaki baskılanmada katkısı olabilir. Çünkü günde 120 dakikalık yüzme egzersizi sıçanlar için son derece stresli ve doğal olmayan bir aktivitedir ve böbrek üstü bezindeki artışlar kronik stresin varlığını göstermektedir. İmmün fonksiyonların baskılanmasında yaş-egzersiz ilişkisi nedeniyle gözlenen bu azalma, çalışmamızın en yaşlı grubunda(E12) kontrolüne(K12) oranla artış gösteren NKSA değerleri ile uyumludur.

Nasrullah ve Mazzeo²¹ 3,12 ve 22 aylık yaş gruplarındaki sıçanlarda, 15 haftalık egzersiz eğitiminin (% 75 maksimal koşu kapasitesinde günde 1 saat, haftada 5 gün) mitojenlere cevaben lenfositlerde gözlenen proliferasyon, IL-2 üretme kapasitesi ve NKSA değişikliklerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonunda önceki bulgulara ^{36,47,48,49} uygun şekilde, immün fonksiyonların yaşlanmaya bağlı olarak düştüğünü ve 15 haftalık endurans egzersizinin; genç ve orta yaştaki deneklerde dalak hücresi proliferasyonu ve IL-2 üretimi ile ifade edilen immün fonksiyonları baskılayıcı etki yaptığını, daha yaşlı hayvanlarda ise proliferasyonu ve IL-2 üretimini sırasıyla % 58 ve % 180 oranlarında artırarak olumlu etkilediğini, NKSA'deki yaşa bağlı düşüşü ise hiçbir grupta önleyemediğini göstermişlerdir .

Literatürde açlık stresine adaptasyonda saptanan kortikosteron artışının yaşlanma ile birlikte azaldığı, hatta kaybolduğu bildirilmektedir¹⁶¹. Buna göre egzersiz stresinin de benzer fizyolojik cevaplar oluşturması beklenebilir. Nasrullah ve Mazzeo'da ²¹ literatürdeki bu bulgulara dayanarak genç hayvanlarda egzersiz stresi esnasında yükselen katekolamin, glukokortikoid ve prostaglandin gibi immün sistemi düzenleyici hormonların kendi deneylerinde gözlenen immün baskılanmaya neden olabileceğini, yaşlı hayvanlardaki olumlu etkinin ise yaşa bağlı olabileceğini ileri sürmektedirler. Fakat deneyde yaşlı hayvanlarda gözlenen lenfosit proliferasyonu ve IL-2 üretimindeki olumlu etkiye karşın, NKSA'de paralel değişiklikler görülmemesi hem kendi içinde, hem de bizim ve Macneil ve Hoffmann-Goetz'nin ¹⁵ bulguları ile çelişkilidir.

İmmün sistem üzerine egzersiz eğitiminin etkilerini insanlarda inceleyen çalışmalarda birbiri ile daha tutarlı sonuçlar elde edilmiştir. Crist ve ark.¹³, haftada 3

gün 16 hafta süreyle yapılan egzersiz eğitimi sonrasındaki NKSA'nın, kontrollerine oranla % 33 daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Nieman ve ark.¹⁶ (% 60 kalp atım hızında), haftada 5 gün 30-40 dakikalık yürüme egzersizi yapan yaşlı bayanlarda NKSA'nın ve PHA ile oluşturulan lenfosit proliferasyonunun sedanter kontrollerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

İnsan ve deney hayvanlarındaki bu farklılıklar muhtemelen seçilen egzersiz modellerinden kaynaklanmaktadır. Çünkü elektrik şokları, doğal olmayan aktivite ve zorunlu katılım gibi egzersiz eğitim modelleri laboratuvar hayvanları için bir stres oluşturmakta ve stres mediatörleri olan glukokortikoidlerin salınımını da, arttırmaktadır¹⁶⁴. Bu nedenle çalışmamızda düzenli egzersiz eğitiminin ve yaşlanmanın farelerdeki glukokortikoid (kortikosteron) düzeylerine etkisi de araştırılmış ve farelerde plazma kortikosteron konsantrasyonlarının yaşa bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. En düşük kortikosteron düzeyi en genç grup olan K0 grubunda ölçülmüştür. Literatürde kortikosteron konsantrasyonlarının yaş ile birlikte arttığını da^{35,165}, azaldığını da³⁴ bildiren çalışmalar bulunmaktadır ve yaş ile birlikte gözlenen artış hipofiz-adrenal bez eksenindeki feedback inhibisyonun değişmesi ile açıklanmaktadır¹⁶⁵. Bizim deneklerimizdeki yaşa bağlı kortikosteron değişiklikleri Dellwo ve Bouchene¹⁶⁵ ve Delafuenta ve ark.³⁵ sonuçları ile uyumludur.

Egzersiz eğitiminin kortikosteron konsantrasyonlarına etkisi incelendiğinde ise, 4 ve 8 haftalık egzersizlerin hormon düzeylerini arttırdığı (sadece E4 grubundaki yükselme anlamlı), fakat 12 haftalık egzersiz grubunda Dela Fuente ve ark.³⁵ sonuçlarına benzer şekilde azaldığı saptandı. Dela Fuente ve ark. da 20 günlük yüzme egzersizi sonrası Balb-c farelerinde serum kortikosteron konsantrasyonlarını kontrollere oranla daha düşük

bulmuşlardır. Deneylerimizde 4 ve 8 haftalık egzersiz gruplarında plazma kortikosteronunun anlamlı olmamakla birlikte kontrollere oranla yükselmesi, günlük egzersiz çalışmalarındaki olası hemokonsantarsayon ve strese bağlanabilir. E12 grubunda gözlenen düşme ise egzersize ve/veya yaşlanmaya bağlı olarak egzersize cevaben salgılanan hormon miktarının azalması gibi nedenlere bağlanabilir.

Çalışmamızda plazma BH konsantrasyonlarının en yüksek K0 grubunda olduğu ve yaşlanma ile birlikte azaldığı görülmektedir . Egzersiz eğitiminin ise bütün grupların plazma BH konsantrasyonlarında artışlara neden olduğu fakat sadece E12 grubundaki artışın (K12 ya oranla) istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir ($P < 0,05$).

Deneylerimizde beklendiği gibi erken yaş grubunu oluşturan K0 farelerinde BH düzeylerinin en yüksek olduğu ve yaşlanma ile birlikte azaldığı gözlenmiştir. Bu literatürde yer alan önceki araştırmalar ile uyumludur ¹⁶⁶. BH günboyu düzensiz doruklar(pikler) yaparak salgılanmaktadır. Literatürde de bu dorukların arttığı ergenlik döneminde plazmadaki BH düzeylerinin de yükseldiği ³⁹ ifade edilmektedir. Literatürde puberte ve adolesan dönemde yapılan 3 aylık egzersiz eğitiminin BH konsantrasyonlarını artırdığını ¹⁶⁶, ayrıca antrene bireylerin sedanterlerden daha yüksek BH konsantrasyonlarına sahip oldukları ve egzersize cevabın da antrene bireylerde daha yüksek olduğunu bildiren yayınlar yer almaktadır ¹⁶⁷. Bu açıdan çalışmamızda egzersiz gruplarında gözlenen yüksek BH düzeylerini ve özellikle de E12 grubundaki BH ile NKSA arasındaki kuvvetli pozitif ilişkiyi yukarıdaki bu literatür sonuçları desteklemektedir.

