



**KAYISI KATKILI SPORCU İÇECEĞİNİN ZORLU
EGZERSİZ YAPTIRILAN SIÇANLARDA KARDİYAK
MİTOKONDRİYAL DİSFONKSİYONA ETKİSİ**

Muhammed Yusuf ÖZER

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Halil DÜZÖVA**

Yüksek Lisans Tezi -2022

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KAYISI KATKILI SPORCU İÇECEĞİNİN ZORLU EGZERSİZ YAPTIRILAN
SIÇANLARDA KARDİYAK MİTOKONDRIYAL DİSFONKSİYONA ETKİSİ**

Muhammed Yusuf ÖZER

**Fizyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Halil DÜZOVA**

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TKP-2021-2396 proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2022**

İTHAF

Kızım *Beren Özer*'e ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	viii
ABSTRACT.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİN.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Egzersiz.....	3
2.1.1. Egzersiz Tipleri.....	4
2.1.2. Egzersizin Etkileri.....	5
2.1.3. Egzersiz ve Kalp	7
2.2. Sporcu İçecekleri	9
2.2.1. Sporcu İçeceklerinin İçerikleri.....	10
2.2.2. Sporcu İçecekleri ve Performans	12
2.3. Kayısı	13
2.3.1. Kayısının Özellikleri ve Yapısı.....	14
2.3.2. Kayısının Tüketim Şekilleri.....	16
2.3.3. β -Karoten	17
2.3.4. β -Karoten ve Egzersiz.....	18
2.4. Mitokondri	20
2.4.1. Mitokondrinin Yapısı.....	21
2.4.2. Mitokondrinin Görevleri.....	22
2.4.3. Mitokondriyal DNA (mtDNA)	23
2.4.4. Mitokondriyal Disfonksiyon.....	25
2.4.5. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Egzersiz	26
3. MATERYAL VE METOT	34
3.1. Deney Hayvanları ve Deney Planının Oluşturulması	34
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	34
3.2.1. Hayvanların Ağırlıklarının Ölçümleri	35
3.2.2. Deney Süreci ve Protokolü	35
3.3. Ticari Sporcu İçeriğinin Analizi	37

3.4. Kayısı Katkılı Sporcu İçeceği'nin Hazırlanması.....	38
3.5. Deneyin Sonlandırılması ve Doku Örneklerinin Toplanması.....	38
3.6. Analiz Yöntemleri (Genetik Analizler)	39
3.6.1. Total RNA İzolasyonu	39
3.6.2. Total RNA Konsantrasyonu Ölçümü ve Kalitesinin Kontrolü.....	40
3.6.3. Total RNA'lerden cDNA Sentezlenmesi.....	41
3.6.4. RT- PCR Analizi.....	42
3.7. Genomik DNA İzolasyonu	44
3.7.1. PCR ile mtDNA Kontrol Bölgesi Çoğaltımı	45
3.8. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Yöntemi ile Akonitaz Aktivitesi Ölçümü.....	46
3.9. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)	47
3.10. İstatistiksel Analiz	48
3.10.1. Vücut Ağırlıkları, Gen Analizleri ve ELISA Sonuçları İçin İstatistiksel Değerlendirme	48
3.10.2. Transmission Elektron Mikroskopik İçin İstatistiksel Değerlendirme	48
4. BULGULAR.....	50
4.1. Hayvanların Vücut Ağırlığı Yem ve Su Tüketimi.....	50
4.1.1. Hayvanların Vücut Ağırlığı Değişimleri	50
4.1.2. Hayvanların Su ve Yem Tüketimi Ölçümleri	51
4.2. Genetik Veriler	51
4.2.1. Sol Ventrikülde Beclin-1, Atrogin ve Atg12 Düzeylerinin Ölçülmesi.....	51
4.2.2. Gastrocnemius Kasında Beclin-1, Atrogin ve Atg12 Düzeylerinin Ölçülmesi	53
4.3. Mitokondriyal DNA Sayısının COXII mtDNA ile Ölçümü	56
4.4. Akonitaz Aktivite Seviyesinin Ölçümü	58
4.5. Sol Ventrikül Dokusunun Transmission Elektron Mikroskopik Değerlendirmesi..	61
5. TARTIŞMA	70
5.1. Zorlu Egzersizin Sıçanların Vücut Ağırlığı, Yem ve Su Tüketimi Üzerine Etkisinin değerlendirilmesi	71
5.2. Zorlu Egzersiz ve Otofaji.....	73
5.2.1. Sol Ventrikülde Zorlu Egzersizin Otofaji Üzerine Etkisi	73
5.2.2. Gastrocnemius Kasında Zorlu Egzersizin Otofaji Üzerine Etkisi	76
5.3. Zorlu Egzersizin Hipertrofi Üzerine Etkisi.....	78

5.4. Zorlu Egzersizin Mitokondri Sayı ve Fonksiyon Üzerine Etkisi.....	81
5.4.1. Sol Ventrikülde Zorlu Egzersizin Mitokondri Sayı ve Fonksiyonu Üzerine Etkisi	81
5.4.2. Gastrocnemius Kasında Zorlu Egzersizin Mitokondri Sayı ve Fonksiyonu Üzerine Etkisi	84
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	87
KAYNAKLAR	90
EKLER.....	114
EK-1. Özgeçmiş.....	114
EK-2. Etik Kurulu Onayı	115



TEŞEKKÜR

TKP-2021-2396 numaralı yüksek lisans tez projeme maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca tecrübeleriyle bana yol gösteren, tezimin her aşamasına destek veren, sevgi ve saygı duyduğum danışman hocam Prof. Dr. Halil DÜZOVA başta olmak üzere eğitimim ve iyi bir akademisyen olmam konusunda benim için çok değerli emekleri olan İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalındaki hocalarıma,

Çalışmamın kayısı katkılı sporcu içeceğinin hazırlanmasında destek ve katkısını esirgemeyen İnönü Üniversitesi Gıda Bilimleri Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gökhan DURMAZ'a yine tezimin ELISA ve Genetik analizlerinde kıymetli yardımlarını gördüğüm İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ahmet KOÇ'a, yine çalışmamın histolojik analizlerinin yapımında destek ve katkısını esirgemeyen İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mehmet GÜL hocalarıma,

Tezimin analiz ve deney aşamasında yine yardımlarını gördüğüm Kübranur KORKMAZ'a, Çiğdem ÖZDEN'e, Semir GÜL'e, Furkan ELMAS'a, Özge ARSLAN'a, Faruk DİŞLİ'ye, Mesut ÇELİK'e, Gül Büşra KAYA'ya, Engin KORKMAZ'a, Onur ÖZKAYA'ya ve eğitimimdeki zor zamanlarımda bana destek olan değerli çalışma arkadaşlarıma,

Burada ifade edemeyeceğim kadar benim için fedakârlıkları ve üzerimde emekleri olan değerli aileme ve kıymetli eşime,

Sonsuz teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Muhammed Yusuf ÖZER

ÖZET

Kayısı Katkılı Sporcu İçeceği Zorlu Egzersiz Yaptırılan Sıçanlarda Kardiyak Mitokondriyal Disfonksiyona Etkisi

Amaç: Egzersizde oluşan mitokondriyal disfonksiyon ile başa çıkmak için farklı farmakolojik ve farmakolojik olmayan ajanlar önemlidir. Zorlu egzersiz oluşan mitokondriyal disfonksiyonu üzerine kayısı katkılı sporcu içeceği ile piyasada satılan sporcu içecekleriyle kıyaslanması yapılarak sporcu içeceklerinin etkinliği değerlendirildi.

Materyal ve Metot: Çalışmada erkek Wistar Albino cinsi sıçanlar kullanılarak, kontrol, zorlu egzersiz (ZE), zorlu egzersiz+ticari sporcu içeceği (ZE+TSİ) ve zorlu egzersiz+kayısı katkılı sporcu içeceği (ZE+KKSİ) 4 gruba ayrıldı (n=40). 10 haftalık zorlu koşu bandı egzersizi yaptırdıktan sonra gastrocnemius ve sol ventrikül dokularında real-time PCR yöntemiyle Beclin-1, Atg12 ve Atrogin mRNA seviyelerini ve COXII mtDNA seviyelerini ve ELISA yöntemiyle akonitaz aktivitesi ölçüldü. Ayrıca sol ventrikül dokusunda Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile mitokondrial yapı değerlendirildi. Sonuçlar uygun istatistiksel yöntemlerle hesaplandı.

Bulgular: COXII ve akonitaz aktivite düzeyleri gruplar arasında farklıydı ($p<0.005$). Atrogin düzeyi gastrocnemius kasında gruplar arasında ($p<0.005$) farklı iken sol ventrikülde atrogin düzeyi zorlu egzersiz yaptırılan gruplarda azaldı ($p<0.005$). Beclin düzeyi sol ventrikül ve gastrocnemius dokusunda zorlu egzersiz yaptırılan gruplarda arttığı ($p<0.005$), gastrocnemius kasında sporcu içeceği verilen gruplar ZE grubuna göre azaldı ($p<0.005$). Atg12 düzeyinin gastrocnemius kasında sadece ZE+KKSİ grubunda arttığı ($p<0.005$), sol ventrikül dokusunda ZE grubuna kıyasla ZE+TSİ grubunda arttığı ($p<0.005$) görüldü. TEM incelemesinde miyokard yapısının bozulduğu ve mitokondriyal krista hasarı, krista kaybı, dilatasyon ve dejenerasyon izlendi, ancak KKSİ verilen gruplarda bu hasarların düzeldiği görüldü.

Sonuç: Zorlu egzersiz otofajiye indükleyerek miyofibril dejenerasyonu ve yapısını bozduğu, mitokondriyal disfonksiyona sebep olduğunu, TSİ verilen sıçanlarda bu bozuklukları kısmen iyileştirdiğini. KKSİ verilen sıçanların kalp kasında bozulan mitokondriyal fonksiyonu, genel yapısal ve fonksiyonel durumunu önemli ölçüde iyileştirici etkisi olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Egzersiz, Kayısı, Mitokondriyal disfonksiyon, Sporcu içeceği,

ABSTRACT

The Effect of Apricot Added Sports Drink on Cardiac Mitochondrial Dysfunction in Rats Exercising Strenuously

Aim: Different pharmacological and non-pharmacological agents are important for coping with exercise-induced mitochondrial dysfunction. The efficacy of sports drinks was evaluated by comparing apricot-added sports drink with commercially available sports drinks on mitochondrial dysfunction caused by strenuous exercise.

Material and Method: In the study, male Wistar Albino rats were used and divided into 4 groups as control, strenuous exercise (ZE), strenuous exercise+commercial sports drink (ZE+TSI), and challenging exercise+apricot added sports drink (ZE+KCSI) (n=40). After 10 weeks of challenging treadmill exercise, Beclin-1, Atg12 and Atrogin mRNA levels, COXII gene mtDNA levels and aconitase activity by ELISA were measured in gastrocnemius and left ventricular tissues by real-time PCR method. In addition, mitochondrial structure was evaluated by transmission electron microscopy (TEM) in left ventricular tissue. Results were calculated by appropriate statistical methods

Results: COXII and aconitase activity levels were different between groups ($p<0.005$). While the atrogin level in the gastrocnemius muscle was different between the groups ($p<0.005$), the atrogin level in the left ventricle was decreased in the groups that were subjected to strenuous exercise ($p<0.005$). Beclin level increased in the left ventricle and gastrocnemius tissue in the groups that had strenuous exercise ($p<0.005$), while the groups that were given sports drink in the gastrocnemius muscle decreased compared to the ZE group ($p<0.005$). It was observed that Atg12 level increased in the gastrocnemius muscle only in the ZE+KCSI group ($p<0.005$), and in the left ventricular tissue in the ZE+TSI group compared to the ZE group ($p<0.005$). In the TEM examination, myocardial structure was disrupted and mitochondrial crista damage, crista loss, dilatation and degeneration were observed, but these damage were found to be improved in the groups given KCSI

Conclusion: That strenuous exercise induces autophagy, causing myofibril degeneration and mitochondrial dysfunction, which structure is disrupted, and partially ameliorates these disorders in rats given TSI. It was observed that the mitochondrial function, general structural and functional status of the rats given KCSI were significantly improved in the heart muscle.

Keywords: Apricot, Exercise, Mitochondrial dysfunction, Sports drink,

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
ACO1	: Sistolik Akonitaz
ACO2	: Mitokondriyal Akonitaz
Atg	: Otofaji ile İlişkili Gen
ATP	: Adenin Trifosfat
Bç	: Baz Çifti
Ca ⁺²	: Kalsiyum
cDNA	: Komplementer DNA
COXII	: Sitokrom c Oksidaz II
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ELISA	: Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay
FADH ²	: Flavın Adenin Dinükleotit
Fe	: Demir
gr	: Gram
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HCO ³	: Bikarbonat
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
K ⁺	: Potasyum İyonu
kg	: Kilogram
KKSİ	: Kaysı Katkılı Sporcu İçeceği
MAPK	: Mitojenle Aktivite Olan Protein Kinaz
max	: Maksimum
med/ort	: Ortalama
mg	: Miligram
min	: Minimum
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
Na ⁺	: Sodyum İyonu

NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
nm	: Nanometre
OXPHOS	: Oksidatif Fosforilasyon
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RTG	: Retrograd
RT-PCR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SE	: Standart Hata
TCA	: Trikloroasetik Asit
TSİ	: Ticari Sporcu İ�e�e�i
VO₂	: Maksimum Oksijen Tüketimi
ZE	: Zorlu Egzersiz
�l	: Mikrolitre
�M	: Mikromolar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Mitokondirinin yapısı	21
Şekil 2.2. Elektron taşıma zinciri.....	22
Şekil 2.3. Mitokondriyal DNA delesyonları.....	25
Şekil 2.4. Mitokondriyal akonitaz inaktivasyonu mekanizması.....	29
Şekil 2.5. Otofajinin basamakları	30
Şekil 2.6. Atrogin Mekanizması	33
Şekil 2.7. Aerobik egzersizin AKT/PGC1- α /FOXO3a sinyal yolları ile kas atrofisi ve otofaji üzerin etkisi.....	33
Şekil 3.1. Zorlu egzersiz programının uygulanması.....	36
Şekil 3.2. Oral Gavaj yöntemiyle TSİ ve KSSİ'nin verilmesi.....	37
Şekil 3.3. Sıçanlardan doku örneklerinin alınması	39
Şekil 3.4. Sol ventrikül ve Gastrocnemius dokusuna ait total RNA konsantrasyonları	41
Şekil 3.5. Gastrocnemius ve Sol ventrikül dokusuna ait mRNA ekspresyon bant görüntüleri.....	41
Şekil 4.1. Gruplara göre sol ventrikül Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyeleri.....	52
Şekil 4.2. Gruplara göre sol ventrikül Atrogin mRNA ekspresyon seviyeleri	52
Şekil 4.3. Gruplara göre sol ventrikül Atg12 mRNA ekspresyon seviyeleri	53
Şekil 4.4. Gruplara göre gastrocnemius kası Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyeleri ...	54
Şekil 4.5. Gruplara göre gastrocnemius kası Atrogin mRNA ekspresyon seviyeleri.....	55
Şekil 4.6. Gruplara göre gastrocnemius kası Atg12 mRNA ekspresyon seviyeleri	56
Şekil 4.7. Gruplara göre sol ventrikül COXII mtDNA ekspresyon seviyeleri	57
Şekil 4.8. Gruplara göre gastrocnemius kası COXII mtDNA ekspresyon seviyeleri.....	58
Şekil 4.9. Gruplara göre sol ventrikül Mitokondriyal akonitaz aktivitesi seviyeleri.....	59
Şekil 4.10. Gruplara göre Gastrocnemius kası Mitokondriyal akonitaz aktivitesi seviyeleri	60
Şekil 4.11. Kontrol grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü.....	62
Şekil 4.12. Kontrol grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü.....	62
Şekil 4.13. Kontrol grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü.....	63
Şekil 4.14. Zorlu egzersiz grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü	64

Şekil 4.15.	Zorlu egzersiz grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü	64
Şekil 4.16.	Zorlu egzersiz grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü	65
Şekil 4.17.	ZE+TSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü	66
Şekil 4.18.	ZE+TSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü	66
Şekil 4.19.	ZE+TSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü	67
Şekil 4.20.	ZE+KKSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü	68
Şekil 4.21.	ZE+KKSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü	68
Şekil 4.22.	ZE+KKSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü	69



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Elektrolit ve karbonhidrat içeriklerine göre sporcu içecekleri.....	11
Tablo 2.2. Kayısı ve kayısı ürünlerinin besin öğeleri (100 gr).	15
Tablo 3.1. Şıçanlara uygulanacak egzersiz protokolü.....	36
Tablo 3.2. Sıçanlara uygulanan işlemler	37
Tablo 3.3. PCR Koşulları	42
Tablo 3.4. Beclin, Atg12,ACT1, Atrogin için primer dizinleri.....	43
Tablo 3.5. Real Time PCR ingradyent miktarları	43
Tablo 3.6. Real Time PCR ingradyent miktarları	45
Tablo 3.7. COXII ve Housekeeping gen primer dizilimleri.....	46
Tablo 3.8. Elisa Reaksiyon Karışımları	47
Tablo 4.1. Çalışmanın İlk ve Son Haftalarında Hayvanların Kilo Değişimi	50
Tablo 4.2. 11. hafta ile 1.hafta arası ağırlık değişiminin gruplar arasında karşılaştırılması.....	50
Tablo 4.3. 11 hafta boyunca hayvanların toplam yem ve su tüketimi	51
Tablo 4.4. Sol ventrikül Beclin-1, Atrogin ve Atg12 mRNA ekspresyon seviyeleri ölçümü	51
Tablo 4.5. Gastrocnemius Kasında Beclin-1, Atrogin ve Atg 12 mRNA ekspresyon seviyelerinin ölçümü.....	54
Tablo 4.6. Gastrocnemius ve sol ventrikül COXII mtDNA ekspresyonu ölçümü.....	57
Tablo 4.7. Gastrocnemius ve sol ventrikül Akonitaz aktivite düzeylerinin ölçümü	59
Tablo 4.8. Transmission Elektron Mikroskopik mitokondri hasarı ölçümleri.....	61
Tablo 4.9. Transmission Elektron Mikroskopik kardiyomiyositlerde miyofibril hasarı, vakuolizasyon ve intrasitoplazmik ödem ölçümleri.....	61

1.GİRİŞ

Mitokondri kimyasal enerjinin üretilmesi ve hücre içi kalsiyum homeostazisi gibi birçok hücrel fonksiyonda ana rol oynayan dinamik bir organeldir. Bunun yanında reaktif oksijen türevlerinin (ROS) oluşumundan ve apoptozun başlamasından sorumludur (1). Mitokondrinin ana metabolik fonksiyonu oksidatif fosforilasyondur. Çeşitli sebepler sonucu bu olayın bozulması durumunda mitokondriyal denge bozularak disfonksiyona uğrar (2). Mitokondriyal disfonksiyon, yetersiz sayıda mitokondri, enerji için gerekli substratların sağlanamaması, elektron taşıma ve ATP sentez mekanizmalarındaki işlev bozukluğundan kaynaklanır (3). Mitokondriyal disfonksiyon, organel fonksiyon kaybı ile birlikte artan ROS seviyeleri yoluyla protein yapısının bozulmasına ve hücre apoptozuna sebep olur. Mitokondriyal solunum sırasında ROS birikimi, mitokondriyal DNA'da (mtDNA) mutasyonlara neden olur. Mitokondriyal DNA (mtDNA) değişimlerini belirlemede COXII geni, Akonitaz enzim aktivitesi mitokondri fonksiyonu belirlemede en çok kullanılan yöntemlerden biridir (4).

Egzersize verilen klasik olumlu tepkilerden biri mitokondri sayısında ve fonksiyonunda artıştır (5). Buna karşın yapılan çalışmalarda ağır veya uzun süreli egzersizin mitokondri işlevini kalıcı olarak bozabilecek mitokondriyal disfonksiyonu indükleyebileceği görülmüştür (6). Egzersizin mitokondriyal yapı ve işlevi güçlü bir şekilde etkilediği görülmektedir, ancak yön ve değişim derecesi tartışmaya açıktır (7). Düzenli fiziksel egzersiz kan basıncının düzenlenmesinde ve kalp fonksiyonlarının iyileştirilmesinde çok faydalı bir uygulamadır (8). Ağır egzersiz ROS'u arttırarak, makromoleküllerin oksidasyonu, enzimatik ve non-enzimatik antioksidan savunma sistemlerinde bozulma, anormal sinyal transdüksiyonu veya hücrelerin disfonksiyonu ile çizgili kas ve kalp gibi dokularda oksidatif hasara neden olmaktadır (9). Ağır ve uzun süreli yüzme, koşma gibi egzersizler kalpte oksidan ajanların ortaya çıkmasına yol açarak apoptozisi uyarır ve kalp kası hücrelerinde hasar oluşmasına neden olur (10). Hipoksi altında gerçekleştirilen yorucu egzersizin, aynı şartlar altındaki egzersize kıyasla oksidatif stresi arttırdığı tespit edilmiştir (11).

Kayısı, polifenol, potasyum ve β -karoten yönünden çok zengin bir meyvedir (12). İyi bir antioksidan olan β -Karoten, ağır egzersiz sırasında hipoksiye maruz kalan ultra antrenmanlı sporcularda oksidatif stres hasarını azaltmış ve egzersiz performansını

arttırdığı gösterilmiştir (13). Hem insanlarda hem de hayvanlarda A vitamini/ β -karotenin egzersiz performansı veya iskelet kası mitokondriyal biyogenezi üzerindeki etkilerini araştıran önemli bir çalışma eksikliği vardır (14). Karotenoidler mitokondriyal fonksiyonları, özellikle elektron taşıma zinciri (ETZ) aktivitesini iyileştirir, redoks durumunu modüle eder ve apoptoz sistemini inhibe eder. Mitokondriyi hedefleyen Karotenoidler, mitokondride biyoaktif bileşiklerin yararlı etkilerini artırmıştır (15). Karotenoidler, santral sinir sistemi hastalıkları veya kanser tedavisi için Beclin-1 bağımlı ve Beclin-1 bağımsız sinyal yollarıyla otofajiyi düzenlediği gösterilmiştir (16). Moleküler düzeyde otofaji, otofaji ilişkili genler (Atg) ve ilgili Atg proteinleri tarafından kontrol edilir. Beclin-1, aynı zamanda Atg6 olarak da adlandırılır. Atg12, tanımlanan ilk ubikuitin benzeri Atg proteinidir. Beclin-1 ve Atg12 otofajinin başlamasına sebep olduğu gibi dolaylı olarak da gelişme, endositoz, strese karşı adaptasyon, yaşlanma ve hücre ölümü gibi birçok biyolojik hücresel süreçte önemli bir rol üstlenmektedirler (17). Kas atrofisi yollarında önemli bir katılımcı olarak tanımlanan Atrogin kalp ve iskelet kasına özgü bir F-box proteinidir. Atrogin-1 antihipertrofik aktiviteye sahiptir ve patolojik veya fizyolojik uyaranlarla oluşan kardiyak hipertrofiyi inhibe eder (18).

Bu çalışmada zorlu egzersizin mitokondriyal disfonksiyona etkisinin araştırılması, mitokondriyal disfonksiyonun kayısı katkılı sporcu içeceği ile piyasada satılan diğer sporcu içecekleriyle kıyaslanması ve kayısı katkılı sporcu içeceğinin zorlu egzersizle oluşabilecek mitokondriyal disfonksiyona karşı etkinliğinin değerlendirilmesi hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Egzersiz

Egzersiz, antik kültürlerden beri binlerce yıldır insan sağlığı için önemli kabul edilmiştir. Yunan Doktor Hipokrat, en erken kaydedilen ve en iyi bilinen egzersiz savunucularından biridir. Sağlıklı kalmak ve hatta sağlığı iyileştirmek için ılımlı egzersiz önermiştir. Platon, Aristoteles egzersizin genel sağlığı, metabolizmayı ve kas tonusunu iyileştirdiği ifade etmiştir. Bergamalı hekim Galen de egzersizin bağırsak hareketlerine iyi geldiğini ifade etmiştir. İbni Sina gibi tarih boyunca diğer önde gelen bilim adamları da sağlık için egzersizi tavsiye etmişlerdir. Bilimsel Devrimin başlangıcı olan 16. yüzyılda hekimler egzersiz üzerine kitaplar yazmaya başladılar. Egzersizle ilgili bilinen en eski kitaplardan biri, İspanyol Doktor Cristobal Mendez tarafından yazılan *Beden Egzersizi Kitabı*'dır. Mendez kitabında egzersizin yararları, türleri ve değerleri ile birlikte yaygın egzersizleri ve bunları gerçekleştirmenin neden önemli olduğunu yazmıştır. 19. yüzyılda, bazı tıp ders kitaplarında egzersizle ilgili bölümler yer almaya başladı. Yetersiz dolaşım, güçsüzlük ve hastalık olasılığının artması gibi egzersiz eksikliğinin olumsuz etkileri daha iyi bilinir hale geldi. Fiziksel aktivitenin önemi giderek daha önemli hale geldikçe, okullarda öğrencilerin her gün belirli bir süre egzersiz yapmalarını gerektiren beden eğitimi dersleri de verilmeye başlandı (19).

Fiziksel uygunluğu korumayı ya da geliştirmeyi amaçlayarak yapılan, kilo kontrolünü sağlamanın yanında kronik hastalıklarının tedavi edilmesinde uzmanların tavsiye ettiği ve birçok vücut mekanizmasının regülasyonu gibi faydaları olan tekrarlayıcı vücut hareketlerine egzersiz denir (20, 21). Düzenli yapılan egzersiz; koroner arter hastalıklarını azaltır kandaki kolesterol, trigliserit ve glikoz miktarlarını azaltır, depresyonu azaltır, motivasyonu artırır, uyku kalitesini düzeltir, kemik mineral dansitesini yükseltir ve başta meme kanseri olmak üzere birçok kanser riskini azalmasına ve kanserin iyileşmesine etkili oluğu gösterilmiştir (22).

Fiziksel egzersiz için fazla miktarda enerjiye gereksinim duyulmaktadır. Koşma, bisiklet ve yüzme benzeri fiziksel aktiviteler enerji gereksinimini 10 kat yükseltebilir. Söz konusu bu enerji; protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmalarından kaynaklanan organik fosfat bileşiklerinden elde edilir (23). Egzersiz için anaerobik ya da aerobik yollarla karbonhidratlar ile yağlar kullanılarak ATP elde edilir (24). Kullanılacak

enerjinin elde edildiği kaynak egzersizin çeşidi, süresi ve şiddeti ile alakalıdır. Söz konusu enerji vücuttan sırası ile şu şekilde elde edilmektedir. Birincisi Çizgili kasın yapısında başta depo şeklinde mevcut olan yüksek enerjili fosfat bağlarını içeren ATP'deki son bağı indirgenme yoluyla koparılmasıyla enerjinin ortaya çıkmasıyla kullanılır. İskelet kasının kontraksiyonu için temel enerji kaynağı olan ATP, kas liflerinde bulunan hücrelerde kas kuvvetini ortalama 1-3 saniye süresince devam ettirebilecek seviyede mevcuttur. İkinci aşamada kreatin fosfat kullanılarak enerji üretilir. Kreatin fosfat yüksek enerji içeren bir bileşiktir. Kreatin fosfat iyonlarına ayrıştırılarak fazlaca enerji açığa çıkarılır. Kasların çoğunda ATP'nin 2-4 katı kadar kreatin fosfat mevcuttur. Kreatin fosfat kaynağından enerji elde edilmesi çok çabuk bir şekilde gerçekleşmektedir. Üçüncü aşamada ise ortamda yeteri kadar oksijen bulunamaz ve bu nedenle de anaerobik hücre içindeki glikoliz yolağı kullanılarak ATP üretilir. Dördüncü aşamada elektron taşıma zinciri ile glikoz, yağ asitleri, gerekirse aminoasitler kullanılarak oksijenin yardımıyla fazlaca enerjinin ortama bırakılmasıyla meydana gelir (25-30).

2.1.1. Egzersiz Tipleri

Egzersizin aerobik ve anaerobik olacak şekilde iki gruba ayrılmasının yanında; kas güçlendirici (dirençli), germe ve aerobik egzersizler olmak üzere üçe ayrılır (31, 32). Aerobik egzersiz, pulmoner fonksiyonları iyileştirmek ve kalp-damar sistemini daha optimum seviyeye çıkarmak için gerçekleştirildiğinden 'kardiyovasküler egzersiz' şeklinde de bilinmektedir (33). Maksimum kalp atım hızının yüzde 60 ile 80'i şeklinde yapılan aerobik egzersiz, hafif ya da orta şiddetteki aktivitelerin hareketlerin uzunca süre tekrarlanarak büyük kas grupları kullanılmasıyla yapılmaktadır. Enerji elde etmek için de kasta depolanmış halde bulunan enerjiyle beraber karaciğer ile kasta bulunan glikojen harcanır (34). Aerobik, oksijene gereksinimi olan manasındadır ve enerji elde edilen yollarla oksijen harcanmasıyla alakalıdır. Bu yönüyle akciğerler ve kalbin çalışmasına neden olarak oksijen kapasitesinin arttırılmasını sağlar. Yüzme, ritmik koşu, ritmik yürüme, dans etme ve bisiklet sürme vb. fiziksel aktiviteler aerobik egzersiz çeşitlerindendir. İnspirasyon ve ekspirasyon aerobik egzersiz esnasında derinleşir, çabuklaşır ve kalp nispeten kuvvetli kasılır (35, 36). Anaerobik egzersizler yüksek yoğunluklu ve kısa süreli aktivitelerdir. Oksijenin bulunmadığı durumlarda ard arda oluşan bazı kimyasal reaksiyonlara anaerobik, oksijen gerektirmeden oluşan ve ard arda oluşan kimyasal tepkimelere "anaerobik metabolizma" olarak adlandırılmaktadır

(37). Organizmanın enerji ihtiyacını solunum yoluyla giderilmesine ve oksijensiz bir şekilde çalışmasını sağlayan aktivitelerdir. Oksijen noksanlığı meydana gelmesi nedeniyle yapılan egzersizlerin zamanları çok azdır. Bu egzersizlere örnek vermek gerekirse; kendini çekme, itme egzersizleri ve kısa sürat koşuları, ağırlık kaldırma benzeri aktiviteler anaerobik egzersiz çeşidine örnek olarak sayılabilir (38). Anaerobik performanslar az zamanda bitirilen veya patlayıcı kuvvet gereksinimi olan spor alanlarında önem arz etmektedir. Anaerobik performans sırasında gereksinim duyulan enerji kaynağı olarak, başta kaslardaki kreatin fosfat, ATP ve devamındaysa glikoz tercih edilir. Enerji kaynağı olarak kullanılan glikozlar sonucunda vücutta laktat meydana gelir, anaerobik enerji metabolizma fonksiyonları devam ettiği sürece vücutta laktat olduğundan dolayı sürekli artar. Anaerobik metabolizma için gereksinim olan enerji elde edilmiş olur (20, 38). Kas kuvvetini arttıran egzersizler, direnç kas gücünü ve enduransı fazlaştırmak için gerçekleştirilir. Kas güçlendirici egzersizlerde giderek artan yüklenme ilkesi bulunur. Kas güçlendirici egzersizlerde serbest yükler kullanılmasıyla yapılır (30). Germe egzersizleri ise temel kas tendon gruplarına yönelik yapılan fiziksel aktivitelerdir (39).

2.1.2. Egzersizin Etkileri

Günümüzde egzersiz, birçok hastalığın tedavi edilmesinin yanında günlük yaşam aktiviteleri içinde yapılması gereken sürekli ve düzenli bir aktivite şeklinde olması tavsiye edilmektedir. Düzenli yapılan egzersiz; arteriyel hipertansiyon, koroner arter hastalığı, ateroskleroz, diyabetes mellitus, osteoporoz, Parkinson hastalığı ve Alzheimer hastalığı gibi patolojik durumların zararlı etkilerini önleyerek veya azaltarak yararlı sağlık etkilerini destekler. (40). Egzersizin hastalıklarda iyi sonuçları olduğu bilindiği için doktorlardan tarafından hastalıkların medikal tedavi ile beraber reçete edilmektedir (41). Fakat yararlı olan yanlarına ek olarak egzersizin zararlı etkilerinin varlığı da ihtimal dâhilindedir. Özellikle egzersizin süresinin, yoğunluğunun ve türünün yarar/zarar durumunun değerlendirilmesi konusunda halen bir sonuca ulaşamamıştır. Fakat uzun süre ve aşırı fiziksel aktivitenin; büyük oranda kronik sağlık sorunları, yorgunluk, tekrarlayan doku travması, bağışıklık sistemi işlevlerinin baskılanması, kasların ve iç organların hasarlanmasıyla ilişki halinde olduğu çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (42).

Düzenli fiziksel egzersizin genel sağlık üzerinde birçok yararlı etkisi vardır. Egzersiz, genel metabolik sağlığı iyileştirir ve glukoz toleransını, insülin duyarlılığını

iyileştirerek ve dolaşımdaki lipid konsantrasyonlarını azaltarak diyabet gelişimini azaltır (43). Bu öncelikle iskelet kası, karaciğer ve yağ dokusuna adaptasyonlar yoluyla gerçekleşir (44). Egzersiz, vücuttaki çeşitli hücre tiplerinde ve dokularda adaptasyonlara neden olur. Egzersiz, adipositlerde (45) iskelet kası miyositlerinde (46) ve kardiyomiyositlerde (47) mitokondriyal biyogenezi artırır ve bu dokulardaki aerobik solunumu artırır.

Egzersizin sağladığı faydaların çoğu, vücuttaki mitokondriyal adaptasyonlardan kaynaklanmaktadır. Örneğin, egzersiz, iskelet kas dokusunda mitokondriyal içeriği ve miyoglobinin desatürasyonunu artırarak, iskelet kasının oksidatif kapasitesini geliştirerek uzun süreli kardiorespiratuar zindeliği iyileştirir (48). Mitokondriyal biyogenez, egzersize yanıt olarak kardiyomiyositlerde artar (49). Egzersiz ayrıca mitokondrinin yağ asitlerini oksitleme yeteneğini de artırır. Böylece ATP sentezi kapasitesini güçlendirir. Mitokondriyal fonksiyonun egzersizle indüklenen bu geliştirmeleri, sıklıkla obezitenin neden olduğu kardiyovasküler disfonksiyonların önlenmesinde önemlidir (50).

Mitokondrinin oksidatif hasarı önleme yeteneğini artırarak, mitokondride egzersize bağlı değişiklikler kalbi iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruma yaptığını göstermişlerdir. Kalpte iskemiden sonra oksijenli kan akışının yeniden sağlanması miyosit normal fonksiyonel restorasyonun dan ziyade inflamasyona ve oksidatif stresin indüklenmesine neden olur (51). Buna karşılık, kardiyomiyosit mitokondrisine egzersizle indüklenen adaptasyonlar, iskemi-reperfüzyonun neden olduğu oksidatif hasarı azaltarak kardiyak hasarın azalmasına ve iskemiye bağlı kardiyak fonksiyon bozukluğu veya ölüm riskinin azalmasına neden olduğunu göstermiştir (52).

Egzersizin çeşidi, yoğunluğu ve zamanı; immün sistemle ilişkilidir. Hatta yorucu şekilde fiziksel aktivitenin, fazla miktarda kas dejenerasyonu, hücre ölümü ve kardiyomiyopatiye neden olabileceği belirtilmiştir (53). Reaktif oksijen türleri (ROS), aerobik mitokondriyal metabolizmanın fizyolojik yan ürünleridir ve hücresel onarım veya apoptozu başlatmak için gerekli olmakla birlikte, artan ROS seviyeleri ile inflamatuvar süreçler çeşitli kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilidir (54). ROS'un aşırı üretimi, kalp hücrelerinde DNA hasarına da sebep olur (55). Yapılan bir araştırmada orta dereceli ve düzenli egzersizin, hareketsiz yaşam biçimiyle karşılaştırıldığında enfeksiyon ihtimalini düşürdüğü; yoğun, uzun süreli egzersizin ise enfeksiyon ihtimalini yükselttiği gösterilmiştir (56). Fakat uzatılmış yoğun egzersiz antrenmanlarının immün

sisteme zararlı etkilerinin bulunmadığını ortaya koyan çalışmalar da bulunmaktadır (57, 58).

2.1.3. Egzersiz ve Kalp

Fiziksel egzersiz, kalp ve damar sistemine uyum sağlayarak kardiyovasküler işlevi iyileştirir. Düzenli fiziksel egzersiz, istirahat halindeki kalp atım hızını, kan basıncını azaltır ve fizyolojik kardiyak hipertrofiyi artırır (45). Fizyolojik kardiyak yeniden şekillenme sırasında mitokondriyal biyogenez hızı, yağ asidi oksidasyonu ve PGC-1 α ekspresyonu artar. Geliştirilmiş PGC1- α yağ asidini artırmak için PPARa'ya (peroksizom proliferatör aktive reseptör α) bağlanır kalpte oksidasyon ve depolama rapor edilmiştir (59).

Egzersiz, miyokard perfüzyonunu iyileştirir ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol seviyelerini yükseltir, bunların tümü kalp üzerindeki stresi azaltır ve sağlıklı ve hastalıklı bireylerde kardiyovasküler fonksiyonu iyileştirir. (45, 60)

Ek olarak, egzersiz, kalpteki iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruma sağlayarak vazodilatasyon ve anjiyogenez yoluyla vücuttaki oksijen dağıtımını iyileştirir (61). Ayrıca egzersiz, kardiyovasküler hastalıklar ve obezitede de görülen düşük yoğunluklu inflamasyonun tersine uzun süreli bir anti-inflamatuar etkiye neden olur (62). Egzersiz sırasında iskelet kasından salınan miyokinler ayrıca bir anti-inflamatuar etki, artan yağ asidi oksidasyonu, artan glikoz alımı ile iyileştirilmiş insülin sekresyonu ve duyarlılığı yoluyla kardiyovasküler sağlığı iyileştirir. Egzersizin önemli olduğu açık olsa da, egzersize bağlı kardiyovasküler sağlık üzerindeki faydaların arkasındaki fizyopatolojik mekanizmalar halen tam olarak bilinmemektedir (63).

Fiziksel egzersizin düzenli yapılmasının kalp-damar sistemi üzerinde bilinen yararlarının yanında hassas kişilerde akut kardiyak arreste ve kalp krizine sebep olabilir (64). Ani egzersizle uyarılan kalp kas dokusunda hücre dejenerasyonu görülebilmektedir. Ventriküllerin sistol ve gevşeme fonksiyonlarını düşürerek kısa zaman için kardiyak işlev bozukluğuna sebep olan uzun zamanlı yoğun fiziksel aktivite ani kalp krizi ve ölümü ortaya çıkarma tehlikesi vardır (65).