BH immün sistemin gelişimi ve devamlılığı, özellikle de timus gelişimi için gereklidir. Bu hormon B lenfosit proliferasyonunu, T hücre sitotoksitesini ve NKSA'ni de arttırmaktadır¹⁶⁸. Çalışmamızda E12 grubundaki NKSA'nın kontrolüne oranla anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. E12 deneklerimizde NKSA ile BH değerleri arasındaki kuvvetli pozitif ilişki de hormonun immün sistemi uyarıcı etkisini desteklemektedir. Buna rağmen BH'nun immün sistemin düzenlenmesinde, özellikle de NKSA'nın düzenlenmesindeki rolü açık değildir. Örneğin rekombinant BH verilmesinin in vivo şartlarda plazma hormon düzeylerini yükselttiği, fakat NKSA, lenfosit proliferasyonu ve sitokin üretiminde yeterli cevap oluşturmadığı, infüzyondan 2 saat sonra da nötrofili yaptığı gösterilmiştir¹⁶⁹. Diğer yandan hormon yetmezliğinde NKSA'nın baskılandığı^{170,171} ve uzun süreli BH verilmesi ile aktivitenin yeniden düzeldiği bildirilmektedir¹⁷¹. BH'nun tek dozda ve uzun süreli verilmesinin immün aktivitede oluşturduğu bu çelişkili cevapların insülin benzeri büyüme faktörlerine (IGF-I) bağlı olduğu ileri sürülmektedir¹⁶⁸. Egzersiz eğitiminin uygulandığı şartlarda BH'nuna ilaveten büyüme faktörlerinin de incelenmesi çelişkili bulguların açıklanmasında aydınlatıcı olabilir.

Egzersiz gruplarının plazma çinko konsantrasyonlarında hafif azalmalar olmasına karşın ne yaşa bağlı nede egzersiz eğitimine bağlı anlamlı farklılıklar görülememiştir. Literatürde akut bir egzersiz sonrası hemokonsantrasyona bağlı olarak serum çinko düzeylerinde artış¹⁷², uzun süreli egzersizlerde de plazma çinko düzeylerinde azalma³⁰ bildirilmektedir. Fakat çalışmamızdaki egzersiz gruplarında bu kofaktör plazmada hafif azalmış olmasına rağmen, farklar önemsiz bulunmuştur. Ayrıca Zn ile NKSA arasında da herhangi bir ilişki saptanamamıştır.

SONUÇ

Mevcut çalışmanın sonuçları şu maddeler halinde özetlenebilir:

1- Swiss/Albino farelerin NKSA'nın yaşamın 4. haftasında başladığı, 8. haftada en yüksek değerine ulaştığı, 12. haftada düşmeye başladığı, 16. haftada da düşmeye devam ettiği gösterilmiştir.

2-Dört ve 8 haftalık egzersiz eğitiminin NKSA üzerinde etkisiz olduğu, fakat 12 haftalık egzersiz eğitiminin NKSA üzerinde anlamlı olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir.

3-Plazma kortikosteron konsantrasyonlarının 4 haftalık egzersiz sonrası arttığı , 8 ve 12 haftalık egzersizden anlamlı bir şekilde etkilenmediği, BH konsantrasyonlarının ise 4 ve 8 haftalık egzersizlerden etkilenmediği ancak NKSA da olduğu gibi 12 haftalık egzersiz sonrasında yükselme yönünde değiştiği gösterilmiştir. Plazma çinko düzeyleri hiçbir egzersiz periyodundan etkilenmemiştir.

Yapılan egzersiz eğitiminin; NKSA'nın yüksek düzeylerde bulunduğu büyüme döneminde etkisiz olduğu, fakat yaşın daha ileri ve NKSA'nın daha düşük olduğu 16 haftalık deneklerde bu aktiviteyi artırmada etkili olduğu saptanmıştır. Burada mekanizmalara açıklık getirilebilmesi için hipotalamus-hipofiz-adrenal bez ilişkisinin ve büyüme faktörlerinin de inceleneceği yeni çalışmalara gereksinim olduğu görülmektedir.

Ö Z E T

Bu çalışma büyüme dönemindeki farelere yaptırılan egzersiz eğitiminin NK hücre sitotoksik aktivitesine (NKSA) etkisi ve bu aktivite ile periferik kan kortikosteron, Büyüme Hormonu (BH) ve çinko düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemek üzere planlandı.

Bu amaçla denek olarak kullanılan 3 haftalık 56 adet Swiss/Albino fare kontrol ve egzersiz eğitim gruplarını oluşturacak şekilde rastgele ayrıldılar. Yedi farklı grup şu şekilde düzenlendi: 1)Başlangıç kontrol(K0), 2)4 haftalık kontrol (K4), 3)4 haftalık egzersiz (E4), 4)8 haftalık kontrol (K8), 5)8 haftalık egzersiz (E8), 6)12 haftalık kontrol (K12), 7)12 haftalık egzersiz(E12), Orta şiddetteki egzersiz eğitimi yaptırmak amacıyla fareler treadmillde haftada 5 gün, 15 m/dk sabit hızda, günde 30 dakika koşturuldular. Çalışma programını takiben, dekapite edilen farelerin dalaklarından elde edilen lenfositlerde doğal antikandiyal endeks yöntemiyle 5:1, 1:1, 0,5:1 Etkin:Hedef (E:H) oranlarında NKSA ölçüldü. Plazma kortikosteron ve BH konsantrasyonları RIA yöntemi ile araştırıldı.

Ölçümlerin sonuçlarına göre farelerin NKSA'nin 4. haftadan itibaren artmaya başladığı, 8. haftada en yüksek düzeyine ulaştığı ve 12. haftadan sonra azalmaya başladığı. ve 16. haftada da düşmeye devam ettiği görüldü. 8 ve 12 haftalık egzersiz gruplarının NKSA'nin birbirine benzer olduğu, 16 haftalık grubun NKSA'nin ise (E12) kontrol grubundan(K12) tüm E:H oranlarında sırasıyla % 18, %17 ve %14 daha yüksek seyrettiği fakat yalnızca 5:1 ve 1:1 E:H hücre oranlarındaki değişimin

anlamlı ($P < 0,05$) olduğu gözlemlendi. Diğer egzersiz gruplarındaki değişiklikler ise anlamlı bulunmadı ($P > 0,05$).

Periferik kan plazma kortikosteronunun da yaşla birlikte artmaya başladığı ve bu artışın 4 ve 8. haftalarda %19, 16. haftada ise % 49 oranlarında olduğu gözlemlendi bu farklar anlamlı bulundu ($P < 0,05$). Egzersiz eğitimi ise plazma kortikosteron düzeylerinde 4 haftalık egzersiz grubu dışında anlamlı bir değişiklik yapmadı.

Plazma BH konsantrasyonlarında kontrol gruplarındaki 4 hafta/yaş (K0) farelere kıyasla yaşa bağımlı bir düşme gözlemlendi. Farklar; K4 de %28, K8 de %42, K12 da %47 oranlarındaydı. Egzersiz eğitiminin kontrollerine oranla BH nu artırıcı etkisi olduğu (fakat yalnızca E12 deki yükselme (%69) anlamlı) bulundu ($P < 0,05$).

Plazma çinko konsantrasyonlarında yaşın veya egzersiz eğitiminin önemli bir değişiklik yapmadığı saptandı.

Sonuç olarak 4 ve 8 haftalık egzersiz eğitimi NKSA ni ve BH düzeylerini etkilemezken 12 haftalık egzersiz eğitiminin her iki parametreyi de anlamlı derecede artırdığı söylenebilir.

S U M M A R Y

The effect of exercise on natural killer cell cytotoxic activity in growing mice.

The purpose of this study was to examine the effect of moderate exercise training on natural killer cell cytotoxic activity(NKCA), and peripheral blood concentrations of corticosterone, Growth Hormone(GH) and zinc in growing mice.