Direnç egzersizi sırasında görülen kardiyovasküler yanıtlardan miyokard ve vasküler sisteme etki eden basınç ve hacim yüklenmesi sorumludur. Basınç yüklenmesinde direncin büyüklüğü, çalışan kas kütlesi ve dinlenme ile tekrarlar arasındaki kasılma süresi önemlidir. Direnç egzersizi yapan atletlerde sol ventrikül kütlesi ve duvar kalınlığı artmasına rağmen, sol ventrikül boyutlarında değişiklik

olmadığından konsantrik hipertrofi görülmektedir (66). Zorlu egzersiz ile artan oksijen kullanımı mitokondriyal sistemden elektron kaçığında artışa neden olup hücre içi pro-oksidan/anti-oksidan homeostazisi bozabilmektedir (9). Tüketici tipteki egzersiz, ROS'u arttırarak makromoleküllerin oksidasyonu, enzimatik ve non-enzimatik antioksidan savunma sistemlerinde bozulma, anormal sinyal transdüksiyonu veya hücrelerin disfonksiyonu ile kas, karaciğer, akciğer ve kalp gibi dokularda apoptoza neden olmaktadır (9, 67).

Kardiyomiyositlerin düzgün çalışması, mitokondriyal fonksiyonun sürekli uyumlaştırılmasını gerektirir. Bu, mitokondriyal havuzların dinamik genişlemesini ve büzülmesini, yeni mitokondrilerin geliştirilmesini ve “eski” organellerin çıkarılmasını gerektiren mevcut enerji ihtiyaçlarına mitokondrinin uyarlanmasıyla elde edilir; sırasıyla füzyon, fisyon, biyogenez ve mitofaji olarak bilinen bu süreçler, mitokondriyal ağların oluşumu ve dinamiklerinin anahtarıdır (68). Mitokondriyal dinamikler, füzyon ve fisyon süreçleri arasındaki sürekli dengelemenin sonucudur. Örneğin, füzyon mekanizmasının bozulması, kaçınılmaz olarak apoptoza yol açan mitokondriyal parçalanmayı belirler. Füzyon ve fisyon için önerilen diğer roller, mtDNA seviyesi ve biyoenerjetik dâhil olmak üzere çeşitli mitokondriyal süreçlerde kardiyomiyopatiler ve kalp yetmezliği dâhil olmak üzere farklı kalp hastalıklarında önemli rol oynarlar (69)

Oksidatif stres, zorlu egzersiz esnasında kalp kasını etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Fiziksel aktivitenin yoğunluğuna bağlı bir şekilde oluşan serbest radikaller kalp kas dokusunda değişik seviyelerde dejenerasyona neden olabilir. Fiziksel aktivitenin şiddeti ve zamanı fazlalaştıkça metabolik süreç ve oksijen harcanması artacağı için serbest radikal miktarı da yükselecektir. Buna göre kalp kasındaki dejenerasyonun seviyesi de yükselir (70). Yüzme ve koşma sporları gibi şiddetli egzersizlerde, hücre ölümünün indüklenmesi ve serbest oksijen radikallerinin oluşması artan kalp dejenerasyonuna neden olarak kardiyak fonksiyon kaybını beraberinde getirir (71).

Egzersizle oluşan serbest radikaller iki farklı yol ile meydana gelebilir. Bunlar;

1. Süperoksit anyon radikali veren, ubikitin-sitokrom c üzerinden mitokondrideki elektron taşıma sisteminde bir bozulma meydana gelmiş olabilir. Bu reaksiyonda, hidrojen iyonları ve elektronlar son ürün olarak su veren oksijene elektron taşıyıcısı tarafından taşınabilir ($4H^+ + 4e^- + O_2 \rightarrow 2H_2O$)

2. Yoğun egzersiz süreci, organizmanın belli yerlerinde hipoksi ya da kısmen geçici iskemiye sebep olabilir. Aktivitenin artması hipoksiyi daha da fazla artırır. Yoğun fiziksel aktiviteden sonra hasar görmüş bölümler yeniden oksijenlenir ve sonrasında iskemi/reperfüzyonun oluşturduğu serbest radikaller ortaya çıkar (72).

Oksidatif metabolik fonksiyonları bünyesinde bulunduran diğer iskelet kaslarına nazaran, miyokardiyumun antioksidan savunma sistemi güçsüzdür. Kalpteki bazal metabolizma hızının daha fazla olması oksidatif hasar ihtimalini yükselten başkaca bir durumdur (73). Zorlu egzersizin sağlığa zararları olabileceği bilinmektedir. Ultramaraton koşucularında böbrek yetmezliği, sıcak çarpması, ani kardiyak ölümler görülebilmektedir. Doksan km koşu sırasında iyi antrenmanlı atletlerde pulmoner ödem rapor edilmiştir. Bilimsel veriler, uzun süreli veya zorlu egzersizin sol ventrikül sistolik performansı üzerine zararlı etkilerinin olabileceğini göstermektedir (74).

Mitokondri, kalp hastalığının patogeneğinde anahtar rol oynar. Enerji tükenmesi, aşırı kalsiyum yüklenmesi, artan apoptoz, oksidatif stres ve bozulmuş mitokondriyal dinamikler, kardiyomiyopati, aritmojenez, iskemi ve son olarak kalp yetmezliğine yol açan kardiyak disfonksiyonun temel bileşenleridir (75).

2.2. Sporcu İçecekleri

Sporcu içecekleri; egzersiz başlamadan, egzersiz sırasında ve bittiğinde kullanılabilen içeriğinde elektrolitler, sıvı ve karbonhidrat olan çözeltilerdir. Sporcular özel içecekleri genellikle üç amaç için kullanılır: Egzersiz sırasında aşırı sıvı kaybının önlenmesi, terlemeyle kaybedilen elektrolitlerin tekrardan yerine konması ve karbonhidrat desteğiyle enerji kaynağı sağlanmasıdır. Piyasada pazarlanan bütün sporcu içeceklerinin içerikleri ve yoğunlukları bu beklentilere göre belirlenmektedir (76).

İlk kez sporcu içeceği, 1965 senesinde sıcak havada müsabakada bulunan sporcuların performanslarının neden düştüğünün araştırılması sonucunda üretilmiştir. Bilim insanları; sporcuların elektrolit ile sıvı kaybettiğini tahmin etmişler ve ilk karbonhidrat elektrolit içeren sporcu içeceğini üretmişlerdir (77). Zamanımızda ise sporcu içecekleri pek çok spor yapan bireyce yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Örnek olarak vermek gerekirse; ülkemizde üst düzey sporcularla gerçekleştirilen bir araştırmada, sporcuların müsabaka ve antrenman sırasında sudan sonra en çok tüketilen sporcu içeceklerini kullanmayı seçtiklerini ortaya koymuştur (Su kullanma; yüzde 41.3; sporcu içeceği kullanma; yüzde 18.6) (78). Amerika Birleşik Devletleri (ABD) verilerine bakıldığında sporcu içeceklerinin kullanım tercihlerinin git gide

yükseldiği, pazar payının da 2005 senesinde 200 milyon dolar iken 2020 senesinde 1 milyar 250 milyon dolar olduğu anlaşılmıştır (77).

Fiziksel aktivite sırasında gereksinimi olan enerjinin neredeyse hepsi yağ ve karbonhidratlardan sağlanır (79). Organizmada enerji gereksinimini uzunca bir süre devamlı olarak sağlayabilecek kadar yağ deposu olmasına rağmen karbonhidrat depoları daha azdır ve yalnızca 1-2 saatlik aktiviteyle bile boşalabilmektedir. Egzersiz sırasında glikojen depolarının boşalmasıyla yorgunluk miktarı yükselmekte ve bu durum sporcu performansını azaltmaktadır. Bundan dolayı sporcuların egzersiz başlamadan önce, egzersiz esnasında ve bittikten sonra karbonhidrat içeriği yüksek besinler almaları tavsiye edilmektedir (80).

Sporcu içeceklerinin spor performansına etkisini egzersiz çeşitlerine göre inceleyen bir araştırmada, 1 saatlik veya daha az süreli egzersizden önce %10'dan daha az karbonhidrat içeren içecekler tüketildiğinde performansı iyileştirmede etkilidir (76). Ayrıca aşırı dayanıklı ve 4 saatten fazla uzun süren fiziksel aktivitelerde karbonhidrat depolarının tükenmesinin ve sıvı/elektrolit aşırı harcanmasının önlenmesi için az miktarda karbonhidrat ihtiva eden içeceklerin performans için yararlı olabileceği belirtilmiştir (76). Brink-Elfegoun ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada sporcu içeceğinin plaseboyla kıyaslandığında fiziksel performansı anlamlı bir şekilde yükselttiği ve kuvvet kayıplarında iyileştirmeler meydana getirdiği belirtilmiştir (81).

Sporcu içeceklerinin, spor performansı üzerine etkisi oldukça değerlidir fakat sağlığı olumsuz yönde etkileyebileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Yaşları 9-16 arasında değişen 7.549 adölesan üzerinde yapılan bir çalışmada, bireylerin günde kaç porsiyon sporcu içeceği içtikleri tespit edilmiştir. Üç yıllık takip sonrasında gün içerisinde tüketilen sporcu içeceği miktarı 1 porsiyon arttıkça adölesanların beden kitle indeksi (BKİ) erkeklerde 0,30, kızlarda 0,33 birim arttığı saptanmıştır. Dolayısıyla sporcu içecekleri ve obezite arasında ilişki olduğu vurgulanmıştır (82). 11-14 yaş arasındaki çocuklarda yapılan başka bir araştırmada ise sporcu ve enerji içeceği tüketen bireylerde, dişte erozyon oluşumunun daha fazla olduğu görülmüştür. Bu etkinin, her 2 içeceğinde pH'sinin 3-4 arasında olmasının etkili olduğu belirtilmiştir (83).

2.2.1. Sporcu İçeceklerinin İçerikleri

Sporcu içecekleri; kaybedilen sıvı ve elektrolitlerin, karbonhidratların hızlıca yerine konması için hazırlanmış karbonhidrat ve elektrolit içeren ürünlerdir. İçerdiği

karbonhidrat, sıvı, elektrolit içeriğine göre izotonik, hipotonik ve hipertonic olmak üzere kategorize edilir. Sporcu içecekleri Tablo 2.1.'de verilmiştir (84).

Tablo 2.1. Elektrolit ve karbonhidrat içeriklerine göre sporcu içecekleri.

Tip	İçerik
İzotonik	%6 - 8 oranında karbonhidrat, sıvı ve elektrolitler
Hipotonik	Karbonhidrat oranı düşük, sıvı ve elektrolitler
Hipertonik	Karbonhidrat oranı yüksek

İzotonik İçecekler; terlemeyle kaybedilen sıvıların yerini alır. Aynı zamanda karbonhidrat desteği sağlar. İzotonik içecekler birçok sporcu tarafından tercih edilmektedir. Terleme ve uzun süreli egzersiz sonrasında vücutta depo edilen karbonhidratlar tükenir. Bununla birlikte dehidratasyon tablosu da ortaya çıkar. Hava sıcaklığının artmasıyla hem amatör sporcular hem de profesyonel sporcular terleme ile karşı karşıya kalır. Sporcular antrenmana başlamadan önce, spor esnasında ve sonrasında kandaki glikoz miktarının düşmesini engellemek ve vücuttaki glikojen depolarını korumak için karbonhidrattan zengin beslenmelidir. Sporcuların çoğu spor öncesinde ve esnasında karbonhidrattan zengin beslenemediği için karbonhidrattan zengin içeceklerin tüketilmesi sporcuların yararına olacaktır (85). İzotonikler içerisinde yaklaşık % 6 - 8 oranında karbonhidrat içerir. İzotonikler, süreci yüksek oranda sıvı alımına teşvik eder. Vücudun ihtiyacı olan minerallerin hızlı ve etkili bir şekilde vücuda alınmasını sağlar. Ayrıca kan dolaşımı, kardiyovasküler sistem ve ısı dengelemesini sağlayacak mineral takviyesi sağlar. Buna bağlı olarak sporcu performansını artırır. İzotonik içecekleri sadece sporcular değil her yaş grubu tüketebilir. Ülkemizde izotonik içecekler genelde sporcular tarafından tüketildiği için sporcu içeceği olarak bilinmektedir. İzotonik içeceklere fonksiyonel özellik kazandırılıp meyve suyu sanayisinde kullanılırsa sadece sporcuların değil herkesin tercih edebileceği bir içecek olacağı düşünülmektedir (84).

Egzersizlerin yoğun bir şekilde yapılması vücutta sıvı elektrolit kaybına neden olmaktadır. Egzersiz esnasında terlemeye bağlı olarak sodyum kaybı ortaya çıkmakta ve hiponatremi tablosu oluşmaktadır. Buna bağlı olarak performans düşmekte ve kas krampları ortaya çıkmaktadır. Egzersiz esnasında terlemeyle vücut ağırlığının %2 ve üzeri düşerse mental ve bilişsel fonksiyon kayıplarına neden olur (86). Mental ve

bilişsel fonksiyon kayıplarını önlemek için egzersiz sırasında karbonhidrat, sıvı ve elektrolit içeren içeceklerin tüketilmesi önerilmektedir. Ancak egzersiz esnasında karbonhidratların enerji kaynağı olarak kullanımının sınırlı olması, yüksek karbonhidrat ve elektrolit içeren sıvıların egzersiz sırasında gastrointestinal problemlere yol açması nedeniyle yüksek oranda karbonhidrat içeren içecekler tercih edilmemektedir. Bunun yerine karbonhidrat oranı %6 - 8, sodyum (Na^+) oranı 500-700 mg/lit ve potasyum (K^+) oranı 800-2000 mg/lit olan içecekler önerilmektedir. Bu oranlardaki sporcu içecekleri yeteri kadar enerji sağlamakta, karbonhidratların emilimini yükseltmekte ve gastrik boşalma için ideal şartları sağladığı gösterilmiştir (86, 87).

2.2.2. Sporcu İçecekleri ve Performans

Sporcu içeceklerinin egzersiz sırasında tüketilmesi karbonhidratı karşılamak, ter, su ve elektrolit kayıplarını telafi etmek için önerilmektedir (86). Uzun süreli egzersiz sırasında, plazma hacmini ve hidrasyonu korumak için Na^+ ve K^+ 'nın değiştirilmesi esastır (88). Egzersiz sırasında alınan sporcu içeceğinin miktarı ve türü performansı etkileyebilir (89). Farklı egzersiz antrenmanları (metabolik gereksinimler, süre, giysi, ekipman) hava koşulları, genetik yatkınlık, ısıya alışma durumu gibi diğer faktörler terleme hızını, elektrolit konsantrasyon değerini etkiler ve sıvı ihtiyaçlarını belirler (86). Bir spor içeceğinin karbonhidrat ve elektrolit içeriği, lezzeti, rengi, kokusu, tadı, sıcaklığı, dokusu egzersiz öncesi, egzersiz esnasında ve sonrasında sıvı tüketimini artırabilir (86, 90). Spor içecekleri, kan şekeri düzeylerini artırarak, karbonhidrat oksidasyonunu iyileştirerek ve yorgunluk hissini azaltarak performansı iyileştirebilir (86). Düşük konsantrasyonda (%6-8) karbonhidrat içeren spor içecekleri, ter kaybıyla uyumlu bir oranda alınırsa sıvı, enerji ve sodyum gereksinimlerini destekleyebilir. Artan plazma hacmi performansı olumlu yönde etkileyebilir (86, 91).

Son zamanlarda yapılan çok sayıda çalışma (89, 92, 93), dayanıklılık yarışmaları sırasında glikoz-elektrolit solüsyonlarının tüketiminin performansı tek başına sudan daha fazla geliştirdiğini, spor içeceğine gliserol veya magnezyum eklenmesinin rehidrasyon sırasında sıvı düzenleyici faktörler üzerinde çok az etkisi olduğunu doğrulamaktadır. Triatletlerle yapılan bir çalışmada, karbonhidrat alımının strese karşı hormonal, bağışıklık tepkisini azalttığı ve çeşitli dokular üzerindeki zararlı etkileri azalttığı bulunmuştur (94). Sıvı, yakıt substratı ve elektrolit tükenmesi dâhil olmak üzere çeşitli faktörler egzersiz performansının azalmasında rol oynar. Dayanıklılık egzersizi antrenmanı veya yarışmasına katılan sporcular, yorgunluğu önlemek ve

optimum performans elde etmek için sıvı, enerji ve elektrolit ihtiyaçlarını karşılamalıdır. Vücut ağırlığının %2'si kadar küçük dehidrasyon seviyeleri performansı düşürür ve %5'in üzerindeki kayıplar, iş kapasitesinde önemli düşüşlere ve yorgunluğun artmasına neden olur. Dehidrasyonun (vücut ağırlığının ~%3'ü) kas gücü, anaerobik performans veya soğuk ortamlarda aerobik egzersiz performansı üzerinde minimum etkisi vardır (95). Ilıman veya sıcak koşullarda, dehidrasyon, yorgunluğun başlangıcını hızlandırır (96). Artmış çekirdek sıcaklığı, kardiyovasküler zorlanma, kas glikojen kullanımı, değişmiş metabolik ve merkezi sinir sistemi işlevi dâhil olmak üzere diğer fizyolojik faktörler aerobik performansı bozabilir (86, 96). Bu nedenle, egzersiz sırasında yeterli sıvı, enerji ve elektrolit sağlanması yoluyla sıvı dengesinin korunması, muhtemelen performansı koruyacak ve yorgunluğun ilerlemesini yavaşlatacaktır (97).

Son araştırmalar, enerji-elektrolit hidrasyonlu içeceklerde laktat ve fruktoz tüketiminin, artan substrat oksidasyonu ve geliştirilmiş tamponlanma kapasitesi yoluyla, performansı arttırdığını ve yorgunluğu glikoz-elektrolit içeceklerden daha fazla geciktirdiğini göstermektedir (98). Performansı artırmada ve ısıdaki yorgunluğu geciktirmede etkili olan çeşitli stratejiler arasında sıvı alımı, ön soğutma ve iklimlendirme yer alır (99). Bunlardan dehidrasyonun önlenmesi, performansın korunmasında ve yorgunluğun geciktirilmesinde en önemli rolü oynar. Bu bulgular, %60 maksimum oksijen tüketimi (VO_2) 21 C bir ortamda 3 saatlik dayanıklılık sürüşü yapan iyi kondisyonlu bisikletçiler üzerinde yapılan bir çalışmada doğrulanmıştır. Sıvı alımı ($0.5 \text{ mEq} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}^+$, $0.17 \text{ mEq} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}^+$, $1.16 \text{ mEq} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCO}_3^+$) olan su, ortalama güç frekansı ve kuvvet gelişme hızı ile ölçüldüğü üzere nöromusküler yorgunluğun başlamasını önlenmiştir (100).

2.3. Kayısı

Prunus armeniaca L. olarak da bilinen kayısı, Rosales takımı Rosaceae familyasının Prunaceae alt familyası *Prunus* türüne giren Zerdali meyvesinin çeşit halinde çoğaltılan bir tipidir (101).