Three week-old male Swiss/Albino mice were randomly assigned to either control or exercise training groups. Seven different experimental groups were as follows: 1-initial control group(C0); 2-4 week control group (C4); 3- 4 week exercise group (E4); 4- 8 week control group(C8); 5-8 week exercise group (E8); 6- 12 week control group (C12); 7- 12 week exercise group (E12). Moderate exercise training regimen was a run on a motorized treadmill at 15 m.min⁻¹, 0 % slope, for 30 min. d⁻¹, 5 day a week. Following the training program splenic NKCA of mice was assayed by the Natural Anticandidial Index Methhod at three Effector:Target (E:T) ratios, respectively 5:1, 1:1, 0.5:1. Peripheral blood concentrations of corticosterone and growth hormone were measured by RIA methods.

The results revealed that NKCA in mice begins to increase at the 4th week of life, reaches to a peak level at the 8 th week , and begins to decline after the 12 th week, and remains at lower levels after 16 th week of life span. Splenic NKCA was elevated only in the 12 week ewercise group (E12) campared to sedentary controls (C12)(P < 0.05). The other exercise training groups did not show any significant changes for splenic NKCA (P>0.05).

Peripheral blood concentrations of corticosterone begins to increase with advancing age compared to 4 week old mice: The differences were 19 % for 8 and 12 week of age; 49 % for 16 week of age. These differences were found to be statistically significant ($P < 0,05$). Exercise training showed significant ($P < 0,05$) changes on plasma corticosterone levels in the 4-week exercise group but did not change significantly any other of the exercise groups.

An age related decline was observed in peripheral blood concentrations of growth hormone in the control groups compared to 4 week-old mice (C0). The differences were 28 % for C4, 42 % for C8, 47 % for C12. In the exercise training group, only 12 week exercise group(E12) showed significant changes in growth hormone levels ($P < 0,05$).

Neither aging nor exercise training did effect plasma zinc concentrations.

As a conclusion, exercise training for 4 and 8 weeks did not affect NKCA and GH levels, but 12 week of exercise training improved both of them.

KAYNAKLAR

- 1-HOLLOSZY, J.O.: Exercise, health, and aging: a need for more information, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 15(1), 1-5, (1983).
- 2-NORTH, T.C., McCULLAGH, P., TRAN, Z.V.: Effect of exercise on depression, *Exerc. Sport Sci. Rew.*, 17, 379-415, (1989).
- 3-ACSM's : Guidelines for Exercise Testing and Prescription, Fifth Edition, Williams and Wilkins, Media, PA, USA, (1995).
- 4-CANNON, J.G.:Exercise and resistance to infection, *J.Appl. Physiol.*, 74(3), 973-981, (1983); OPPENHEIMER, E.H., and SPAETH, R.A.: The between fatigue and the susceptibilty of rats towards a toxin and an infection, *Am, J. Hyg.*, 2, 5756, (1922).
- 5-CANNON, J.G.:Exercise and resistance to infection, *J.Appl. Physiol.*, 74(3), 973-981, (1983); SPAETH, R.A.: An experimental investigation of the supposed relation between good physical condition and resistance to infection, *Am.J.Hyg.*, 5, 839-853, (1925).
- 6-FITZGERALD, L.: Overtraining increases tha susceptibilty to infection, *Int. J. Sports Med.*, 12(51), 55-58, (1991).
- 7-CANNON, J.G.:Exercise and resistance to infection, *J.Appl. Physiol.*, 74(3), 973-981, (1983);SIMON, H.B.: Exercise and human immune fonction, In:Psychoneuroimmunology, edited by R. Aden, D.L. Felten, and N.Cohen, New York: Academic, 1991, p. 869-895.
- 8-NIEMAN, D.C.:Exercise, infection, and immunity, *Int.J.Sports Med.*, 15, S131-S141, (1994).

- 9-CANNON, J.G.:Exercise and resistance to infection, *J.Appl. Physiol.*, 74(3), 973-981, (1983)
- 10-SMITH,J.A. AND WEIDEMANN, M.J.:The exercise and immunity paradox: a neuroendocrine cytokine hypothesis, *Med. Sci. Res.*, 18, 749-753, (1990).
- 11-NEWSHOLME, E.A.:Biochemical mechanisms to explain immunosuppression in well-trained and overtrained athletes, *Int.J.Sports Med.*, 15, S142-S147, (1994).
- 12-SHEPHARD, R.J., RHIND, S., SHEK, P.N.:Exercise and training: Influences on cytotoxicity interleukin-1, interleukin-2 and receptor structures, *Int. J. Sport Med.*, 15, S154-S156, (1994).
- 13-CRIST, D.M., MACKINNON, L.T., THOMPSON, R.F., ATTERBOM, H.A., AND EGAN, P.A.:Physical exercise increases natural cellular mediated tumor cytotoxicity in elderly women, *Gerontology*, 35, 66-71, (1989).
- 14-KUSAKA, Y., KONDOU, H., AND MORIMOTO, K.:Healthy lifestyles are associated with higher natural killer cell activity, *Prev. Med.*, 21, 602-615, (1992).
- 15-MACNEIL, B., AND HOFFMAN-GOETZ, L.:Chronic exercise enhances invivo and invitro cytotoxic mechanisms of natural immunity in mice, *J.Appl. Physiol.*, 74, 388-395, (1993).
- 16-NIEMAN, D.C., HENSON, D.A., GUSEWITCH, G., et al.:Physical activity and immune function in elderly women, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 25, 823-831, (1993).
- 17-NIEMAN,D.C., NEHLSSEN-CANNARELLA, S.L., MARKOFF, P.A., et al.: The effects of moderate exercise training on natural killer cels and acute upper respiratory tract infections. *Int. J. Sport Med.*, 11, 467-473, (1990).
- 18-PEDERSEN, B.K., TVEDE, N., CHRISTENSEN, L.D., KLARLUND, K., KRAGBAK, S., AND KRISTENSEN, J.H.:Natural killer cell activity in

- peripheral blood of highly trained and untrained persons, *Int. J. Sport Med.*, 10, 129-131, (1989).
- 19-SIMPSON, J.R., AND HOFFMAN-GOETZ, L.: Exercise stress and murine natural killer cell function, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 195, 129-135, (1990).
- 20-TVEDE, N., STEENBERG, J., BASLUND, B., KRISTENSEN, J.H., AND PEDERSEN, B.K.: Cellular immunity in highly trained elite racing cyclists and controls during periods of training with high and low intensity, *Scand. J. Sports Med.*, 1: 163-166, (1991).
- 21-NASRULLAH, I., AND MAZZEO, R.S.: Age-related immunescence in Fischer 344 rats: influence of exercise training, *J. Appl. Physiol.*, 73, 1932-1938, (1992).
- 22-NIEMAN, D.C., COOK, V.D., HENSON, D.A., et al.: Moderate exercise training and natural killer cell cytotoxic activity in breast cancer patients, *Int. J. Sport Med.*, 16, 334-337, (1995).
- 23-NIEMAN, D.C., HENSON, D.A., SIMPSON, C., et al.: Natural killer cell cytotoxic activity in weight lifters and sedentary controls, *J. Strength Cond. Res.*, 8, 251-254, (1994).
- 24-NIEMAN, D.C., MILLER, A.R., HENSON, D.A., et al.: The effect of high-versus moderate-intensity exercise on natural killer cell activity, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 25, 1126-1134, (1993).
- 25-NIEMAN, D.C., NEHLSEN-CANNARELLA, S.L., DONOHUE, K.M., et al.: The effects of acute moderate exercise on leukocyte and lymphocyte subpopulations, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 23, 578-585, (1991).