Kayısının tarihte ilk defa ortaya çıktığı bölge Çin'in kuzeydoğu bölgesidir. Günümüzde dünyanın çeşitli bölgelerinde kayısı yetişmektedir. Bu bölgeler; Türkiye, Orta Asya, Rusya, ABD, Irak, Suriye, Akdeniz'e kıyılı ülkeler, İran, Afganistan ve Pakistan'dır (102). Ülkemizde birçok ilde kayısı üretimi yapılmaktadır. Bu illerin başında Malatya gelmektedir. Ayrıca Erzincan, Iğdır-Kağızman, Mersin-Mut, Elazığ, Sivas, Kahramanmaraş, Kayseri, Niğde, Hatay ve Nevşehir gibi illerde de kayısı

üretilmektedir. Kayısı birçok ilde üretilmesine rağmen ekolojisi ve toprağı sayesinde tat ve aroma bakımından en kaliteli kayısı Malatya ilinde yetişmektedir. Türkiye kayısı üretiminde dünyanın önde gelen ülkelerindendir. Dünya kuru kayısı üretiminin büyük çoğunluğunu (yaklaşık % 65-70) Malatya temin etmektedir. Anadolu'daki Malatya ilinde yetişen kayısı çeşitlerinin Hacıhaliloğlu, Kabaası, Hasanbey, Sogancı ve Çataloglu olarak sınıflandırılmıştır (101, 103). Malatya yöresinde yetiştirilen kayısı meyvesinin % 70-80' ini eşsiz kalite ve özelliklere sahip Hacıhaliloğlu çeşidi oluşturmaktadır. Hacıhaliloğlu kayısı, oval, orta boyutta (25-35 gr), sert ve turuncu renge sahip olan bu kayısı çeşidi çok tatlı ve aromatik, su içeriğı düşük, toplam çözünebilir katı miktarı (brix) yüksek (% 24-28), asitliğı düşük (yaklaşık % 0.3) ve çekirdeğı tatlıdır (104).

2.3.1. Kayısının Özellikleri ve Yapısı

Kayısı; üzeri tüylü, sarımsı/turuncu renkli bir meyvedir. Yapısı incelendiğinde dış eksokarptan (zar), etli bir mezokarp ve sert bir endokarptan oluşmaktadır (105).

Kayısının içeriğinde; yüksek miktarda şeker, pektin, pektöz, selüloz, eser, nişasta, protein, çinko, alüminyum ve bakır bulunmaktadır. Kayısı; karbonhidrat (mono ve polisakkarit), polifenol, karotenoid (β -karoten), C ve K vitamini, tiamin, niasin, demir, organik asit, mineral ve polifenol bakımından çok zengin bir meyvedir. Kayısı, şeftaliden 3 kat daha fazla karotenoid (özellikle β -karoten) içermektedir. Armuttan ise 3 kat daha fazla C vitamini içermektedir. Bunun yanı sıra kayısı içerisinde fitokimyasal maddelerde bulunmaktadır. Kayısı; fenol ve uçucu bileşenler açısından bakımından oldukça zengindir. Bunlar; klorojenik asit, neoklorojenik asit, rutin, kateşin ve epikateşinlerdir (12) . Kayısının besinsel değerleri Tablo 2.2 'de belirtildiğı gibidir (106).

Tablo 2.2. Kayısı ve kayısı ürünlerinin besin öğeleri (100 gr).

Besin	Birim	Taze Kayısı
Su	g	86.35
Enerji	kcal	48
Protein	g	1.40
Yağ	g	0.39
Lif	g	2
Doymuş yağ aside	g	0.027
Karbonhidrat	g	11,12
Şeker	g	9.24
A vitamin	IU	1926
C vitamin	mg	10
Tiamin	mg	0.03
Riboflavin	mg	0.04
Niasin	mg	0.6
Folik asit	mcg	9
Pantotenik asit	mg	0.24
B ₆ vitamini	mg	0.054
E vitamini	mg	0.89
K vitamini	mcg	3.3
Kalsiyum	mg	13
Demir	mg	0.39
Magnezyum	mg	10
Fosfor	mg	23
Potasyum	mg	259
Sodyum	mg	1
Çinko	mg	0.2
Bakır	mg	0.078
Manganez	mg	0.077

Kayısı, önemli bir lif kaynağıdır bu sayede kolesterol seviyesini düşürerek formda kalmaya yardımcı olur. Ayrıca kayısının kabızlık giderici, antipiretik, antiinflamatuvar, antitüberküloz, antimutajenik, antiseptik, antinosiseptif ve emetik (kusturucu) özelliğe sahip olduğu bildirilmektedir (102). Kayısı, vitamin A'nın öncü maddesi olan β -karoten yönünden çok zengindir. Kayısıda bulunan toplam karotenoidin %50'sinden fazlası β -karotenden oluşmaktadır β -Karoten, göz sağlığı, epitel doku sağlığı, kemik ve diş

sağlığı ve endokrin sistemlerin çalışması için gereklidir. β -Karoten üreme ve büyümede, bağışıklık sisteminin güçlenmesinde etkinliği olan önemli bir bileşendir. Kayısı, sodyumca fakir ve potasyum bakımından zengin olmasından dolayı kalp yetmezliği, böbrek hastalıkları ve hepatit gibi bazı hastalıkların tedavisinde olumlu etkileri bulunduğu bildirilmiştir (107, 108)

Malatya yöresinde yetiştirilen kayısıların sorbitol içeriğinin (16.91 mg/100 g 26.84 mg/100 g kuru ağırlık) diğer kayısı çeşitlerine göre yüksek olduğu ve en fazla bulunan organik asitin malik asit olduğu rapor edilmiştir (109).

2.3.2. Kayısının Tüketim Şekilleri

Kayısı tüketimi çok çeşitlilik göstermektedir. Bunlar; yaş kayısı, kuru kayısı, toz kayısı, işlenmiş kayısı, kayısı nektarı, kayısılu içecekler, reçel, marmelat, jöle, krema, dondurulmuş kayısı, kayısı konservesi, kayısı pulpu, ekstrüzyon kayısı mamulleri, kayısı şekerlemeleri, kayısı ekstraktı ve esansı, kayısı likörü, kayısı jelatin mamulleri, kayısılu pasta, kek, bar ve kayısı brendisidir (110).

Malatya ilinde kayısı, kükürtleme işlemi (kükürtlenmiş kayısı) ve doğal kurutma (güncurusu) olmak üzere 2 şekilde kurtulmaktadır. Doğal şekilde kurutulan kayısının rengi kahverengiye dönmekte farklı bir tada ve aromaya sahip olmaktadır. Kükürtleme işlemiyle kurutulan kayısının doğal rengi değişmemekte, böceklenmesini önlemekte, kurutma işlem süresini kısaltıp ve daha uzun süre depolama sağlamaktadır(104, 111)

Kayısı sodyum bakımından fakir potasyum bakımından zengin olduğu için siroz, kalp yetmezliği, hepatit, böbrek hastalıklarının tedavisinde olumlu etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (112). Kayısıda bulunan diyet lifi polisakkarit, lignin gibi bileşiklerden oluştuğu için sindirim sistemi enzimleri tarafından hidrolizlenememektedir. Kayısı içerisinde bulunan diyet lifinin vücuda birçok yararı vardır. Bunlar; kabızlığı önler, irritabl kolon sendromu, apandisit, hemoroid, diş hastalıkları, şişmanlık, şeker hastalığı, koroner kalp hastalıkları ve kolon kanseri gibi hastalıkların ortaya çıkma riskini azaltır, bağırsakların düzenli çalışmasını sağlar. Kayısı, içerisindeki organik ve inorganik maddelerden dolayı insan sağlığına olumlu etkileri vardır (112, 113). Ayrıca kayısı, içerdiği flavanoidler ve karotenoidlerden dolayı antioksidan bir besin kaynağıdır. Kayısı dünya genelinde yaygın olarak tüketilen bir meyve olmasına rağmen insan sağlığı üzerine etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir (113).

2.3.3. β -Karoten

β -karoten, A vitaminine dönüşebilen karotenoidlerin en başında gelir. β -Karoten, birçok meyve ve sebzede bulunan kırmızı-turuncu bir pigmenttir. β -karoten A vitamini öncülü karotenoidlerden biridir. Başlıca β -karoten kaynakları arasında havuç, kayısı, koyu yeşil yapraklı sebzeler, bal kabağı, tatlı patates, kırmızı biber, kavun, mango, kara lahana, ıspanak, brokoli gibi sarıturuncu- yeşil renkli sebze ve meyvelerde bulunmaktadır (114).

β -Karoten yapısında iki retinil bulundurur. Sindirim yoluyla alınan beta-karoten dioksijenaz tarafından yıkılır ve A vitamini olan retinole dönüştürülür. A vitamininin % 90'ı karaciğerde depo halinde bulunur, bunun sadece %1'i kana geçer ve bunun da %90'ı kısmı retinol bağlayan proteine (RBP) bağlı şekilde bulunur. A vitamini düzeyi taşıyıcı proteinlere ve depolardaki miktarlarına bağlı olarak uzun süre yapısı bozulmadan kalabilir ve ihtiyaca göre seruma verilir (115).

β -karoten yüksek oranda hidrofobik bileşiklerdir ve bu nedenle diğer lipidlerle ilişkilidir. Bitki hücresi içinde, karotenoidler, kloroplast ve kromoplast gibi organellerde bulunur. Meyvelerde karotenoidler, çekirdeğin yakınında olduğundan daha fazla kabuğun yakınında yoğunlaşmıştır. β -karoten margarin, fırıncılık gibi gıda sektörlerinde ve içeceklerde doğal renk verici madde olarak çok kullanılmaktadır (116, 117). β -karoten suda hiç çözünmezken, yağda ise çok az miktarda çözünür. β -karoten, ışık, ısı ve oksijen gibi etmenlerin varlığında çok çabuk bozulabilen bir moleküldür (118).

Kayısı, yüksek β -karoten içeriği ile öne çıkan bir meyvedir. Kayısıda bulunan karotenoidlerin yaklaşık % 50'sini β -karoten oluşturmaktadır. Türkiye'de yetiştirilen farklı kayısı türlerinin β -karoten içeriği (β -karoten /100 gr) 57-486 mg arasında değiştiği gösterilmiştir (109). Kayısının yüksek miktarda β -karoten içerdiğinden dolayı, yetişkin bir insanın günlük A vitamini ihtiyacını karşılamak için ortalama 250 g taze veya 30 g kuru kayısının yeterli olduğu rapor edilmiştir (119).

β -karoten ikincil meyve metabolitleri veya fitokimyasalları, antienflamatuvar özelliklerinden dolayı tip 2 diyabet, oksidatif stres, kardiyovasküler hastalıklar ve çeşitli kanser türleri gibi hastalıklara faydalı olmuştur (120). β -karoten, iyi bir antioksidan ve beslenme bakımından en önemli karotenoidtir. β -karoten diğer karotenoidlerden farklı olarak, β -karoten'in bir molünden 2 mol A vitamini oluşur. β -karoten; vücutta serbest radikallerin sönmülendirilmesi, bu radikallerin oluşumuna sebep olan tekil (singlet) oksijenin etkisiz hale getirilmesi, α -tokoferol ve fenolik bileşikler gibi diğer

antioksidanların aktivitesini arttırması gibi birçok mekanizmayla antioksidan savunma sistemine katkı sağlamaktadır. Ayrıca göz sağlığı, kemik gelişimi ve diş gelişimi için de oldukça değerlidir. (121). β -karoten zararlı serbest radikallerin giderilmesinde önemli bir etkiye sahiptir. Zararlı serbest radikalleri gidermedeki rolünden yola çıkarak birçok araştırma yapılmış ve oksidatif stres hasarında süperoksit radikallerini süpürdüğü ve bu radikallere karşı koruyucu bir rol oynadığı rapor edilmiştir (17). Literatür incelendiğinde β -karotenin; karaciğer, böbrek, miyokard iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu bir etkisinin olabileceği rapor edilmiştir (122). Hipoksiden sonra yeniden oksijenlenme sırasında çok fazla nöronal hasar meydana gelebilir, çünkü yeniden oksijenlenme önemli miktarda ROS üretimine yol açar. Karotenler ROS'u temizleme yeteneği nedeniyle nöroprotektif aktivite gösterirler. β -karoten gibi karotenler, nörodejeneratif hastalıkları tedavi etmek veya önlemek için kullanılabilecek potansiyel nöroprotektif ajanlar olarak kullanılabilir (123)

β -karoten, PI3K/Akt hayatta kalma yolunun aktivasyonunu indükleyerek apoptoza yol açan Bax'ın (Bcl-2 ile ilişkili X) fosforilasyona bağlı inaktivasyonu kaspaz aktivitesinde azalmasına neden olur. β -karoten ayrıca apoptozu inhibe eden p38 MAPK sinyal yolu kaspaz bağımlı apoptotik hücre ölümünü düzenleyerek mitokondriyal bütünlüğü korumak için sitokrom c salınımında azalmaya yol açar (124). β -karoten mitokondriyal fonksiyonları, özellikle ETZ aktivitesini iyileştirir, redoks durumunu modüle eder ve apoptoz sistemini inhibe eder. Mitokondriyi hedefleyen polifenoller, mitokondride biyoaktif bileşiklerin yararlı etkilerini artırmıştır (15).

2.3.4. β -Karoten ve Egzersiz

Besin takviyeleri ve sporcu içecekleri sporcular arasında yaygın şekilde kullanılmaktadır. Birçok sporcu antioksidan takviyelerinin kas hasarını, immun bozukluğu ve yorgunluğu azalttığını ve böylece performans artışına neden olduğu rapor edilmiştir (124). Egzersiz sırasında ksantin oksidaz veya nötrofillerin aktivasyonu mitokondriden oksijen akışını artırarak oksijen radikallerinin üretilmesine sebep olur (125).

Yoğun egzersiz sırasında artan ROS, antioksidan enzimlerin indüklenmesinden de kısmen sorumludur. Bu, mitokondriyal biyogenezin aktivasyonu, Keap1-Nrf2-ARE yolu ve nükleer faktör κ B (NF κ B) sinyali dâhil olmak üzere, birkaç yolun birbiriyle ilişkili şekilde indüklenmesi yoluyla gerçekleşir. Bu yollar, kısmen, tümü iskelet kası kasılması sırasında bir dereceye kadar artan AMPK, MAP kinazları p38 MAPK, JNK

ve ERK1/2 dâhil olmak üzere birkaç redoksa duyarlı kinazın aktivasyonu ile düzenlenir (126). Hem AMPK hem de p38 MAPK, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalazın indüklenmesi için gerekli PGC-1 α ile PGC-1 α yoluyla mitokondriyal biyogenez yolunu aktive eder. Redoks duyarlı transkripsiyon faktörü NF κ B de kas kasılması sırasında artar ve SOD transkripsiyonunu düzenlediği rapor edilmiştir (127, 128)

Egzersizle indüklenen antioksidan indüksiyonunun ana yollarından biri, redoks duyarlı transkripsiyon faktörünün indüklenmesine bağlı olan Keap1-Nrf2-ARE yoludur. Egzersiz ve çeşitli hastalıkların neden olduğu oksidatif stres sırasında, inflamatuvar sitokinler veya hipoksi, I κ B proteini, IKK (I κ B kinaz) kompleksi tarafından fosforile edilir, bu da I κ B proteininin ubiquitination ve proteazomal degradasyonuna yol açar. NF-K β çekirdeğe göç ederek inflamatuvar mediatörlerin transkripsiyonu başlamasına neden olur. NF-KB yolunu inhibe edecek olan IKK ve/veya NF-KB alt birimleri, sitozolde Nrf2 (Nükleer faktör (eritroid türevi 2) benzeri 2), Keap1 (kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1) tarafından inaktif tutulur. Redoks dengesizliği sırasında, Keap1-Nrf2 kompleksi bozulur, bu da Nrf2'nin kompleksten ayrılmasına yol açar. Karotenoidler ve metabolitleri Keap1 ile etkileşime girip fiziksel özelliklerini değiştirir. Nrf2 antioksidan ve detoksifiye edici enzimlerin transkripsiyonunu indükleyecek olan çekirdeğe göç ederek hücre korumasını teşvik eder. Karotenoidler, MAPK sinyal yolu ile etkileşime girer. MAPK (mitojenle aktive olan protein kinaz) bir aileyi ifade eder. Serin/treonin protein kinazlar. MAPK sinyalleşme basamakları ardışık ve sıralı adımlardan geçer. MAPK'ler, MAPK-kinazlar (MAPKK'lar) tarafından fosforile edilir ve aktive edilir. MAPKK-kinazlar (MAPKKK'ler) tarafından fosforile edilir ve aktive edilir. MAPKKK'ler sırayla etkinleştirilir MAPK'yı birbirine bağlayan küçük GTPazlar ve/veya diğer protein kinaz ailesi ile etkileşim yoluyla anti-inflamatuvar sinyal yollarını etkinleştirirler (124).

Şiddetli egzersiz sonucunda hipoksi altında gerçekleştirilen yorucu egzersizin, aynı normal şartlar altındaki egzersize kıyasla fazla üretilen serbest radikaller vücudun endojen antioksidan savunmasına üstün gelerek redoks dengesini bozduğu gösterilmiştir. Bu dengesizlik hücre yapısına ve mitokondriyal fonksiyonlara zarar vererek çizgili kaslarda performans düşüklüğüne sebep olur (129). Antrenman sırasında bu tür uyarıların tekrarlanması, özellikle β -karoten gibi karotenoidlerin diyetlerle alınmaması ve β -karoten tükenmesinin antioksidan durumunu zayıflattığı açıklanmıştır

(11) . Pialoux ve arkadaşlarının ultra antremanlı sporcularda yaptığı bir çalışmada, yoğun egzersiz sırasında hipoksiye maruz kalan ultra antremanlı sporcularda antioksidan veya β -karoten takviyesi yapılmış, çalışma sonunda β -karoten oksidatif stres hasarını azalttığı ve egzersiz performansını artırdığı rapor edilmiştir (130). β -karoten gibi antioksidanların yararlı fizyolojik etkileri uzun zamandan beri bilinmektedir. Diyetle alınan antioksidanlar, çizgili kaslarda egzersiz sırasında bozulan redoks dengesini düzelterek performans artışına neden olur (129).

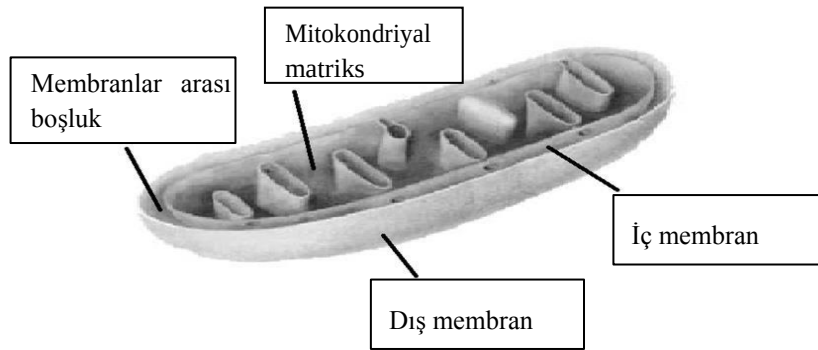
2.4. Mitokondri

Mitokondri yaklaşık 2-3 milyon yıl önce bir bakterinin endosimbiyozu sonucu ökaryot hücrede var olduğuna inanılan hücre içi bir organeldir (131). Bir ökaryotik hücre yüzlerce mitokondriyi içerisinde barındırır (132). Hücresel enerji merkezleri olarak bilinen mitokondriler, ETZ içinde oksidatif fosforilasyonla (OXPHOS) ATP üretirler. Eritrositler dışında tüm hücre tipleri mitokondriye sahiptir (133). Hücrelerin mitokondri sayısı enerji ihtiyacıyla ilişkilidir. Kalp, kas, beyin ve mide-bağırsak hücreleri çok sayıda mitokondriye sahipken deri hücreleri gibi düşük enerji kullanan hücreler daha az mitokondriye sahiptir (134) .