- 26-PEDERSEN, B.K., TVEDE, N., KLARLUND, K., et al.: Indomethacin invitro and invivo abolishes post exercise supression of natural killer cell cytotoxic activity in peripheral blood, *Int. J. Sport Med.*, 111, 127-131, (1990).
- 27-PEDERSEN, B.K., ULLUM, H.: NK cell response to physical activity: possible mechanisms of action. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 26, 140-146, (1994).
- 28-PEDERSEN, B.K.:Influence of physical activity on the cellular immune system: mechanism of action, *Int. J. Sport Med.*, 12, S23-S29, (1991).
- 29-ÖZTÜRK, G., ERBAŞ, D., İMİR, T., BOR, N.M.:Decreased natural killer(NK) cell activity in zinc deficient rats, *Gen. Pharmac.*, 25, 1499-1503, (1994).
- 30-CANNON,J.G., KLUGER, M.J.: Endogenous pyrogen activity in human plasma after exercise, *Science*, 220, 617-619, (1983).
- 31-KRISHARAJ, R., AND LANDFORD, G.: Age-associated alterations in human natural killer cells: 1. Increased activity as per conventional and kinetic analysis, *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 45, 268-285, (1987).
- 32-MAZZEO, R.S.: The influence of exercise and aging on immune function, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 26, 586-592, (1994).
- 33-FIATARONE, M.A., MORLEY, J.E., BLOOM, E.T., BENTON, D., SOLOMON, G.F., AND MAKINODON, T.: The effect of exercise on natural killer cell activity in young and old subjects, *J. Gerontol.*, 44, 37-45, (1989).
- 34-SHEPHARD, R.J., SHEK, P.N.:Exercise, aging and immune function, *Int. J. Sport Med.*, 16, 1-6,(1985).
- 35-DELAFUENTE, M., FERRANDEZ, M.D., MIQUEL, J., AND HERNANZ, A.:Changes with aging and physical exercise in ascorbic acid content and

- proliferative response of murine lymphocytes, *Mech. Ageing Dev.*, 65, 177-186, (1992).
- 36-PAHLAVANI, M.A., CHEUNG, T.H., CHESKY, C.A., AND RICHARDSON, A.: Influence of exercise on the immune function of rats of various ages, *J. Appl. Physiol.*, 64, 1997-2001, (1988).
- 37-GUYTON, A.C.: *Textbook of Medical Physiology*, Eighth edition, W.B. Saunders Company, USA, (1991).
- 38-SMITH, J.A.: Guidelines, standards, and perspectives in exercise immunology, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 27, 497-506, (1995).
- 39-GANONG, W.F.: *Review of Medical Physiology*, 16th Edition, Appleton and Lange, (1993).
- 40-BLALOCK, J.E.: A molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems, *Physiological Rev.*, 69, 1-33, (1989).
- 41-HERBERMAN, R.B.: Natural killer cells, *Ann. Rev. Med.*, 34, 347-352, (1986).
- 42-ROBERTSON, M.J., RITZ, J.: Biology and clinical relevance of human natural killer cells, *Blood*, 76, 2421-2438, (1990).
- 43-HACKETT, J., KUMAR, V., BENNETT, M.: Origin and differentiation of NK cells: I. Characteristics of a transplantable NK cell precursor, *J. Immunol.*, 134, 3731-37, (1985).
- 44-PERUSSIA, B., STARS, S., ABRAHAM, S., FANNING, V., TRINCHIERI, G.: Human natural killer cells analyzed by B73-1 a monoclonal antibody blocking Fc receptor function, *J. Immunol.*, 130, 2153-41, (1983).
- 45-TRINCHIERI, G.: Biology of natural killer cells, *Adv. Immunol.*, 47, 187-90, (198).

- 46-HERBERMAN, R.B., ORTALDO, J.R.: Natural killer cells: Their role in defence against disease, *Science*, 214, 24-27, (1981).
- 47-ITOH, K., SUZUKI, R., UMEZU, Y., HANAUMI, K., AND KUMAGI, K.: Studies of murine large granular lymphocytes: II. Tissue strain , and age distributions of LGL and LAL, *J. Immunol.*, 129, 395-400, (1982).
- 48-BRUNDA, M.J., HERBERMAN, R.B., HOLDEN, H.T: Inhibition of murine natural killer cell activity by prostaglandins, *J. Immunol.*, 124, 2682-2687, (1980).
- 49-HERBERMAN, R.B., NUNN, M., LAURIN, D.H.: Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity, *Int. J. Cancer*, 16, 216-229, (1975).
- 50-JOAG, S., ZYCHLINSKY, A., YOUNG, J.D.: Mechanisms of lymphocyte mediated lysis, *J. Cell. Biochem.*, 39, 239-41, (1989).
- 51-SCHMIDT, R.E., KOMADO, M.M., RITZ, J.: T11/CD2 activation of cloned human NK cells results in increased conjugate formation and exocytosis of cytolytic granules. *J. Immunol.*, 140, 991-6, (1988).
- 52-YOUNG, J.D., COHN, Z.A.: Cellular and humoral mechanisms of cytotoxicity, *Adv. Immunol.*, 41, 269-75, (1987).
- 53-BONAVIDA, B: Molecular mechanisms of natural killer cell mediated cytotoxicity, *Adv. Exp. Med. Biol.* 213, 299-307, (1987).
- 54-BONAVIDA, B., WRIGHT, S.C.: Multistage model of natural killer cell mediated cytotoxicity involving NKCF as soluble cytotoxic mediators, *Adv. Cancer Res.*, 49, 167-187, (1987).
- 55-ISAACS, A., LINDENMEN, J.: Virus interference , *Proc. R. Soc. Land. B.*, 147, 258-60, (1957).

- 56-ELLIS, T.M., FISHER, R.I.: Induction of human lymphokine activated killer cells by IFN- α and IFN- γ , *J. Immunol.*, 143, 4282-6, (1989).
- 57-GERSUK, G.M., CHANG, W.C., PATTENGAULE, P.K.: Inhibition of human NK cell activity by platelet derived growth factor, *J. Immunol.*, 141, 4031-37, (1988).
- 58-SONE, S., UTSUGI, T., NILL, A.: Differential effects of recombinant interferons α , β , γ on induction of human lymphokine (IL-2) activated killer activity, *J. Natl. Cancer Inst.*, 80, 425-430, (1988).
- 59-HERBERMAN, R.B.: Activations of NK-cells and mechanism of their cytotoxic effect, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 213, 275-283, (1987).
- 60-KEHRI, J.H., DUKOVICH, M., GREENE, W.V.: IL-2 appears to mediate IL-2 induced activation of NK cells, *J. Clin. Invest.*, 81, 200-7, (1988).
- 61-LANIER, L.L., PHILLIPS, J.H., ENGLEMAN, G.G.: Recombinant IL-2 enhanced NK cell mediated cytotoxicity in human lymphocyte subpopulations expressing the Leu-7 and Leu-11 antigens, *J. Immunol.*, 134, 294-800, (1985).
- 62-SIEGEL, J.P., SHARON, M., SMITH, P.L.: The IL-2 receptor β chain, *Science*, 238, 75-78, (1987).
- 63-TRINCHIERI, G., CLARK, S.C., LONDON, L., PERUSSIA, B.: Response of resting human peripheral blood natural killer cells to IL-2, *J. Exp. Med.*, 160, 1147-53, (1984).
- 64-KORNBLUTH, J., HOOVER, R.G.: Changes in gene expression associated with IFN- β and IL-2 induced augmentation of human NK cell function, *J. Immunol.*, 141, 3234-9, (1988).

- 65-İMİR, T., SIBBITT, W.L., BANKHURST, A.D.: The reactive resistance of lymphokine activated killer cells to suppression by prostaglandins and glucocorticoids, *Prostaglandins Leukotriens and Medicine*, 28, 111-118, (1987).
- 66-SIBBITT, W.L., İMİR, T., BANKHURST, A.D.: Reversible inhibition of LAK cell activity by lipoxygenase pathway inhibitors, *Int. J. Cancer*, 38, 517-518, (1986).
- 67-TIMONEN, T., SAKSELA, E.: Isolation of human NK cells by density gradient centrifugation, *J. Immunol. Methods*, 36, 285-290, (1980).
- 68-GARCIA, A., PENARUBBIO, P., KOSTER, F.T., KELLEY, R.O.: Antibacterial activity of human Nk cells. *J. Exp. Med.*, 169, 99-103, (1989).
- 69-HIDORE, M.R., MURPHY, J.W.: Murine NK cell interactions with a fungal target, *Cryptococcus neoformans*, *Infect. Immun.*, 57, 1990-94, (1989).
- 70-HAUSER, W.E., TSAI, V.: Acute toxoplasma infection of mice induces spleen cells that are cytotoxic for *T. gondii* invitro, *J. Immunol.*, 136, 313-315, (1986).
- 71-HATCHER, F.M., KUHN, R.E.: Destruction of *trypanosoma cruzi* by NK cells, *Science*, 218, 295-297, (1982).
- 72-WARNER, J.F., DENNERT, G.: Effects of a cloned cell line with NK activity on bone marrow transplants, tumor development and metastasis in vivo, *Nature*, 300, 31-35, (1982).
- 73-BENNETT, M.: Biology and genetics of hybrid resistance, *Adv. Immunol.*, 41, 333-36, (1987).
- 74-COOK, J.A., MITCHELL, J.B.: Viability measurements in mammalian cell system, *Anal. Biochem.*, 179, 1-7, (1989).

- 75-İMİR, T., GIBBS, D.L., SIBBITT, W.L., BANKHURST, A.D.: Generation of natural killer cells and lymphokine activated killer cells in human AB serum on fetal bovine serum, *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 36, 389-296, (1985).
- 76-KOLBER, M.A., QUINONES, R.R., GRESS, R.E., HENKORT, P.A.: Measurement of cytotoxicity by target cell release and relation of the fluorescent dye biscalboxyethyl-carboxyfluorescein (BCECF), *J. Immunol. Methods*, 108, 255-264, (1988).
- 77-VOLGMANN, T., KLEIN-STRUCKMEIR, A., MOHR, H.: A fluorescence-based assay for quantitation of LAK cell activity, *J. Immunol. Methods*, 119, 45-51, (1989).
- 78-WIERDA, W.G., MEHR, D.S., KIM, Y.D.: Comparison of fluorochromelabeled and ^{51}Cr -labeled targets for NK cytotoxicity assay, *J. Immunol. Methods*, 122, 15-24, (1989).
- 79-MCMANUS, N.H.: Microtiter assay for interferon: Microspectrometric quantitation of cytopathic effect, *Appl. Envir. Microbiol.*, 31(1), 35-38, (1976).
- 80-PELLETIER, B., RHAINAUT, F., PAULY, A., ZAHND, J.P.: Evaluation of growth rate in adhering cell cultures using a simple colorimetric method, *J. Biochem. Biophys. Methods*, 16(1), 63-73, (1988).
- 81-CARMICHAEL, J., DEGRAFT, W.G., GAZDAR, A.F., MINNA, J.D., MITCHELL, J.B.: Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay: Assessment of Radiosensitivity, *Cancer Res.*, 47, 943-946, (1987).

- 82-GREEN, L.M., READE, J.L., WARE, C.F.:Rapid colorimetric assay for cell viability : Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines, *J. Immunol. Methods*, 70, 257-268, (1984).
- 83-MIRSHAHIDI, S.: Fare lenfosit doğal sitotoksitesinin kolorimetrik yöntem ile ölçülmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, (1992).
- 84-NIEMAN, D.C., JOHANSEN, L.M., LEE, J.W., ARABATZIS, K.: Infectious episodes in runners before and after the Los Angeles Marathone, *J. Sports Med. Phys. Fitness*, 30, 316-328, (1990).
- 85-OSTERBACK, L., AND QVARNBERG, Y.: A prospective study of respiratory infections in 12-year-old children activeley engaged in Sports, *Acta Pediatr. Scand.*, 76, 944-949, (1987).
- 86-SCHAUTEN, W.J., VERSCHUUR, R., AND KEMPER, H.C.G.: Physical activity and upper respiratory tract infections in a normal population of young men and women: The Amsterdam Growth and Health Study, *Int. J. Sporst Med.*, 9, 451-455, (1988).
- 87-COHEN, S., TYRELL, D.A.J., SMITH, A.P.:Pscological stress and susceptibility to the common cold. *N. Eng. J. Med.*, 325, 606-612, (1991).
- 88-WEINNSTEIN, L.:Poliomyelitis: a persistent problem, *N. Engl. J. Med.*, 288, 370-372, (1972).
- 89-MORSE, L.J., BRYEN, J.A., MURIE, J.P.: Infectious hepatitis, an outbreak in college footballer, *Am. J. Med. Assoc.*, 219, 706-708, (1972).

- 90-BARON, R.C., HATCH, M.H., MLEEMAN, K. AND MACCORMECK, J.N.:
Aseptic meningites among members of a high school football team, J. Am. Assoc.,
248, 1724-1727, (1982).
- 91-BELLANTI, J.A., AND ASGEIRSON, G.: Exercise immunology and infection,
Semin Adolesc. Med. 3, 199-204, (1987).
- 92-NIEMAN, D.C. : Exercise. upper respiratory tract infection, and the immune
system, Med. Sci. Sports Exerc., 26(2), 128-139, (1994).
- 93-HAQ, A., AL-HUSSEIN, K., LEE, J., AL-SEDAIRY, S.: Changes in peripheral
blood lymphocyte subsets associated with marathon running, Med. Sci. Sports
Exerc., 25, 186-190, (1993).
- 94-NIEMAN, D.C., BERK, L.S., SIMPSON-WESTERBERG, M., et al.: Effect of
long endurance running on immune system parameters and lymphocyte function in
experienced marathoners, Int. J. Sport Med., 10, 317-328, (1989).
- 95-SHINKAI, S., KUROKAWA, Y., HINO, S., et al.: Triathlon competition induced a
transient immunosuppressive change in the peripheral blood of athletes, J. Sports
Med. Phs. Fitness, 33, 70-78, (1993).
- 96-FIELD, C.J., GAUGEON, R., MARLISS, E.B.: Circulating mononuclear cell
numbers and function during intense exercise and recovery, J.Appl. Physiol., 71,
1089-1097, (1991).
- 97-GABRIEL, H., SCHWARZ, L., BORN, P., KINDERMANN, W.: Differential
mobilization of leukocyte and lymphocyte subpopulations into the circulation
during endurance exercise, Eur. J.Appl. Physiol., 65, 529-534, (1992).

- 98-SHINKAI, S., SHORE, S., SHEK, P.N. AND SHEPHARD, R.J.: Acute exercise and lymphocyte activity and changes in subset counts, *Int. J. Sport Med.*, 13(6), 452-462, (1992).
- 99-NIEMAN, D.C., MILLER, A.R., HENSON, D.A., et al.: Effect of high versus moderate exercise on lymphocyte subpopulations and proliferative response, *Int. J. Sport Med.*, 15(4), 199-206, (1994).
- 100-GRAY, A.B., TELFORD, R.D., COLLINS, M. AND WEIDEMANN, M.J.: The response of leukocyte subsets and plasma hormones to interval exercise, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 25(11), 1252-1258, (1993).
- 101-TVEDE, N., KAPPEL, M., HALKJAER-KRISTENSEN, J. : The effect of light, moderate and severe bicycle exercise on lymphocyte subsets, natural and lymphokine activated killer cells, lymphocyte proliferative response and interleukin 2 production, *Int. J. Sport Med.*, 14, 275-282, (1993).
- 102-BERK, L.S., NIEMAN, D.C. , YOUNGBERG, W.S., et al.: The effect of long endurance running on natural killer cells in marathoners. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 22, 207-212, (1990).
- 103-BRAHMI, Z., THOMAS, J.E., PARK, M., DOWDESWELL, I.A.G.: The effect of acute exercise on natural killer cell activity of trained and sedentary human subjects, *J. Clin. Immunol.*, 5, 321-328, (1985).
- 104-KENDALL, A., HOFFMAN-GOETZ, L., HOUSTON, M., MACNEIL, B., ARUMUGAM, Y.: Exercise and blood lymphocyte subset responses: intensity, duration, and subject fitness effects, *J. Appl. Physiol.*, 69, 251-260, (1990).