Mitokondri kimyasal enerjinin üretilmesi ve hücre içi kalsiyum homeostazisi gibi birçok hücresel fonksiyonda ana rol oynayan dinamik bir organeldir. Bunun yanında reaktif oksijen türevlerinin oluşumundan ve apoptozun başlamasından sorumludur (1). Bu organel, oksidatif fosforilasyon, redoks üretimi ve sinyalizasyonun önemli düzenleyicisidir. Ayrıca, kalsiyum homeostaz modülatörleri, hem amino asitlerin kullanımı, stres yanıtları ve apoptotik hücre ölümünden sorumludur (135). Mitokondrinin ana metabolik fonksiyonu oksidatif fosforilasyondur. Oksidatif fosforilasyonun olabilmesi için mitokondri iç zarının iki tarafında bir potansiyel farkın oluşması gerekir. ETZ, bu potansiyel farkı Nikotinamid adenin dinükleotid hidrit (NADH) ve Flavin Adenin Dinükleotit ($FADH^2$)'nin verdiği yüksek enerjili elektronlardan aldığı enerjiyle, protonları (H^+) mitokondri matriksinden zarlar arası bölgeye taşıyarak sağlar. ETZ elemanları 5 tanedir; kompleks I, kompleks II, kompleks III, kompleks IV ve kompleks V. Bunlardan herhangi birinin çeşitli sebepler sonucu inhibe olması durumunda mitokondriyal denge bozularak disfonksiyona uğrar (2). Bu nedenle mitokondriyal disfonksiyon ile başa çıkmak için farklı farmakolojik ve farmakolojik olmayan müdahaleler önemli bir hale gelir (136).

2.4.1. Mitokondrinin Yapısı

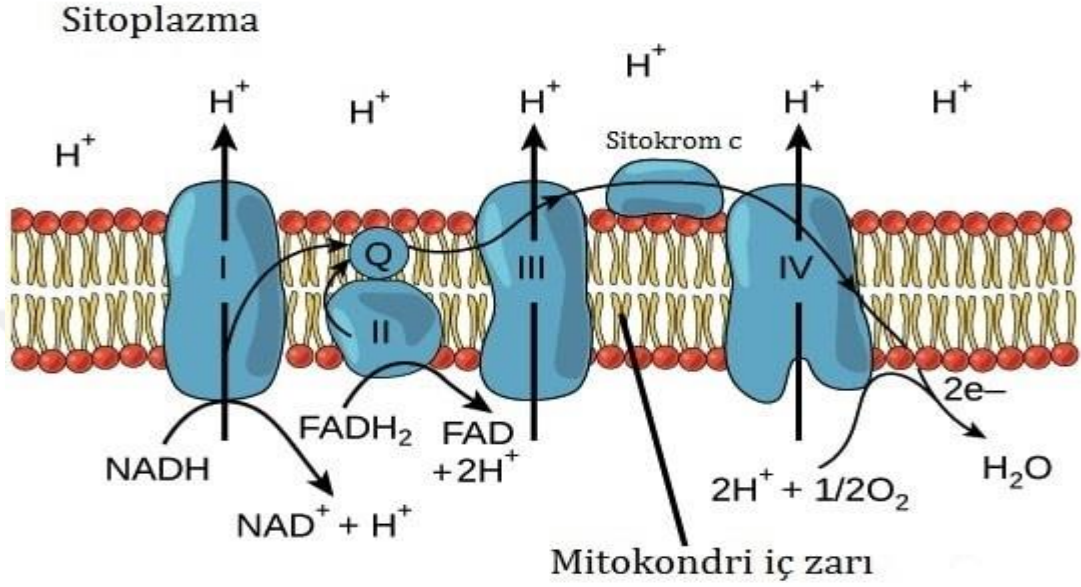
Mitokondri iç ve dış membran, membranlar arası boşluk ve matriks olmak üzere 4 bölümden meydana gelir. Dış membran, hücre zarıninkine benzer bir protein-fosfolipid oranına sahip ve toplam proteinlerin %8-10'unu içerir. Porin adı verilen çok sayıda integral membran proteini içerdiği gibi aynı zamanda taşıyıcı proteinler ve mitokondrinin fisyon (parçalanma) ve füzyon (birleşme) proteinlerini de ihtiva etmektedir (137). Dış membran, yağ asitlerinin zincir uzaması, epinefrin oksidasyonu ve triptofan parçalanması gibi çeşitli faaliyetlere katılan enzimleri içerir. Bu enzimler, monoamin oksidaz (MAO), rotenone-insensiti ve NADH, sitokrom c-redüktaz, kinürenin hidrosilaz ve yağ asidi Co-A ligazdır (138). İç membran metabolik reaksiyonların gerçekleştiği yer olan matriksi çevreler. ETZ'nin bulunduğu krista olarak adlandırılan kıvrımları oluşturur. Bu kıvrımlar yüzey alanını genişleterek daha fazla ATP üretimine imkân sağlar. 151 farklı polipeptit içeren ve yüksek protein/fosfolipid oranına sahip olan iç membran, mitokondrideki toplam proteinin 1/5'ine sahiptir. Matriks, çok sayıda enzimin yüksek miktarda bulunduğu, ATP üretiminin gerçekleştiği, özel mitokondriyal ribozomlar, taşıyıcı RNA (tRNA), mtDNA genomunun kopyalarının bulunduğu alandır. Ayrıca yağ asidi ve pirüvatın oksidasyonu ve sitrik asit döngüsündeki enzimleri içerir (139).



Şekil 2.1. Mitokondrinin yapısı

ETZ, oksijenli solunum yapan hücrelerde glikoz ve yağ asitleri gibi substratlardan alınan elektronların redüksiyon ve oksidasyon olayları ile oksijene taşındığı yol olarak tanımlanır. Glikoz ve yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu açığa çıkan NADH ve FADH₂' den gelen elektronlar kompleks I ve II aracılığı ile ETZ' ye

katılır. Elektronlar koenzim Q ile kompleks 3' e, sitokrom C ile kompleks 4' e aktarılır. Elektronların taşınımı sırasında membranlar arasında oluşan elektrokimyasal alan itici bir güç olarak kullanılır ve kompleks V' te ATP sentaz enzimi aracılığı ile ATP üretimi gerçekleştirilir (132).



Şekil 2.2. Elektron taşıma zinciri

2.4.2. Mitokondrinin Görevleri

Mitokondrinin ana metabolik fonksiyonu organik bileşenlerin oksidatif fosforilasyonu ile enerji üretimini sağlamaktır. Ökaryotik hücrelerde mitokondri; glikoliz sırasında üretilen NADH veya FADH₂' nin oksidasyonu, TCA döngüsü veya yağ asitlerinin β -oksidasyonu ve oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretmektir (140). Mitokondride enerji oluşumu için iç zarın iki tarafında potansiyel bir fark oluşması gerekir. Bu fark, besinlerin oksidasyonu sonucu açığa çıkan NADH ve FADH₂' nin verdiği yüksek enerjili elektronlardan alınan enerji ile ETZ tarafından protonların zarlar arasındaki bölgeye taşınması sırasında oluşur (132). ETZ, oksijenli solunum yapan hücrelerde glikoz ve yağ asitleri gibi substratlardan alınan elektronların redüksiyon ve oksidasyon olayları ile oksijene taşındığı yol olarak tanımlanır. Glikoz ve yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu açığa çıkan NADH ve FADH₂' den gelen elektronlar kompleks I ve II aracılığı ile ETZ' ye katılır. Elektronlar koenzim Q ile kompleks 3' e, sitokrom C ile kompleks 4' e aktarılır. Elektronların taşınımı sırasında membranlar arasında oluşan

elektrokimyasal alan itici bir güç olarak kullanılır ve kompleks V' te ATP sentaz enzimi aracılığı ile ATP üretimi gerçekleştirilir (132).

ROS üretimi de bu bölümde gerçekleşir. Aşırı ROS üretimi mitokondriyal proteinlere, enzimlere, zarlara ve DNA' ya zarar vererek ATP oluşumunun ve mitokondrideki diğer temel fonksiyonların aksamasına neden olur. Hücrelerdeki aşırı serbest radikal oluşumunun neden olduğu oksidatif stresi hafifletmek için çeşitli savunma mekanizmaları kullanılır. Enzimatik savunma sistemi, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz gibi çeşitli antioksidan enzimlerden meydana gelir. Normal koşullar altında, hücresel organeli savunma sistemleri yoluyla oksidatif hasardan korumak için mitokondride ROS' un aşırı üretimi kısıtlanır. Bu enzim fonksiyonlarındaki bozulmalar mitokondriyal disfonksiyona neden olur (140).

Mitokondriyal mitofaji, otolizozomlar içinde sadece hasarlı mitokondrilerin hücreler tarafından seçici olarak yok edilmesini içeren homeostatik bir süreçtir. Genellikle mitokondriyal membran potansiyeli düşük olduğunda mitofajinin başlatıldığı gösterilmiştir (141). Hücresel homeostazın sürdürülmesi dışında, mitofaji hücresel stres yanıtında da önemli rol oynar. Hücresel ATP gereksinimine bağlı olarak mitofaji mitokondri sayısını belirler. Ayrıca mitofaji, hücre içi ağlardan hasarlı mitokondri ve toksik maddeleri ayırarak aşırı ROS üretimini düzenler. Böylece mitofaji hücrenin normal redoks durumunu dengeler. Mitokondriyal ROS ve mitofaji birbirini etkilediği için mitokondriyal ROS ve mitofajinin bir feedback döngü mekanizması oluşturduğu düşünülebilir (142).

Mitokondriyal füzyon ve fisyon sadece mitokondriyal morfoloji için gerekli olmayıp aynı zamanda mtDNA bütünlüğünün korunması, hücresel yaşam siklusunun düzenlenmesi, redoksa duyarlı sinyallerin iletimi ve metabolik süreçlerde de rol oynar (143). Hücrede serbest kalsiyum (Ca^{+}) konsantrasyonu reaksiyonların düzenlenmesi ve hücrede sinyal iletimi için önemlidir. Mitokondriler, hücrede Ca^{+2} homeostazı için geçici olarak Ca^{+2} depolarlar. Kalsiyum, iç membran üzerinde mitokondriyal Ca^{+2} uniporter ile matrikse alınır. Bu olay mitokondriyal membran potansiyeli tarafından başlatılır (144).

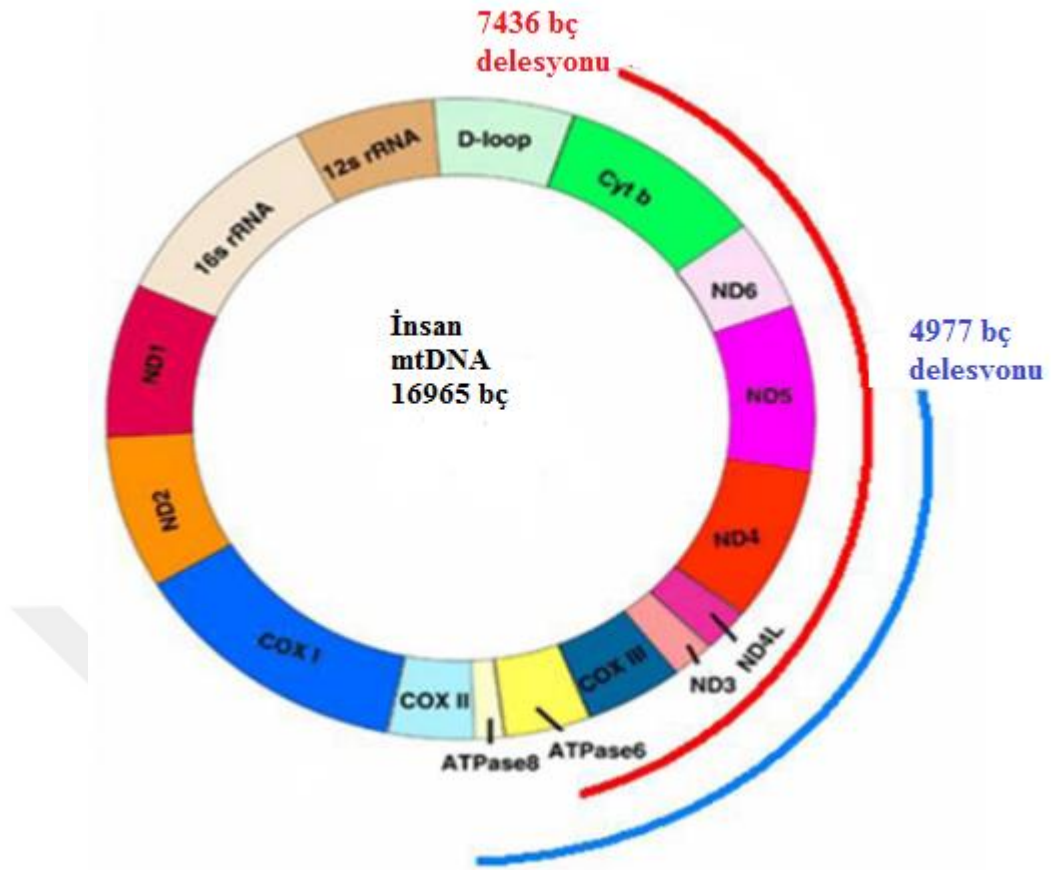
2.4.3. Mitokondriyal DNA (mtDNA)

Mitokondriyal DNA (mtDNA), 16.569 baz çifti ve 37 gen içeren, her bir mitokondrinin içinde birden fazla kopyası bulunan, çeşitli insan hastalıkları ve yaşlanmayla ilişkilidir. Her bir insan mitokondrisi, solunum enzimlerinin sentezi için

gerekli olan 2 ribozomal RNA (rRNA), 22 tRNA ve 13 polipeptitleri kodlayan mtDNA'ların yüz ila birkaç bin kopyasını taşır. mtDNA'nın, çekirdek DNA'sından bağımsız replikasyon ve transkripsiyon sistemi vardır. Ancak mtDNA'nın replikasyon ve transkripsiyonu için gerekli enzimler çekirdek DNA'sı tarafından sentezlendiğinden mtDNA tam olarak bağımsız değildir. Ayrıca memelilerde mtDNA gelecek kuşaklara maternal olarak aktarılır. Memelilerde, mtDNA anneden kalıtılır, babadan gelen mtDNA, ilk embriyonik hücre bölünmeleri sırasında yok edilir (102, 145).

Mitokondriyal genom biri hafif (L) diğeri ağır (H) zincir olarak adlandırılan iki adet DNA zincirinden oluşmaktadır. Guanin ve timin nükleotitlerince daha zengin olan DNA zinciri, ağır zincir olarak isimlendirilmiştir. Ağır zincirden 28 gen kodlanırken, hafif zincir geri kalan 9 geni kodlamaktadır (140). Ağır zincirin OXPHOS 12 altünitesinden biri COXII geni, mtDNA miktarını belirlemede Real-time PCR (RT-qPCR) yöntemiyle egzersize bağlı mitokondriyal disfonksiyonu şiddetini ve ilerlemesini değerlendirmek için kullanılabilir (135)

İskelet kasında ağır egzersizin, mitokondriyal disfonksiyona yol açan değişiklikleri bildirilmiştir. Mitokondriyal disfonksiyon, organel fonksiyon kaybı ile gözlenen artan ROS seviyeleri yoluyla protein yapısının bozulmasına ve hücre apoptozuna sebep olur. Mitokondriyal solunum sırasında ROS birikimi, mitokondriyal DNA'da mutasyonlara neden olur. Bozulmuş mitokondriyal işlevsellik bu da bir kısır döngü yoluyla daha kötü hale gelir. Bu mitokondri içeriğindeki değişikliğin etkisiyle iskelet kasında, oksidatif fosforilasyon ve ATP üretimini bozulmasına sebep olur (6, 137).



Şekil 2.3. Mitokondriyal DNA delesyonları (Kayaaltı 2009'dan modifiye edilmiştir)

2.4.4. Mitokondriyal Disfonksiyon

Mitokondriyal disfonksiyon terimi, hücre biyolojisi, biyoenerji araştırmalarında ve klinik tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Genellikle, mitokondriyal disfonksiyon, mitokondrinin, enerji taleplerine uygun şekilde, hücredeki en büyük enerji taşıyıcısı ATP yapma yeteneğinde bozulma kabiliyeti olarak tanımlanır, ancak mitokondri tarafından yönetilen diğer işlemlerde anormallik mitokondriyal disfonksiyon olarak da adlandırılabilir. Mitokondriyal disfonksiyonlar genel olarak OXPHOS yoluyla ATP üretimi, hücresel solunum, ROS üretimi ve detoksifikasyonu, membran potansiyeli, proton sızıntısı, Ca^{+2} homeostazı ve apoptozisin düzenlenmesi gibi çok sayıda mitokondriyal fonksiyon göstergelerindeki bozukluklarla tanımlanır (146). Ayrıca mitokondriyal disfonksiyon, mitokondriyal içerikte azalma olarak tanımlanabilirken, mitokondriyal aktivite ve oksidatif fosforilasyondaki bir azalma olarak da tanımlanabilmektedir (147).

Mitokondriyal disfonksiyonların nedenleri mitokondriyal ve genomik DNA mutasyonları, süperkompleks destabilizasyonu, mitokondriyal protein birikimleri ve

endoplazmik retikulum stresidir (148). Yaşlanma, çevre ve besin kirlenmesine neden olan çeşitli kimyasal maddeler, statin gibi bazı ilaçlar ve modern yaşam şekillerinin de mitokondriyal disfonksiyonlara neden olduğu belirtilmektedir (149).

Mitokondriyal disfonksiyonlar hem kas hem de sinir sistemi hastalıklarında sık gözlenir ve bu disfonksiyon göstergeleri (ATP üretiminde azalma, ETZ enzimlerinde değişiklik, biyoenerji sistemlerinin bozulması, mtDNA içeriğinde azalma, apoptozis, oksidatif stres vb.) bu hastalıkların teşhisinde kullanılabilir. Özellikle iskelet kasının metabolizması glikolitik olduğundan mitokondriyal disfonksiyonlara daha duyarlıyken, oksidatif metabolizmaya sahip kalp ise mitokondriyal disfonksiyonlara karşı dirençlidir (150). Mitokondriyal disfonksiyon erken ortaya çıkar ve birçok hastalık ve durumda nedensel olarak hareket eder. Bu durumu indükleyen ve vücutta enerji metabolizmasını veya serbest radikal üretimini bozan çeşitli faktörler saptanmıştır (151). Aşırı dayanıklı ve uzun süreli egzersiz, mitokondri için zararlı olabilir ve mitokondriyal disfonksiyona sebep olabilir (152).