- 105-GABRIEL, H., URHAUSEN, A., KINDERMANN, W.: Circulating leukocyte, lymphocyte subpopulations before and after intensive endurance exercise to exhaustion, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 63, 499-457, (1991).
- 106-COUPS, T.R., FAUCL, A.S.:Corticosteroid - mediated immunoregulation in man, *Immunol. Rev.*, 65, 133-135, (1982).
- 107-FRY, R.W., MORTON, A.R., CRAWFORD, G.P.M., KEAST, D.:Cell numbers and invitro responses of leukocyte in lymphocyte subpopulations following maximal exercise and interval training sessions of different intensities, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 64, 218-227, (1992).
- 108-FRY, R.W., MORTON, A.R., KEAST, D.: Acute intensive interval trainin and T-lymphocyte function, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 24, 339-345, (1992).
- 109-GMUNDER, F.K., LORENZI, G., BECHLER, B., et al.: Effect of long -term physical exercise on lymphocyte reactivity : Similarity to spaceflight reactions, *Aviation Space Environ. Med.*, 59, 146-151, (1988).
- 110-KAPPEL, M.,TVEDE, N.,KLARLUND, K., et al.: Evidence that the effect of bicyclic exercise on blood mononuclear cell proliferative responses and subsets is mediated by epinephrine, *Int. J. Sport Med.*,15(2), 100-104, (1994).
- 111-KAPPEL, M.,TVEDE, N., GALBO, H.,et al.: Evidence that the effect of physical exercise on NK cell activity is mediated by epinephrine, *J. Appl. Physiol.*, 70(6), 2530-2534, (1991).
- 112-TVEDE, N., HEILMANN, C., HALKJAER-KRISTENSEN, J., PEDERSEN, B.K.: Mechanism of B-lymphocyte supression induced by acute physical exercise, *J. Clin. Lab. Immunol.*, 30, 169-173, (1989).

- 113-MACKINNON, L.T., CHICK, T.W., VANAS, A., TOMASI, T.B.:The effect of exercise on secretory and natural immunity , *Adv. Exp. Med. Biol.*, 216A, 869-876, (1987).
- 114-RODRIGUEZ, A.B., BARRIGA, C., DELAFUENTA, M.: Phagocytic function of blood neutrophils in sedentary young people after physical exercise, *Int. J. Sport Med.*, 12, 276-280, (1991).
- 115-SMITH, J.A., TELFORD, R.D., MASON, I.B., WEIDEMANN, M.J. : Exercise, training and neutrophil microbicidal activity, *Int. J. Sport Med.*, 11, 179-187, (1990).
- 116-MUNS,G.:Effect of long distance running on polymorphonuclear neutrophil phagocytic function of the upper airway, *Int. J. Sport Med.*, 15, 96-99, (1993).
- 117-WONG, C.W., SMITH, S.E., THONG, Y.H., OPDEBEECK, J.P., THORNTON, J.R.:Effects of exercise stress on various immune functions in horses, *Am. J. Vet. Res.*, 53, 1414-1417, (1987).
- 118-DINARILLO, C.A., MIER, J.W.: Lymphokines, *N. Engl. J. Med.*, 317, 940-945, (1987).
- 119-NORTHOFF, H., WEINSTOCK, C., BERG, A.:The cytokine response to strenuous exercise, *Int. J. Sport Med.*, 15, 167-171, (1994).
- 120-LEWICKI, R., TCHORZEWSKI, H., MAJEVSKA, E., NOWAK, Z., BAJ, Z.:Effect of maximal physical exercise on T-lymphocyte subpopulations and on interleukin 1(IL-1) and interleukin 2(IL-2) production in vitro, *Int. J. Sport Med.*, 9, 114-117, (1988).

- 121-HAAHR, P.M., PEDERSEN, B.K., FOMSGAARD, A., et al.:Effect of physical exercise on the production of IL-1, IL-6, TNF, IL-2 and, IFN- γ , Int. J. Sport Med., 12, 223-227, (1991).
- 122-HOFFMAN-GOETZ, L., AND PEDERSEN, B.K.:Exercise and the immune system: a model of the stress response ?, Immunology Today, 15(8), 382-387, (1994).
- 123-NIEMAN, D.C., NEHLSSEN-CANNARELLA, S.L.: The effects of acute and chronic exercise on immunoglobulins, Sports Med., 11, 183-201, (1991).
- 124-JAKEMAN, P.M., WINTER, E.M., AND DOUST, J.: A review of research in sports physiology, Journal of Sports Sciences, 12, 33-60, (1994).
- 125-LEWICKI, R., TCHOZEWSKI, H., DENYS, A., KOWALSKA, M., GOLINSKA, A.: Effect of physical exercise on some parameters of immunity in conditioned Sportsmen, Int. J. Sport Med., 8, 309-314, (1987).
- 126-MACNEIL, B., HOFFMAN-GOETZ, L., KENDALL, A., HOUSTON, A.M., ARUMUGAM, Y.:Lymphocyte proliferation responses after exercise in men: fitness, intensity, and duration effects, J.Appl. Physiol., 70,179-185, (1991).
- 127-NIEMAN, D.C. , TAN, S.A., LEE, J.W., BERK, L.S.: Complement and immunoglobulin levels in athletes and sedentary controls, Int. J. Sport Med., 10, 124-128, (1989).
- 128-LAPERRIERE, A., ANTONI, M.H., IRONSON, G., et al.: Effects of aerobic exercise training on lymphocyte subpopulations, Int. J. Sport Med., 15, S127-S130, (1994).

- 129-NEHLSSEN-CANNARELLA, S.L., NIEMAN, D.C., BALKLAMBERTON, A.J.:
The effects of moderate exercise training on immune response, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 23(1), 64-70, (1991).
- 130-NIEMAN, D.C. , BRENDLE, D., HENSON, D.A., et al.: Immune function in athletes versus nonathletes, *Int. J. Sport Med.*, 16(5), 329-33, (1995).
- 131-WHITTINGHAM, D.G. AND WOODS, M.J.: *Reproductive Physiology ' The Mouse In Biomedical Research'* (Foster H.L., Small J.D. Fox J.G., ed.) Volume III, 137-64, Academic Press, Inc. New York(1983).
- 132-BLANK, S.E., JOHANSSON, J.O., PFISTER, L.J., GALLUCCI, R.M., LEE, E.G., AND MEADOWS, G.G.: Mechanistic differences in NK cell cytolytic activity in treadmill-trained and chronic ethanol-consuming mice, *J.Appl. Physiol.*, 76(5), 2031-1036, (1994).
- 133-BLANK, S.E., JOHANSSON, J.O., ORIGINES VI, M.M., AND MEADOWS, G.G.: Modulation of NK cell activity by moderate intensity endurance training and chronic ethanol consumption, *J.Appl. Physiol.*, 72(1), 8-14, (1992).
- 134-NIEMAN, D.C. , BUCKLEY, K.S., HENSON, D.A., et al.: Immune function in marathone runners versus sedentary controls, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 27(7), 986-992, (1995).
- 135-CRARY, B., BORYSENKO, M., SUTHERLAND, D.C., et al.: Decreases in mitojen responsiveness of mononuclear cells from penipheral blood after epinephrine administration in humans. *The J. Immunology*, 130(2), 694-697, (1983).

- 136-MASEL, A.S., HARRIS, T., REARDEN, C.A., AND MICHEL, M.C.: β -adrenergic receptors in lymphocyte subsets after exercise, *Circulation*, 82, 2003-2010, (1990).
- 137-MURRAY, D.N., IRWIN, M., REARDEN, C.A., et al.: Sympathetic and immune interactions during dynamic exercise. Mediation via a β -2 adrenergic-dependent mechanism, *Circulation*, 86, 203-213, (1992).
- 138-WEICKER, H., WERLE, E.: Interaction between hormones and the immune system, *Int. J. Sports Med.*, 12(Suppl 1), S30-S37, (1991).
- 139-VAN TITS, L.J.H., MICHEL, M.C., GROSSE-WILDE, H., et al.: Catecholamines increases lymphocyte β 2 adrenergic receptors via a β 2-adrenergic spleen dependent process, *Am. J. Physiol.*, 258, E191-E202, (1990).
- 140-HOFFMAN-GOETZ, L., KEIR, R., THORNE, R., HOUSTON, M.E., AND YOUNG, C.: Chronic exercise stress in mice depress splenic T lymphocyte mitogenesis in vitro, *Clin. Exp. Immunol.*, 66, 551-557, (1986).
- 141-KAPPEL, M., TVEDE, N., GALBO, H., et al.: Evidence that the effect of physical exercise on Nk cell activity is mediated by epinephrine, *J. Appl. Physiol.*, 70(6), 2530-2534, (1991).
- 142-BOONE, J.M., SHERADEN, T., PIERCHALA, K., et al.: Plasma met-enkephalin and catecholamine responses to intense exercise in humans, *J. Appl. Physiol.*, 73(1), 388-392, (1992).
- 143-BUTTLES, J., BRIEN, O., AND PIDGENON, F.: Relationship of β -adrenoreceptor density to fitness in athletes, *Nature*, 298, 60-62, (1982).

- 144-KIESS, W., BUTENANDT, O.: Specific growth hormone receptors on human peripheral mononuclear cells, *J. Clin. Endocrinol. and Metab.*, 60, 740-746, (1985).
- 145-LESNIAK, M.A., GORDON, P., ROTH, J., GAVIN, J.R.: Binding of 125 I-human growth hormone to specific receptors in human cultured lymphocytes, *J. Biol. Chem.*, 249, 1661-1667, (1974).
- 146-SNOW, E.C., FELDBUSH, T.L., OAKS, J.A.: The effect of growth hormone and insulin upon MLC responses and generation of cytotoxic leukocytes, *J. Immunol.*, 126, 161-164, (1981).
- 147-HATTORI, N., SHIMATSU, A., SUGITA, M., et al.: Immunoreactive growth hormone (GH) secretion by human lymphocytes: Augmented release by exogenous GH, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 168(2), 396-401, (1990).
- 148-WEIGENT, D.A., BAXTER, J.B., WEAR, W.E., et al.: Production of immunoreactive growth hormone by mononuclear leukocytes, *FASEB J.*, 2, 2812-2818, (1988).
- 149-WEIGENT, D. A., BLALOCK, J.E., AND LEBOEUF, R.D.: An antisense oligodeoxynucleotide to growth hormone messenger ribonucleic acid inhibits lymphocyte proliferation, *Endocrinology*, 128, 2053-2057, (1991).
- 150-CHAPPELLI, F., YAMASHITO, N., FAISAL, M., et al.: Differential effect of beta-endorphin on three human cytotoxic cell populations, *Int. J. Immunopharmac.*, 13, 291-297, (1991).
- 151-BLALOCK, J.E.: The syntax of immuno-neuroendocrine communication, *Immunology Today*, 15(11), 504-511, (1994).

- 152-CARR, D.B., BULLER, B.A., SKRINER, G.S., et al.: Physical conditioning facilitates the exercise induced secretion of beta-endorphin and beta-lipotropin in women, *N. Engl. J. Med.*, 305, 560-3, (1981).
- 153-FIATARONE, M.A., MORLEY, J.E., BLOOM, E.T., BENTON, D., MAKINODAN, T., AND SOLOMON, G.F.: Endogenous opioids and the exercise-induced augmentation of natural killer cell activity, *J. Lab. Clin. Med.*, 112, 544-52, (1988).
- 154-VALLEE, B.L., AND FALCHUK, K.H.: The biochemical basis of zinc physiology, *Physiological Reviews*, 73(1), 79-118, (1993).
- 155-IWATA, T., INFENY, G.S., TANAHA, T., FERNANDEZ-BOTET, C.J., PIH, K., AND GOOD, R.A.: Circulating thymic hormone levels in zinc deficiency, *Cell. Immunol.*, 47, 100-105, (1979).
- 156-FERNANDS, G., NAIR, M., ONOE, K., TANAKA, T., FLODY, R. AND FOOD, R.A: Impairment of cell-mediated immunity functions by dietary zinc deficiency in mice, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 76, 457-461, (1979).
- 157-CHANDRA, R.K.: Nutrition and immunity, *Am. J. Clin. Nutr.*, 53, 1087-1107, (1991).
- 158-ALLEN, J.I., PERRI, R.T., MCCLAIN, C.J., AND KAY, M.E.: Alterations in human natural killer cell activity and monocyte cytotoxicity induced by zinc deficiency, *L. Lab. Clin. Med.*, 102,577-589, (1983).
- 159-SÜMBÜLOĞLU, K., SÜMBÜLOĞLU, V.: *Biyoistatistik*, 5. baskı, Özdemir Yayıncılık, Ankara, (1994).

- 160-HOFFMAN-GOETZ, L., MACNEIL, B., AND ARUMUGAM, B.: Differential effects of exercise and housing condition on murine natural killer cell activity and tumor growth, *Int. J. Sport Med.*, 13, 167-171, (1992).
- 161-SARTIN, J., CHAUDHURI, M., OBENRADER, M., AND ADELMAN, R.C.: The role of hormones in changing adaptive mechanisms during aging, *Fed. Proc.*, 39, 3163-3167, (1980).
- 162-BARNES, C.A., FORSTER, M.J., FLESHNER, M., et al.: Exercise does not modify spatial memory, brain autoimmunity, or antibody response in aged F-344 rats, *Neurobiol. Aging*, 12, 47-53, (1991).
- 163-LIN, Y.S., JAN, M.S., CHEN, H.I.: The effect of chronic and acute exercise on immunity in rats, *Int. J. Sport Med.*, 14(2), 86-92, (1993).
- 164-DANTZER, R., AND KELLEY, K.W.: Stress and immunity: An integrated view of relationship between the brain and the immune system, *Life Sciences*, 44, 1995-2008, (1989).
- 165-DELLWO, M., AND BEAUCHENE, R.E.: The effect of exercise, diet, restriction and aging on the pituitary adrenal axis in the rat, *Exp. Gerontol.*, 25, 553-562, (1991).
- 166-ZAKAS, A., MANDROUKAS, K., KARAMOUZIS, M., PANAGIOTOPOULOU, G.: Physical training, growth hormone and testosterone levels and blood pressure in prepubertal, pubertal and adolescent boys, *Scan. J. Med. Sci. Sports*, 4, 113-118, (1994).
- 167-BUNT, J.A., BOILEAU, A., BAHR, J.M., AND NELSON, R.A.: Sex and training differences in human growth hormone levels during prolonged exercise, *J. Appl. Physiol.*, 61(5), 1790-1801, (1986).