2.4.5. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Egzersiz

Mitokondriyal disfonksiyon, mitokondrinin, enerji taleplerine uygun şekilde, hücredeki en büyük enerji taşıyıcısı ATP yapma yeteneğinde bozulma kabiliyeti olarak tanımlanır, ancak mitokondri tarafından yönetilen diğer işlemlerde anormallikler mitokondriyal disfonksiyon olarak da adlandırılabilir. Birçok çalışma, fiziksel egzersizin mitokondriyal içerik ve fonksiyon üzerindeki yararlı etkilerini bildirmiştir (153). Egzersize verilen klasik tepkilerden biri mitokondri sayısında ve fonksiyonunda bir artıştır, gelişmiş mitokondriyal kalite ve miktar antrenmandan sonra bildirilen olumlu sağlık etkilerinin birçoğuyla yakından ilişkilidir (5). Bir antrenmandan hemen sonra görülen mitokondriyal performanstaki geçici azalmadan sonra (154), mitokondriyal biyogenez, mitokondri hacminde ve sayısında olumlu değişikliklere uğrayarak artar (155). Organeller boyut ve yoğunluk olarak büyür, mitokondriyal yakıt kullanımı artar ve mitokondriyal enzim kapasitesi genişler (156). Sonuç olarak, oksidatif kapasite ve egzersiz performansı artar. Bununla birlikte, yapılan çalışmalarda ağır veya uzun süreli egzersizin mitokondri işlevini kalıcı olarak bozabilecek mitokondriyal rahatsızlıkları indükleyebileceği görülmüştür (157). Egzersizin mitokondriyal yapı ve işlevi güçlü bir şekilde etkilediği görülmektedir, ancak yön ve değişim derecesi tartışmaya açıktır (7).

Uzun süreli ve kısa tekrarlı yoğun egzersiz, iskelet kasında mtDNA içeriğinin azalmasına neden olur ve buda mitokondriyal biyogeneze artışa yol açabilir (158). Yaklaşık 50 yıl önce, Laguens ve ark. (152) ilk önce, kapsamlı egzersize tabi tutulan köpeklerin miyokardındaki mitokondriyal yapıdaki ciddi değişiklikleri, matrisin kısmi vakuolizasyonu ve kristae'nin bozulması ile sık gözlenen dev mitokondrileri rapor ettiler. Gollnick ve diğ. (159, 160) sıçanlarda ve insanlarda yapılan seminal çalışma serilerinde kapsamlı egzersiz sonrası kalp ve iskelet kasının ince yapısını değerlendirmiştir. Diğer bulgular arasında, yazarlar yaklaşık 450 saatlik kapsamlı yüzmeyi tamamlamış sıçanlarda mitokondriyal şişlik bildirmişlerdir.

Bununla birlikte, bazı mitokondriler, uzun süreli şiddetli egzersizden sonra işlevsiz organellerin metabolik kapasitesi ters gibi görünen kötü bozulmuş ve dejenere kristalar (miyokardiyal mitokondride en belirgin olan) ile şişmiş. Bu çalışmalar, kapsamlı egzersizin, en azından belirli bir alanda veya dokuda mitokondriyal fonksiyonu belirgin şekilde bozabileceğini düşündürmektedir. Son 20 yılda, birçok çalışma kemirgenlerin beyin, iskelet kası, kalp, karaciğer ve kan hücrelerinde bulunan kalıcı veya uzun süreli egzersize bağlı mitokondriyal disfonksiyon (EIMD) ile aşırı ağır egzersizin mitokondriyal performans üzerindeki benzer zararlı etkilerini bildirmiştir (161).

Ağır egzersiz, mitokondriyal COXII, sitrat sentaz (CS), malondialdehit (MDA) ve mitokondriya bağlı büyüme faktörlerinin ekspresyonu dâhil olmak üzere farklı mitokondriyal sağlık belirteçlerini olumsuz etkilemektedir. Ağır egzersize bağlı olarak, mtDNA mutasyonlarını, mitokondriyal apoptotik faktörlerin ekspresyonunun mitokondriyal membran potansiyelinde azalmayla mitokondriyal reaktif oksidatif türlerin (ROS) üretiminde artmayla sonuçlanır. Nihayetinde, yorucu egzersiz düzensiz mitokondriyal dağılım, yoğun matrisler kaba ve anormal cristae ile yüksek prevalans da dâhil olmak üzere mitokondride ciddi yapısal değişikliklere neden olur (144).

Mitokondride meydana gelen hasarı ölçen çeşitli testler vardır. Bu testler; Artan ROS miktarı, mitokondri membran potansiyelindeki bozulmalar, ATP miktarındaki azalma, akonitaz aktivitesindeki değişim, mtDNA miktarının veya mitokondriyal proteinlerin düşmesi ve apoptozun incelenmesidir. Mitokondrideki hasarı ölçmek için birçok testi bir arada kullanmak daha güvenilir sonuç verir (162).

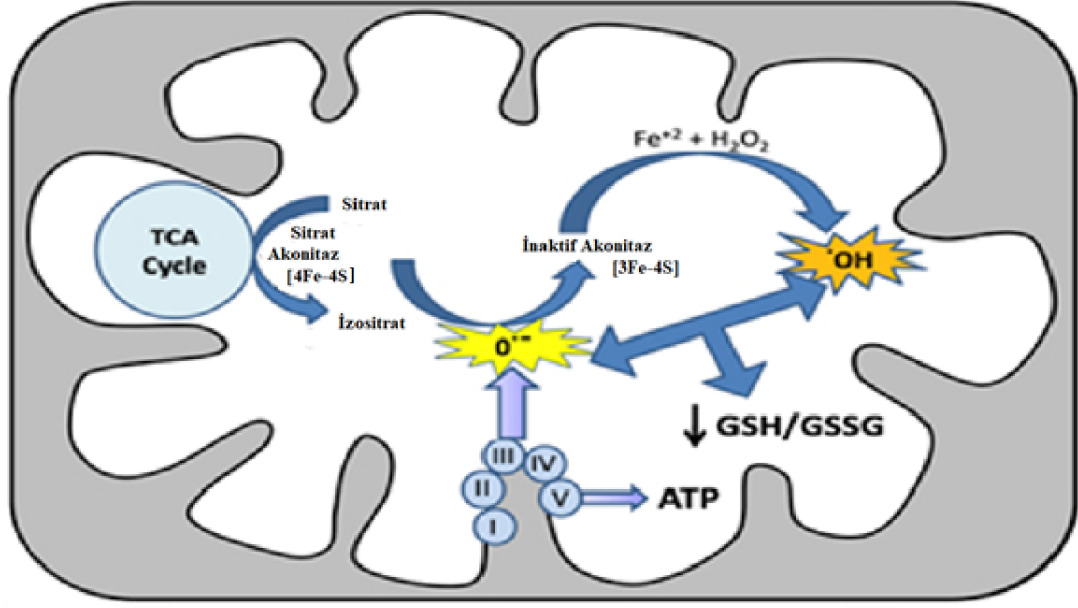
Mitokondri-nükleus sinyalleme Retrograd (RTG) sinyal yoluna benzerdir. Memeli hücrelerinde de tarif edilmiştir. Mitokondriyal strese bağlı olarak RTG sinyali;

mtDNA içeriğinin tükenmesi ve değiştirilmiş membran potansiyeli sonucu nükleustaki bazı genlerin ekspresyonu artar. Mitokondriyal hasarın göstergesi, etkilenen mitonükleer hedef genlerin ifadenmesidir (163).

Akonitaz

Akonitaz geniş bir alanda bulunan oldukça evrimsel olarak korunmuş bir hidrolizazdır. Bakteri, maya, hayvanlar ve insanlar dâhil olmak üzere çeşitli türlerde bulunur (164). Akonitazın görevi TCA döngüsünde sitratın izositrate reaksiyonunu ara ürünü aracılığıyla katalize eder. Akonitaz, birçok ana bölgede yaygın olarak dağılmıştır. Dalak, karaciğer, böbrek, kalp, beyin ve kas gibi organlarda bol miktarda bulunur. Mitokondriyal disfonksiyonu belirlemek için birçok yöntem mevcuttur. Akonitaz aktivitesi düzeyini ölçmek mitokondri fonksiyonu belirlemede en çok kullanılan bir yöntemdir (165).

Hücreler, hem benzer hem de farklı işlevleri yerine getiren iki akonitaz izoformuna sahiptir: sitosolik (aconitase, ACO1) ve mitokondriyal (maconitase, ACO2). Her izoformun ifadesi doku tipine ve metabolik talebe bağlıdır. Örneğin, dalak neredeyse tamamen ACO1 içerir; karaciğer ve böbrek yaklaşık %50 ACO1 ve ACO2 içerirken beyin, kalp ve kastaki akonitaz tamamen ACO2'dir (165). Sitosolik olan, reaktif oksijen, nitrojen türleri (ROS / RNS) tarafından oksitlendiğinde demir düzenleyici protein 1 (IRP1) olarak bir demir homeostazını düzenler. Mitokondriyal akonitaz, sitratı TCA izositrate dönüştürür ve oksidasyona duyarlı bir TCA döngüsü düzenleyici enzim olarak hizmet eder (3). ACO2 aktif bölgesinde sitrattan izositrat'a çeviren bir demir-kükürt kümesi (4Fe-4S) içerir. ACO2, uzun süreli egzersiz sonucu artan reaktif türlere ve serbest radikallere maruz kalmasında dolayı merkezi [4Fe-4S] kümesinden demir salınımına yol açarak, aktif olmayan ACO2 formunun üretilmesine sebep olur. Fenton reaksiyonu yoluyla reaksiyona girebilen hidrojen peroksit (H₂O₂), Glutatyon (GSH/GSSG) reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerinden koruyan bir antioksidan maddelerinin azalmasına yol açar. Böylece serbest radikal üretiminin artması sonucu daha fazla süperoksit inaktivasyonu sonucu akonitaz inaktivitesini güçlendiren bir döngü yaratır (166). Şekil 2.4'de Mitokondriyal akonitaz inaktivasyonu mekanizması gösterilmiştir.



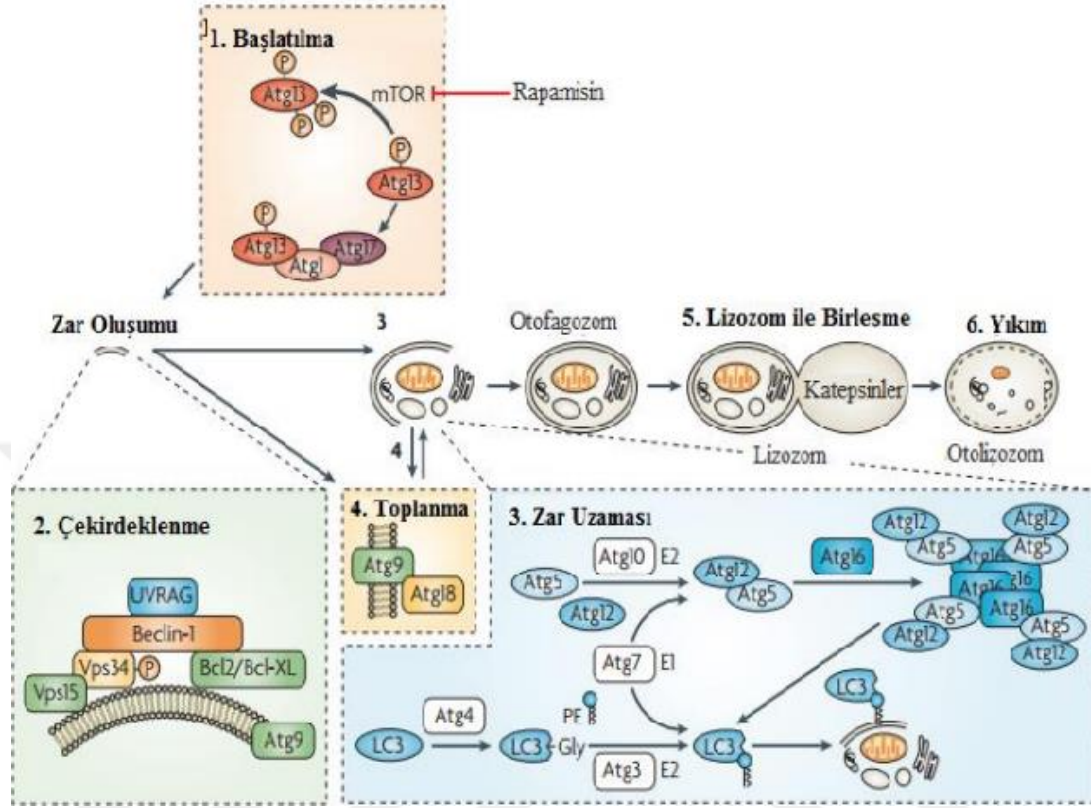
Şekil 2.4. Mitokondriyal akonitaz inaktivasyonu mekanizması

ACO2 aktivitesinde bir azalma, oksidatif fosforilasyon ile birleştirilmiş ETZ oksijen indirgemesi için elektron taşıyıcıları olarak kullanılan TCA döngüsü ara ürünlerinin akışını, NADH ve FADH₂ oluşumunu yavaşlatır. ETZ yoluyla elektron taşınmasının inhibisyonu, ATP üretimini azaltır (167). Mitokondriyal disfonksiyon, yetersiz sayıda mitokondri, enerji için gerekli substratların sağlanamaması veya elektron taşıma ve ATP sentez mekanizmalarındaki işlev bozukluğundan kaynaklanır. Mitokondriyal disfonksiyonu belirlemek için birçok yöntem mevcuttur. Akonitaz enzim aktivitesi mitokondri fonksiyonu belirlemede en çok kullanılan bir yöntemdir (4).

Otofajinin Mekanizması

Otofaji, hücre içinde yapım, yıkım ve hücre içi maddelerin geri dönüşümünü dengeleyen mekanizmadır. Otofaji kavramı 1960'lı yıllara kadar uzansa da 1990'lara kadar genetik temelini anlamaya yönelik araştırmalar yapılmamıştır. Otofaji mekanizmasındaki proteinler ilk kez maya üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda keşfedilmiştir. Daha sonra, ökaryot çalışmalarında otofaji mekanizmasındaki proteinlerin homologları tanımlanmıştır. Hücre-içi hedef proteinlerin yıkılmasından sorumlu iki ana yolak vardır. Her yolağın hedeflediği proteinler farklıdır. Bunlardan ilki; ubiquitin-proteozomdur, bu yolak hücre siklusunda ve strese cevap oluşturulmasında rol oynayan kısa ömürlü proteinleri işaretler ve yıkar. Diğer yolak olan otofaji-lizozom, hücrel proteinlerin %90'dan fazlasını oluşturan uzun ömürlü proteinleri hedefler ve yıkar. Otofajiyi diğer yıkım sistemlerinden ayıran en önemli morfolojik fark, yıkılacak

olan sitoplazmik yapıların “otofagozom” denilen çift zarlı veziküllere alınmasıdır. Sonra bu otofajik veziküller, aynı hücrenin lizozomal sistemi tarafından sindirilir (124). Şekil 2.5’ deki gibi Otofajinin basamakları 5 aşamadan oluşmaktadır:



Şekil 2.5. Otofajinin basamakları (168)

Beclin-1

Moleküler düzeydeki otofaji, otofaji ilişkili genler (ATG) ve Atg proteinleri tarafından kontrol edilir. Ökaryot hücrelerinde otuz dört farklı Atg proteini (Atg1-Atg34) tanımlanmıştır. Atg proteinleri içerisinde yer alan Atg6 Beclin-1 olarak da adlandırılır. Beclin-1 endositoz, strese karşı adaptasyon, yaşlanma ve hücre ölümü gibi hücresel süreçte birçok önemli bir rol üstlenmektedir. Otofajiyi düzenleyen en temel proteinlerden biri Beclin-1’dir. Ayrıca, Beclin-1 otofaji mekanizmasının dinamik göstergesi olarak da kabul edilmektedir (169)

Beclin-1, 450 amino asitlik doğrusal dizilime sahip ve yaklaşık 60 kDa’lık moleküler ağırlığı olan bir proteindir. Beclin-1 sitoplazmik yapılarda lokalizedir (170). Beclin-1, fosfatidilinositol-3-fosfat (PI3P) üretmek üzere fosfatidilinositolün inositol halkasının 3 pozisyonlu hidroksil grubunun fosforilasyonunu katalize eden, sınıf III fosfatidilinositol 3-kinazın (PI3K-III) temel bir bileşenidir (171). Sınıf III PI3 kinaz hücre çoğalmasını sağlar. Hücre içerisinde, hücre iskelet elemanlarının yer

değiştirmesini sağlar. Sınıf III PI3 kinazın faaliyet gösterebilmesi için Beclin-1 ile bir kompleks oluşturması gerekir. Aksi takdirde faaliyet gösteremez. Beclin-1/PI3K-III kompleksi trans-golgi aygıtında lokalizedir. Bu kompleks artan fosfatidilinositol 3-fosfat (PIP3) üretimini destekleyerek fagoforun uzamasını arttırır ve diğer Atg proteinlerinin fagoforlara dahil edilmesine izin verir (172, 173). Beclin-1, otofajide önemli rolleri olan, otofaji düzenleyen ve otofaji mekanizmasının dinamik bir göstergesi olan bir proteindir (174, 175).

Atg12

Atg12, tanımlanan ilk ubiquitin benzeri Atg proteindir. Kanonik sistemde, ubiquitin bir öncü olarak sentezlenir ve karboksi-terminal glisin tortusunu açığa çıkarmak için spesifik bir proteaz tarafından işlenir. Otofaji ile ilişkili genlerden birtanesi Atg12'dir. Otofagozom oluşumu için gerekli olan ubiquitin benzeri bir değiştiricidir. Atg12; Atg5, Atg16 ile bir E3 kompleksi oluşturur ve Atg3 ile etkileşime girer. Bu kompleks mitokondriyal homeostazı ve hücre otofajisini düzenler (174).

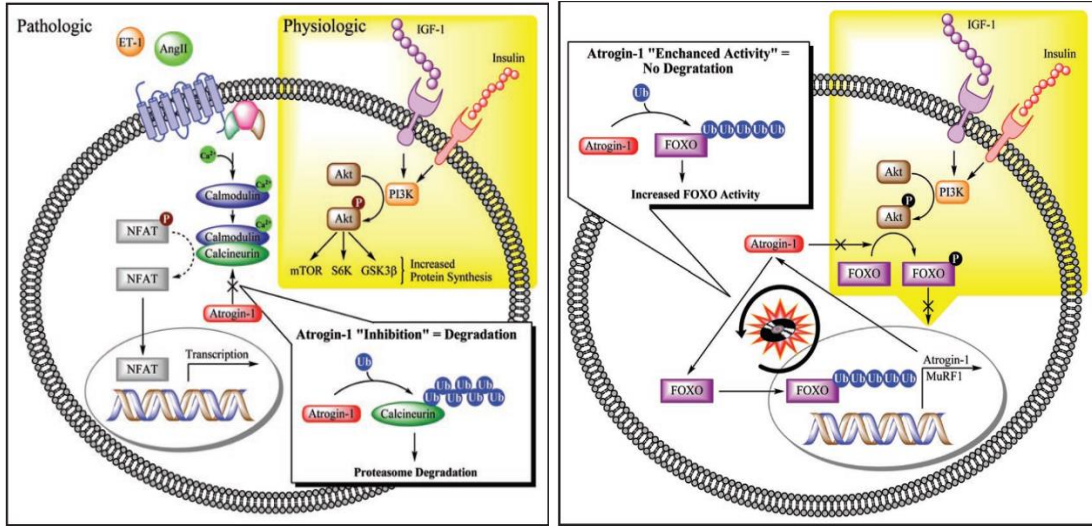
Atg12'nin amino asit dizisi bir glisin kalıntısı ile sona erer ve Atg12 konjugasyonunda yer alan proteaz yoktur. Her yerde bulunmaya benzer şekilde, E1 benzeri bir enzim vardır, Atg7 ve Atg12, Atg12'nin C-terminali Gly 186 ile Atg7'nin Cys 507'si arasında bir tiyoester bağı oluşturarak aktive edilir (176). Aktivasyondan sonra, Atg12, bir E2 enzimi olan Atg10'a transfer edilir ve sonunda bir izopeptid bağı yoluyla Lys 149'daki hedef protein Atg5'e konjuge edilir. Atg12-Atg5 konjugasyonunda yer alan tipik bir E3 enzimi yoktur. Atg5, küçük bir sarmal bobin proteini olan Atg16 ile daha fazla etkileşime girer ve Atg12-Atg5-Atg16, Atg16'nın homo-oligomerizasyonu yoluyla bir multimerik kompleks oluşturur (177). Bu multimerik kompleksin moleküler ağırlığı yaklaşık 350 kDa'dır ve muhtemelen bir Atg12-Atg5-Atg16 tetramerini temsil eder (178). Atg12-Atg5-Atg16L1 kompleksi vezikül oluşumuna sırasıyla bir kılıf ve yapısal bileşen olarak katılırlar (177).