- 168-BOZZOLA, M., VALTORTA, A., MORETTA, A., CISTERNIO, M, BISCALDI, I., SCHIMPFT, R.M.: Invitro and invivo effect of growth hormone on cytotoxic activity, *J. Pediatr.*, 117, 5566-569, (1990).
- 169-KAPPEL, M., HANSEN, M.B., DIAMONT, M., JORGENSEN, J.O.L., GYHS, A., AND PEDERSEN, B.K.: Effects on acute bolus growth hormone infusion on the human immune system, *Horm. Metab. Res.*, 25, 579-585, (1993).
- 170-CRIST, D., PEAKO, G.T., MACKINNON, L.T., SIBBITT, W.L., KRANER, J.C.: Exogenous growth hormone treatment alters body composition and increases natural killer cell activity in women with impaired endogenous growth hormone secretion, *Metabolism*, 36, 1115-1117, (1987).
- 171- BOZZOLA, M., CISTERNIO, M., VALTORTA, A.: Effects of biosynthetic methionyl growth hormone(GH) therapy on the immune function in GH-deficient children, *Horm. Res.*, 31, 151-156, (1989).
- 172-CORDOVA, A., NAVAS, F.J., AND ESCANERO, J.F.: The effect of exercise and zinc supplement on the hematological parameters in rats, *Biological Trace Element Research*, 39, 13-20, (1993).

10-Ö Z G E Ç M İ Ş

1968 İznik doğumluyum. 1989 yılında Hacettepe Üniversitesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksekokulu'nu bitirdim. Aynı yıl Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans programına girdim. Mayıs 1990 da aynı anabilim dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. 1991 yılında Yüksek Lisans programını tamamladım. Şubat 1992 de aynı anabilim dalında Doktora programına girdim. Aralık 1995 de Ankara Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi kadrosuna naklen atandım ve halen bu görevime devam etmekteyim. Evliyim 2 çocuk sahibiyim.

‘The effect of exercise on natural killer cell cytotoxic activity in growing mice’

Mitat KOZ

Prof.Dr. Aydan BABUL

Fizyoloji Anabilim Dalı

1996

Doktora

ABSTRACT

The purpose of this study was to examine the effect of moderate exercise training on natural killer cell cytotoxic activity(NKCA), and peripheral blood concentrations of corticosterone, Growth Hormone(GH) and zinc in growing mice.

Three week-old male Swiss/Albino mice were randomly assigned to either control or exercise training groups. Seven different experimental groups were as follows: 1-initial control group(C0); 2-4 week control group (C4); 3- 4 week exercise group (E4); 4- 8 week control group(C8); 5-8 week exercise group (E8); 6- 12 week control group (C12); 7- 12 week exercise group (E12). Moderate exercise training regimen was a run on a motorized treadmill at 15 m.min⁻¹, 0 % slope, for 30 min. d⁻¹, 5 day a week. Following the training program splenic NKCA of mice was assayed by the Natural Anticandidial Index Methhod at three Effector:Target (E:T) ratios, respectively 5:1, 1:1, 0.5:1. Peripheral blood concentrations of corticosterone and growth hormone were measured by RIA methods.

The results revealed that NKCA in mice begins to increase at the 4th week of life, reaches to a peak level at the 8th week, and begins to decline after the 12th week, and remains at lower levels after 16th week of life span. Splenic NKCA was elevated only in the 12 week exercise group (E12) compared to sedentary controls (C12) ($P < 0.05$). The other exercise training groups did not show any significant changes for splenic NKCA ($P > 0.05$).

Peripheral blood concentrations of corticosterone begins to increase with advancing age compared to 4 week old mice: The differences were 19 % for 8 and 12 week of age, 49 % for 16 week of age. These differences were found to be statistically significant ($P < 0.05$). Exercise training showed significant ($P < 0.05$) changes on plasma corticosterone levels in the 4-week exercise group but did not change significantly any other of the exercise groups.

An age related decline was observed in peripheral blood concentrations of growth hormone in the control groups compared to 4 week-old mice (C0). The differences were 28 % for C4, 42 % for C8, 47 % for C12. In the exercise training group, only 12 week exercise group (E12) showed significant changes in growth hormone levels ($P < 0.05$).

Neither aging nor exercise training did effect plasma zinc concentrations.

As a conclusion, exercise training for 4 and 8 weeks did not affect NKCA and GH levels, but 12 week of exercise training improved both of them.

‘Farelerde büyüme döneminde yapılan egzersizin doğal öldürücü (Natural Killer) hücre sitotoksik aktivitesine etkisi’

Mitat KOZ

Prof.Dr. Aydan BABÜL

Fizyoloji Anabilim Dalı

1996

Doktora

Ö Z E T

Bu çalışma büyüme dönemindeki farelere yaptırılan egzersiz eğitiminin NK hücre sitotoksik aktivitesine (NKSA) etkisi ve bu aktivite ile periferik kan kortikosteron, Büyüme Hormonu (BH) ve çinko düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemek üzere planlandı.

Bu amaçla denek olarak kullanılan 3 haftalık 56 adet Swiss/Albino fare kontrol ve egzersiz eğitim gruplarını oluşturacak şekilde rastgele ayrıldılar. Yedi farklı grup şu şekilde düzenlendi: 1)Başlangıç kontrol(K0), 2)4 haftalık kontrol (K4), 3)4 haftalık egzersiz (E4), 4)8 haftalık kontrol (K8), 5)8 haftalık egzersiz (E8), 6)12 haftalık kontrol (K12), 7)12 haftalık egzersiz(E12), Orta şiddetteki egzersiz eğitimi yaptırmak amacıyla fareler treadmillde haftada 5 gün, 15 m/dk sabit hızda, günde 30 dakika koşturuldular. Çalışma programını takiben, dekapite edilen farelerin dalaklarından elde edilen lenfositlerde doğal antikandiyal endeks yöntemiyle 5:1, 1:1, 0,5:1 Etkin:Hedef (E:H) oranlarında NKSA ölçüldü. Plazma kortikosteron ve BH konsantrasyonları RIA yöntemi ile araştırıldı.

Ölçümlerin sonuçlarına göre farelerin NKSA'nin 4. haftadan itibaren artmaya başladığı, 8. haftada en yüksek düzeyine ulaştığı ve 12. haftadan sonra azalmaya başladığı. ve 16. haftada da düşmeye devam ettiği görüldü. 8 ve 12 haftalık egzersiz gruplarının NKSA'nin birbirine benzer olduğu, 16 haftalık grubun NKSA'nin ise (E12) kontrol grubundan(K12) tüm E:H oranlarında sırasıyla % 18, %17 ve %14 daha yüksek seyrettiği fakat yalnızca 5:1 ve 1:1 E:H hücre oranlarındaki değişimin anlamlı ($P < 0,05$) olduğu gözlemlendi. Diğer egzersiz gruplarındaki değişiklikler ise anlamlı bulunmadı ($P > 0,05$).

Periferik kan plazma kortikosteronunun da yaşla birlikte artmaya başladığı ve bu artışın 4 ve 8. haftalarda da %19, 16. haftada ise % 49 oranlarında olduğu gözlemlendi bu farklar anlamlı bulundu ($P < 0,05$). Egzersiz eğitimi ise plazma kortikosteron düzeylerinde 4 haftalık egzersiz grubu dışında anlamlı bir değişiklik yapmadı.

Plazma BH konsantrasyonlarında kontrol gruplarındaki 4 hafta/yaş (K0) farelere kıyasla yaşa bağımlı bir düşme gözlemlendi. Farklar; K4 de %28, K8 de %42, K12 da %47 oranlarındaydı. Egzersiz eğitiminin kontrollerine oranla BH nu artırıcı etkisi olduğu (fakat yalnızca E12 deki yükselme (%69) anlamlı) bulundu ($P < 0,05$).

Plazma çinko konsantrasyonlarında yaşın veya egzersiz eğitiminin önemli bir değişiklik yapmadığı saptandı.

Sonuç olarak 4 ve 8 haftalık egzersiz eğitimi NKSA ni ve GH düzeylerini etkilemezken 12 haftalık egzersiz eğitiminin her iki parametreyi de anlamlı derecede artırdığı söylenebilir.