Atrogin

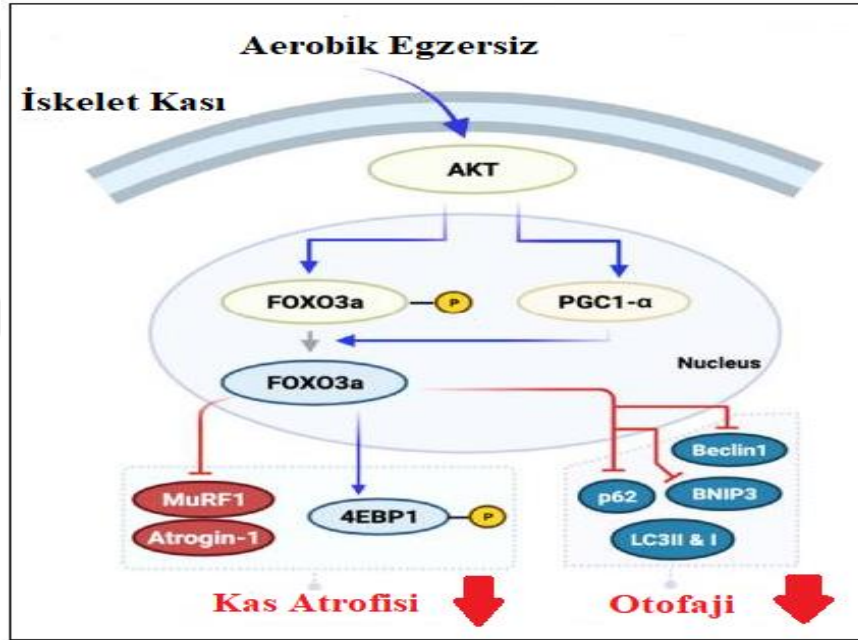
Atrogin ilk olarak iskelet kası atrofisi programlarında önemli bir katılımcı olarak tanımlanan, kalp ve iskelet kasına özgü bir F-box proteindir. Atrogin-1'in ekspresyon seviyesi, Forkhead ailesinin transkripsiyon faktörleri üyeleri tarafından hem iskelet miyositlerinde hem de kardiyomiyositlerde transkripsiyon seviyesinde sıkı bir şekilde düzenlenir. Atrogin özellikle iskelet kasında ve atrofi oluşmadan önce artar. Atrogin-1 antihipertrofik aktiviteye sahiptir ve patolojik veya fizyolojik uyarılarla oluşan

kardiyak hipertrofiyi inhibe eder. Atrogin-1'in ekspresyonu, kas kaybı saptanmadan önce erken bir aşamada ortaya çıkar. Atrogin-1, ubiquitin proteazom yolu ile kas protein yıkımını destekler (179).

Şekil 2.6' daki şekilde gösterilen Atrogin mekanizması; Atrogin-1 bir kardiyak E3 ligazı olarak çalışır ve proteazomal degradasyon için "pro-hipertrofi" protein kalsinörini hedefler (180). Kalsinörin, kardiyomiyositlerin patolojik hipertrofik büyümesini destekleyen sinyal yolunun kritik bir bileşeni olan kalsiyum/kalmodulin ile aktive olan bir serin/treonin fosfatazdır. Kalsinörin, NFAT transkripsiyon faktörünü defosforile ederek nükleer sinyalleşmeyi başlatır ve bu da hipertrofi ile ilişkili genlerin transkripsiyonunu aktive eder. Atrogin-1, kalsinörin için bir adaptör görevi görerek bu kalsinörine bağlı transaktivasyonu ve aşağı akış NFATc4 translokasyonunu inhibe eder. Kalsinörini her yerde bulunan ve onu proteazom bağımlı bozunma için hedeflerler. Atrogin proteazomal bozunma için kalsinörini hedefleyerek patolojik hipertrofi ile ilgili kritik bir sinyal yolunu bozar (181). Şekil 2.7'de gösterildiği gibi atrogin-1, patolojik kalp hipertrofisini inhibe etme kabiliyetine ek olarak, fizyolojik uyarıların neden olduğu kalp hipertrofisini de azaltabilir. Ancak bu durumda, atrogin-1 tamamen farklı bir etki mekanizması kullanır. Fizyolojik kardiyak hipertrofinin uyarılmasına yanıt olarak, atrogin-1, ubiquitination için Foxo1 ve Foxo3 transkripsiyon faktörlerini hedefler. Şaşırtıcı bir şekilde, proteazomal bozunma için Foxo proteinlerini hedeflemek yerine, atrogin-1 aracılı ubiquitination, Forkhead transkripsiyonel aktivitesinin artması ve ardından Akt'ye bağlı hipertrofi indüksiyonunun inhibisyonu ile sonuçlanır (182). Atroginlerin ubiquitination yoluyla Foxo aktivitesini uyarma yeteneği, atrogin-1'in, geleneksel kanonik lizin-48'in aksine, Foxo proteinlerine lizin-63 bağlantılı zincirler yoluyla kanonik olmayan ubiquitin moleküllerinin eklenmesine aracılık etmesinden kaynaklanır. Forkhead transkripsiyon faktörlerinin atrogin-1 aracılı kanonik olmayan yaygınlaşması, kalp içinde çalışan bu düzenleyici mekanizmadır (183).



Şekil 2.6. Atrogin Mekanizması (184).



Şekil 2.7. Aerobik egzersizin AKT/PGC1-α/FOXO3a sinyal yolları ile kas atrofisi ve otofaji üzerin etkisi

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Deney Hayvanları ve Deney Planının Oluşturulması

Araştırmanın etik kurul izni İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan (protokol no: 2020/18-2) alınmıştır. Araştırmada 7 haftalık *Wistar albino* cinsi erkek sıçanlar kullanılmıştır (n:40). Araştırma yapılırken ticari sporcu içeceği verilen gruptan (TSİ+ZE) bir (1) hayvan ölmüştür.

Araştırma, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Deney süresince sıçanlar 20 ± 2 C sıcaklıkta, 12 saat gece-gündüz döngüsü sağlanmış ortamda, uygun nem ve *ad libitum* ile beslenmiştir.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Literatür incelenerek Akonitaz (185) enzim düzeylerindeki değişimin anlamlı çıkabilmesi için yapılan Power analizi sonucu tip 1 hata (α) 0.05, tip 2 hata (β) 0.20 (Güç=0.80) ve etki büyüklüğü (d) 0.63 olarak kabul edildiğinde, örneklem sayısı her bir grup için en az hayvan sayısı 8 (Sekiz) ve toplam 32 (otuziki) hayvan olarak hesaplandı. Daha önce yaptığımız çalışmalar ve edindiğimiz deneyimler sonucu uzun süreli ağır koşu bandı egzersiz protokolünün hayvanların gerektiği şekilde koşamaması, koşmaya direnmesi ve zorlu koşu egzersizinin oluşturduğu stresin hayvan ölümlerine neden olduğu görülmüştür. Nitekim Narath ve arkadaşlarının 2001 yılında sıçanlarda yaptıkları gönüllü ve zorlu egzersizin, yaşlanan erkek sıçanların hayatta kalmasını ve vücut kompozisyonunu farklı şekilde etkileri çalışmalarında; zorlu koşu bandı egzersizin hayvan ölümlerine neden olduğu gösterilmiştir (186). Her ne kadar Power analizinde grup başına 8 hayvan (n=8) olarak hesaplanmış olsa da yukarıdaki nedenlerden dolayı yapmayı planladığımız çalışmada elde edilecek sonuçların güvenilirliği ve geçerliliğin etkilenmemesi için grup başına 10 (n=10) toplamda 40 (n=40) hayvan çalışmaya dâhil edildi. Hayvanlar, 12 saatlik aydınlık/karanlık döngülerine maruz bırakılarak deneye başlamadan önce 1 hafta süreyle egzersize uyumu sağlandı.

1. Grup: Kontrol grubu (n:10)
2. Grup: Zorlu Egzersiz grubu (n:10)
3. Grup: Zorlu egzersiz ve Ticari sporcu içeceği verilen grup (n:9)
4. Grup: Zorlu egzersiz ve kayısı katkılı sporcu içeceği verilen gruptur. (n:10)

3.2.1. Hayvanların Ağırlıklarının Ölçümleri

Araştırmaya başlamadan önce hayvanlar, her hafta egzersiz öncesinde ve egzersiz sonlandırılmadan bütün gruplardaki hayvanlar içinde bulunan kabın darası alınarak tartılmıştır. Elde edilen veriler not edilmiş ve Excel'e aktarılmıştır.

3.2.2. Deney Süreci ve Protokolü

Sıçanlara uygulanan girişimler İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Araştırma süresince tüm gruplar 20 ± 2 C sıcaklıkta, uygun nem ve 12 saat gece-gündüz döngüsü olacak şekilde barındırılmıştır. Hayvanlar çalışmaya başlarken ve her hafta kilo, yem tüketimi tartıldı. Kontrol grubundaki (grup 1) sıçanlara normal bakımı devam ettirildi ve egzersiz yaptırılmadı. Zorlu egzersizine başlamadan önce ikinci, üçüncü ve dördüncü gruplardaki sıçanlar aşağıda anlatıldığı gibi koşu bandında koşmaya adapte edildi. Adaptasyon, ikinci, üçüncü ve dördüncü gruplardaki sıçanlar hafta içi 5 gün 15'er dakika ve eğim 0 olmak üzere 1 hafta boyunca koşturuldu. Egzersiz çizelgesi Tablo3.1'de gösterildiği üzere; koşu bandı egzersizi yaptırılan sıçanlara, adaptasyon haftasından sonra 10 hafta, hafta içi 5 gün olacak şekilde çalışma süresi seans başına aşamalı olarak 15 dakikadan 60 dakikaya çıkarttırıldı. Koşu bandı hızı 45 cm/sn-1 ' ye eğim ise, 18° 'lik bir son derece eğimine ulaşmak için 2-3° 'lik artışlarla 11 haftalık koşu bandı egzersiz protokolü uygulanıldı (187). Şekil 3.1'de gösterildiği gibi sıçanlara zorlu koşu bandı egzersiz programı uygulandı.

Tablo 3.1. Şıçanlara uygulanacak egzersiz protokolü

		Haftalar							
Günler		1	2	3	4	5	6	7	8-10
	cm · sn ⁻¹	17	17	19	22	28	32	37	45
Pazartesi	Eğim(°)	5	10	15	15	15	15	18	18
	Dakika	15	60	60	60	60	60	60	60
	cm · sn ⁻¹	17	17	19	22	28	32	37	45
Salı	Eğim(°)	5	13	15	15	15	15	18	18
	Dakika	15	60	60	60	60	60	60	60
	cm · sn ⁻¹	17	17	19	22	28	32	37	45
Çarşamba	Eğim(°)	5	13	15	15	15	15	18	18
	Dakika	15	60	60	60	60	60	60	60
	cm · sn ⁻¹	17	17	19	22	28	32	37	45
Perşembe	Eğim(°)	8	15	15	15	15	15	18	18
	Dakika	15	60	60	60	60	60	60	60
	cm · sn ⁻¹	17	17	19	22	28	32	37	45
Cuma	Eğim(°)	8	15	15	15	15	15	18	18
	Dakika	15	60	60	60	60	60	60	60

**Şekil 3.1.** Zorlu egzersiz programının uygulanması

Tablo 3.2’de gösterildiği üzere grup-1, grup-2 içerisindeki hayvanlara çalışma sonuna kadar herhangi bir girişimde bulunulmadı. Grup-3 içerisindeki hayvanlara 7. haftadan sonra Şekil 3.2’ deki gibi oral gavaj yöntemiyle Ticari sporcu içeceği, Grup-4 içerisindeki hayvanlara da oral gavaj yöntemiyle Kayısı katkılı sporcu içeceği verildi (188, 189) .

Tablo 3.2. Sıçanlara uygulanan işlemler

Gruplar	Hayvan Sayısı	Uygulanan madde ve dozu	Uygulama Yapılan Gün Sayısı
Grup-1(Kontrol)	10	-	-
Grup-2(ZE)	10	-	-
Grup-3(ZE+TSİ)	9	1.5 ml / 100 g Ticari Saporcu içeceği(TSİ)	20
Grup-4(ZE+KKSİ)	10	1.5 ml / 100 g Kayısı Katkılı Sporcu İçeceği(KKSİ)	20



Şekil 3.2. Oral Gavaj yöntemiyle TSİ ve KKSİ'nin verilmesi

3.3. Ticari Sporcu İçeriğinin Analizi

Ticari sporcu içeceği, İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gökhan DURMAZ ve ekibi tarafından Gıda Mühendisliği Laboratuvarında ölçümleri yapılmıştır. Bu amaçla ön çalışma aşamasında ticari bazlı sporcu içeceği İnönü Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS) yöntemiyle bileşimsel özellikleri incelendi, 1 lt için 445 mg sodyum, 140 mg potasyum, 20.58 mg kalsiyum ve 10.54 mg magnezyum olarak ölçülmüştür. Ayrıca İnönü Üniversitesi Gıda Bilimleri Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gökhan DURMAZ Gıda Mühendisliği Laboratuvarında yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPCL) cihazıyla ticari sporcu içeceğinin bileşimsel özelliklerini

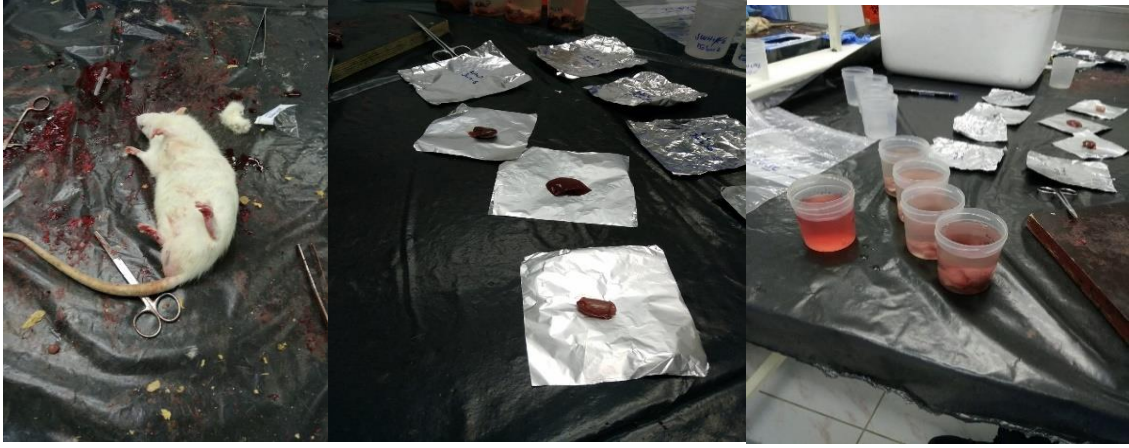
incelenip, 1 lt için 39 gr şeker ve briksi 4.4 olarak ölçülmüştür. Ticari sporcu içeceği bileşenleri baz alınarak kayısı katkılı sporcu içeceği formülasyonu oluşturulmuştur.

3.4. Kayısı Katkılı Sporcu İçeceğinin Hazırlanması

Kayısı katkılı sporcu içeceği, İnönü Üniversitesi Gıda Bilimleri Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gökhan DURMAZ ve Çiğdem ÖZDEN ile Gıda Mühendisliği Laboratuvarında hazırlanmıştır. Bu amaçla Malatya yöresine ait olan Hacıhaliloğlu kayısı çeşidi kullanılmıştır. Ön çalışmamızda Hacıhaliloğlu çeşidine ait kayısılar Malatya Şekerciler San. Ve Tic. Ltd. Şti. firması tarafından kayısı suyu haline getirildikten sonra İnönü Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS) yöntemiyle bileşimsel özellikleri incelenerek 1 lt. için 16.5 mg sodyum, 64.5 mg potasyum, 2.3 mg kalsiyum ve 1.8 mg magnezyum olarak ölçülmüştür. Ayrıca İnönü Üniversitesi Gıda Bilimleri Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gökhan DURMAZ ve Çiğdem ÖZDEN ile Gıda Mühendisliği Laboratuvarında HPCL cihazıyla kayısı suyunun şeker oranı incelenip 1lt için 26.5 gr şeker ve briksi 19.6 olarak ölçülmüştür. Ticari sporcu içeceği briksi baz alınarak hazırlanacak kayısı suyu 4.5 kat saf su ile seyreltilmiştir. Kayısıdan gelen potasyum, şeker ve diğer bileşenler dikkate alınarak formülasyondaki değerler azaltılmıştır. Şeker olarak Malatya Şekerciler San. ve Tic. Ltd. Şti. firması tarafından temin edilen invert şeker (glukoz+fruktoz) kullanılmış olup potasyum, sodyum, kalsiyum ve magnezyum tuz formunda alınarak fomülasyona ilave edilmiştir. Ticari sporcu içeceği formülasyonundaki bileşenler baz alınarak 1 lt kayısı katkılı sporcu içeceği için 810 gr saf su ve 180 gr kayısı karışımı, 12.5 gr şeker (glukoz+fruktoz), 8.7 mg magnezyum, 429 mg sodyum, 76 mg potasyum, 17.7 mg kalsiyum ilave edilerek homojenize edilip kayısı katkılı sporcu içeceği hazırlanmıştır.

3.5. Deneyin Sonlandırılması ve Doku Örneklerinin Toplanması

Yukarıdaki protokol (Tablo 3.2.) çerçevesinde girişim uygulanan sıçan gruplarına çalışmanın son günü 45 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg ksilazin verilmiştir. Anestezi sonrası kalplerinden kan alınarak sakrifiye edilmiştir. Deney sonrasında sıçanların Gastrocnemius ve sol ventrikül kaslarından örnekleri alındı (Şekil 3.3.). Alınan Gastrocnemius ve sol ventrikül doku örneklerinin bir kısmı nitrojen tankına atıldı ve analizler yapılana kadar -84°C derecede saklandı.



Şekil 3.3. Sıçanlardan doku örneklerinin alınması

3.6. Analiz Yöntemleri (Genetik Analizler)

Genetik analizler, ELISA ve transmisyon elektro mikroskobu için alınan Gastrocnemius ve sol ventrikül doku örneklerinde gerçekleştirilmiştir. Genetik analizler, ELISA için alınan dokular - 84°C'den çıkarılmış ve buz aküsü üzerine konulmuştur.

3.6.1. Total RNA İzolasyonu

Moleküler çalışmaların yapılabilmesi amacıyla Total RNA izolasyon kiti (Qiagen RNeasy Mini Kit kat. no. 74104) kullanılarak sol ventrikül ve kas dokusu örneklerinden öncelikle homojenizat eldesi ve homojenizattan total RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Bu kitin içeriği aşağıda belirtilmiştir:

1. RLT tamponu (45 ml)
2. RPE tamponu (Konsantre, 11 ml)
3. RW1 tamponu (Etanol içerir, 45 ml)
4. Ribonükleazdan arındırılmış su (10 ml)
5. RNeasy mini spin kolon (50 adet)
6. 1,5 ml ependorf tüp (50 adet)
7. 2 ml toplama tüpü (50 adet)

Ön hazırlık aşaması olarak 1 ml tampon RLT'ye 10 µl β-merkaptoetanol eklenildi. Konsantre RPE tamponu hacminin 4 katı etil alkol ilavesi ile dilüe edildi. Toz halindeki DNAse I üzerine 600 µl ribonükleazdan arındırılmış su eklenerek DNase I stok solüsyonu hazırlandı.

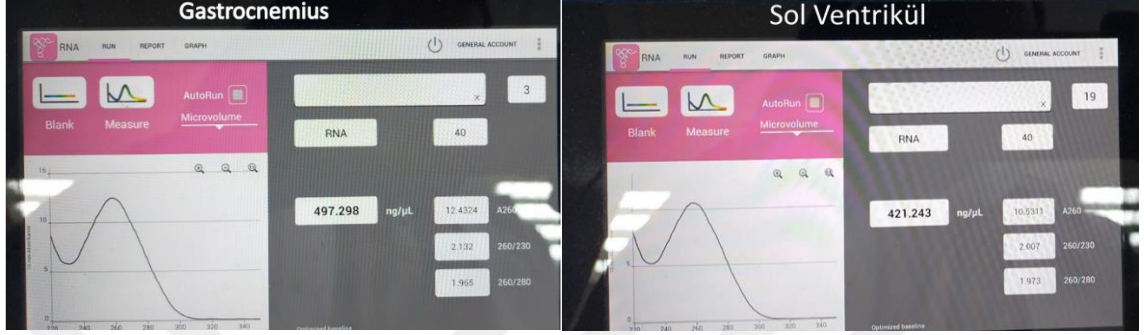
Hassas terazide tartılarak 60 mg olacak şekilde alınan dokular sıvı azot varlığında ezilmiştir. Ezilen dokular homojenizasyon tüpüne aktarılmış üzerine 600 µl RLT + βME karışımı ilave edilmiştir. Buzlu ortamda 30 dönüş/dakika (rpm) hızda 3 dakikada homojenizasyon işlemi tamamlanmıştır.

Homojenizata 1 hacim %70 etanol eklenildi ve pipetleme yaparak iyice pipetajla karıştırılmıştır. Süpernatant ve etil alkol karışımından yaklaşık 700 µl toplama tüpü içine yerleştirilmiş olan mini spin kolon membranına pipetleyerek +22 °C'de 8000 g'de 15 saniye santrifüj edilmiştir. Toplama tüpüne biriken sıvı atılmış sonrasında kalan süpernatantetil alkol karışımı toplama tüpü içine yerleştirilmiş olan mini spin kolon membranına pipetlenerek +22 °C'de 8000 g'de 15 saniye santrifüj edilmiştir. 700 µl RW1 tamponundan mini spin kolon membranına pipetleyerek 22 °C'de 8000 g'de 15 saniye santrifüj edildi. Toplama tüpüne biriken sıvı atılmıştır. 500 µl Buffer RPE tamponundan mini spin kolon membranına pipetleyerek 22 °C'de 8000 g'de 15 saniye santrifüj edilmiştir. Toplama tüpünde biriken sıvı atılmıştır. 500 µl Buffer RPE tamponundan mini spin kolon membranına pipetleyerek 22 °C'de 8000 g'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpüne biriken sıvı atılmıştır. Mini spin kolon ependorf tüpüne yerleştirilmiştir. 45 µl ribonükleazdan arındırılmış su, mini spin kolon membranına pipetlenerek 22 °C'de 8000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası ependorf tüpte elde edilen total RNA -20 °C'de saklanmıştır.

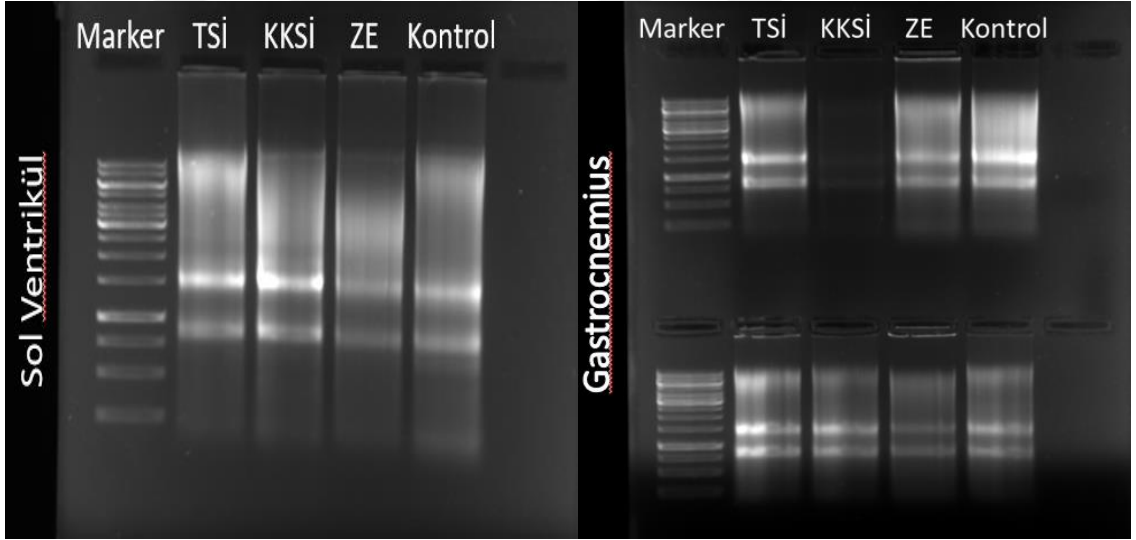
3.6.2. Total RNA Konsantrasyonu Ölçümü ve Kalitesinin Kontrolü

Elde edilen total RNA örneklerinden 1 µl alınarak 230, 260 ve 280 nanometre (nm) dalga boyundaki absorbands ölçümleri (A230, A260, A280) spektrofotometrede (NanoDrop, ND1000) yapıldı. Nükleik asitler 260 nm, proteinler ve özellikle aromatik aminoasitler 280 nm, fenolat iyonu, tiyosiyanat ve başta polisakkaritler olmak üzere organik diğer bileşikler 230 nm dalga boyunda güçlü absorbands vermektedirler. RNA'nın 260 nm'de ölçülen 1 optik dansitesi 40 µg/ml'ye eşittir. Buna göre, örneklerin total RNA konsantrasyonları $40 \times A_{260} = \text{RNA konsantrasyonu (ng/µl)}$ formülüne göre hesaplatıldı. Konsantrasyonu 497 ng/µl ve üzeri olan örnekler (Şekil 3.4) ileri basamaklarda kullanıldı. Protein kontaminasyonunu değerlendirmek için A260/A280 oranına bakılmıştır. 1.8 ve üzeri orana sahip örnekler saf kabul edilmiştir. Karbonhidrat ve diğer organik bileşikler kontaminasyonun değerlendirmek için A260/A230 oranına bakılmıştır. 1.5 ve üzerindeki oranlara sahip örnekler saf kabul edilmiş ve ileri basamaklarda kullanılmıştır. Konsantrasyonu, A260/A280 ve A260/A230 değerleri

kriterlere uyan örneklerde total RNA'ların intact kaldığını göstermek amacıyla her örnekten 1000 ng alınarak % 1'lik agaroz jelde 50 dakika boyunca 80 voltta yürütülüp ultraviyole kamerada görüntülendi (Şekil 3.5). 28S ve 18S RNA bantlarının görülmesiyle total RNA'da hasarlanma olmadığı kabul edilerek sonraki aşamalar için kullanıldı.



Şekil 3.4. Sol ventrikül ve Gastrocnemius dokusuna ait total RNA konsantrasyonları



Şekil 3.5. Gastrocnemius ve Sol ventrikül dokusuna ait mRNA ekspresyon bant görüntüleri

3.6.3. Total RNA'lardan cDNA Sentezlenmesi

Bu çalışmada total RNA'dan mRNA ekspresyon düzeylerini kantitatif olarak ölçmek için ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) kullanılmış ve total RNA'dan komplementer deoksiribonükleik asit (cDNA) sentezlenerek istenilen DNA dizisi PCR ile çoğaltılmıştır. PCR sonrası elde edilen ürünler jel elektroforez yöntemi ile görüntülenmiştir.

Total RNA'dan mRNA sentezlemek için cDNA sentez kiti (SensiFAS cDNA Synthesis Kit, BIO-65053 Bioline) kullanılmıştır. Üreticiden temin edildikten sonra derin dondurucuda (-20 °C) muhafaza edilmiştir. PCR işlemi için RNA, su ve reaksiyon için gerekli tampon miktarı hesaplanmış sonrasında RNA eldeleri steril kabin içerisine buz aküsü üzerine konumlandırılmıştır. RNA 'dan 1 µg alınarak üzerine 4 µl distile su, 1 µl reverse-transkriptaz (RT) 4 µl RT-tamponu ve 1 µl primer mix eklenmiştir. 30 saniye boyunca 10000 rpm'de santrifüj edildikten sonra 65 C'de 5 dakika, 25 C'de 10 dakika, 50 dakika boyunca 50 C 'de 85 C'de 5 dakika inkübe edilmiştir (Tablo 3.3). (Thermal Cycler, Bio Rad). PCR'da +4 °C'ye kadar soğutulduktan sonra elde edilen cDNA örnekleri 20 µl RNA'sız su ependorfa eklenerek bir sonraki sonra ki aşamalarda kullanılmak üzere derin dondurucuda (-20 C) saklanmıştır.

Tablo 3.3. PCR Koşulları

PCR Koşulları		
	Sıcaklık	Zaman
1.Adım	65°C	5 dk
2.Adım	25°C	10 dk
3.Adım	50°C	50 dk
4.Adım	85°C	5 dk
5.Adım	4°C	∞

3.6.4. RT- PCR Analizi

İn vitro koşullarda, polimeraz zincir reaksiyonu ile nükleotid dizinleri bilinen DNA moleküllerinin tamamı veya molekülün belirli kısımları büyük miktarlarda oluşturulabilmektedir. cDNA'daki özgün bir bölgenin çoğaltılabilmesi için bu bölgedeki nükleotid dizinlerini bilmek ve o bölgeye özgün kopyalama işlemini başlatabilecek primerler gerekmektedir. Araştırılacak DNA'da eşleniği olan DNA oligonükleotid dizileri olan primerler, 15-20 bazdan oluşmakta ve tamamlayıcı DNA ipliklerinden karşıt yönlerde DNA sentezi başlatabilmek için forward ve reverse olmak üzere (Beclin, Atg12, ACT1, Atrogin) iki adet kullanılmaktadır. Kalıp DNA'nın iki ipliğini ayırabilmek için yüksek sıcaklığa çıkarılarak reaksiyon başlatılıp, primerlerin kendilerine karşılık gelen diziler ile eşleşmesi için sıcaklık düşürülmektedir. Ortama eklenen yüksek sıcaklığa dayanıklı polimeraz enzimi (Taq DNA polimeraz) primerleri

kullanarak her iki iplikteki kalıba tamamlayıcı yeni bir iplik sentezini başlatmaktadır. Çoklu ısıtma soğutma döngüleri ile 2 siklus sayısı – 2 x siklus sayısı kadar kopya elde edilmektedir. PCR’de kullanılan primerlerin dizinleri ile çoğaltılan hedef DNA dizinleri Tablo 3.4’de yer almaktadır.

Tablo 3.4. Beclin, Atg12, ACT1, Atrogin için primer dizinleri

Hedef DNA	Forward Primer (Sense)	Reverse Primer (Antisense)
Beclin	AAGATTGAAGACACTGGAGGCA	GAGGACACCCAAGCAAGACC
Atg12	GCCTCGGAGCAGTTGTTTATT	TCCCCATGCCTGTGATTTGC
Atrogin	CTACGATGTTGCAGCCAAGA	GGCAGTCGAGAAGTCCAGTC
ACT1	TCATGAAGTGTGACGTTGACATCC	GTAAAACGCAGCTCAGTAACAGTC

Qiagen RT²SYBR Green qPCR Mastermix master mix 10 µl, gene özgü ekspresyon örneğinden 1 µl ve distile sudan 7 µl olacak şekilde karışım hazırlandıktan sonra, 2 µl cDNA’dan, 18 µl hazırlanan karışımdan kullanılarak kuyucuklara eklenmiş ve aşağıdaki prosedür izlenmiştir (Tablo 3.5.).

Tablo 3.5. Real Time PCR ingradiyent miktarları

İngradiyent	Bir örnek için hacim
RT ² SYBR Green qPCR Mastermix	10 µl
(Forward + Reverse) primerler	1 µl
PCR Grade Su	7 µl
cDNA	2 µl
Toplam	20 µl

Quantitive Real-Time PCR (StepOnePlus™ Real-Time PCR System) çalışması için elde edilen cDNA örnekleri kullanılmıştır. Gen ekspresyon seviyelerinin analizi için Qiagen (RT²SYBR Green qPCR Mastermix, Almanya) kullanılmıştır. Beclin, Atrogin, Atg12 gen ifadeleri için bu genlerin normalizasyonu hamarat gen (housekeeping gene) olan ACT1 kullanılmıştır. Bu çalışmada PCR yöntemindeki sonuçları doğrulamak için Real-Time PCR (qRT-PCR) cihazı kullanılarak qRT-PCR çalışması yapılmıştır.

Örneklerin PCR’da floresan sinyal miktarının gözlenebilmesi için gereken minimum değeri geçtiği döngü sayısı eşik döngüsü (cycle threshold, CT) değeri ile ifade edilmektedir. Çalışılan bir örneğin, Housekeeping geni ile araştırılan geninin CT değerleri arasındaki fark, ΔCT değerini vermektedir. Çalışılan örneğin ΔCT değeri ile kontrol örneğin ΔCT değeri arasındaki fark, yani iki ΔCT değeri arasındaki fark, $\Delta\Delta CT$ değerini ifade eder. RT-PCR’ın her döngüsünde DNA miktarı 2 katına çıktığı için, $\Delta\Delta CT$ farkı değerlendirilirken $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüyle hesaplanmaktadır ve araştırılan örneğin gen ekspresyonunun, kontrol örneğe kıyasla kaç kat artış gösterdiği belirlenebilmektedir.

3.7. Genomik DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, QIAamp DNA Mini Kit (Catalog no:51304, Almanya, Qiagen)’i yardımıyla ve üretici firmanın protokolüne uygun olarak, sol ventrikül ve kas dokusu örneklerinden öncelikle homojenizat eldesi ve homojenizattan DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu kitin içeriği aşağıda belirtilmiştir:

1. 2 ml toplama tüpü (50 adet)
2. QIAamp Mini spin kolonları (50 adet)
3. Buffer AL (12ml)
4. Buffer ATL (14ml)
5. Buffer AW1 (19ml)
6. Buffer AW2 (13ml)
7. Buffer AE (2x15 ml)
8. Proteinaz K (1,25ml)

Hassas terazide tartılarak 40 mg olacak şekilde alınan dokular sıvı azot varlığında ezilmiştir. Ezilen dokular homojenizasyon tüpüne aktarılmıştır. Buzlu ortamda 30 dönüş/dakika (RPM) hızda ve 3 dakikada homojenizasyon işlemi tamamlanmıştır. Dokular 1.5 ml’lik bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiştir. 180 µl Buffer ATL ve 20 µl Proteinaz K pipetaj yapılarak eklenmiştir. Vorteks yardımı ile karıştırıldıktan sonra 56°C’de 2 saat ısı bloğunun üzerinde inkübasyona bırakılmıştır. Vorteks yardımı ile karıştırıldıktan sonra 200 µl Buffer AL eklenilip 15 saniye vorteksleyerek iyice karıştırılmıştır. 70°C’de 10 dakika ısı bloğunun üzerinde inkübasyona bırakıldı. 200 µl etanol (%96-100) eklenilmiş 15 saniye vortekslenmiştir. Kapaktaki damlaları gidermek için tüpü kısa süre santrifüj edilen tüpün içeriği kolan tüpüne aktarıldı. 1 dakika boyunca 6.000×g’ de santrifüj yapıldıktan sonra kolon

tüpünün altındaki toplama tüpü, yenisi ile değiştirilmiştir. 500 µL AW1 tamponu eklenmiştir. 1 dakika boyunca 6.000×g' de santrifüj yapıp toplama tüpü yenisi ile değiştirildi. 500 µL AW2 tamponu eklenmiştir. 1 dakika boyunca 20.000×g' de santrifüj yapıp toplama tüpü yenisi ile değiştirilmiştir. Bu sırada temiz mikrosantrifüj tüpü hazırlanmıştır. Santrifüjden çıkan kolon tüpü, toplama kısmı çöpe atılarak, bu mikrosantrifüj tüpünün içine oturtulmuştur. Tüpün içine 200 Buffer AE µL eklenip 1,5 dakika boyunca oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. 1 dakika boyunca 6,000×g 'de santrifüj yapıp ve üst kısımdaki kolon tüpü çöpe atılmıştır. İzolasyon sonrası ürünün saflığı ve miktarı NanoDrop sistemi (NanoDrop, ND1000) kullanılarak ölçüm yapılmıştır.

3.7.1. PCR ile mtDNA Kontrol Bölgesi Çoğaltımı

Önceki basamaklar sonucunda elde edilen mtDNA'lar, Quantiti ve Real-Time PCR (StepOnePlus™ Real-Time PCR System) çalışması için kullanılmıştır. Gen ekspresyon seviyelerinin analizi için Qiagen (RT²SYBR Green qPCR Mastermix), Almanya kullanılmıştır. Tablo 3.6' daki gibi, Gen ekspresyonu için aşağıdaki prosedürler uygulanmıştır.

Tablo 3.6. Real Time PCR ingradyent miktarları

İngradyent	Bir örnek için hacim
RT ² SYBR Green qPCR Mastermix	10 µl
(Forward + Reverse) primerler	1 µl
PCR Grade Su	7 µl
mtDNA	2 µl
Toplam	20 µl

Tablo 3.7' deki gibi, COXII gen ifadeleri için bu genlerin normalizasyonu hamarat gen (housekeeping gene) olan 36B4 geni kullanılmıştır. Hazırlanan tüpler, PCR cihazına (The Applied Biosystems®, 2720 Thermal Cycler) yerleştirilmiştir.

Tablo 3.7. COXII ve Housekeeping gen primer dizilimleri

Hedef DNA	Forward Primer (Sense)	Reverse Primer (Antisense)
COXII	TCTACTATTCGGAGCCTGAGC	CAAAAGCATGGGCAGTTACG
36B4	CGACCTGGAAGTCCAACACTAC	ATCTGCTGCATCTGCTTG

3.8. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Yöntemi ile Akonitaz Aktivitesi Ölçümü

Çalışma sonunda sıçanlardan alınan kas ve kalp dokuları, fosfat tamponu içinde homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatlar, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında, Prof. Dr. Ahmet Koç gözetiminde ELISA yöntemi kullanılarak kas ve kalp doku homojenatında Akonitaz enzim düzeyleri ölçülmüştür.

ELISA kiti oda sıcaklığına getirilmiş ve homojenatlar çözününceye kadar bekletilmiştir. Assay buffer (tahlil tamponu) açılmadan önce kısaca santrifüj edilmiştir. Substrate 220 µL su ile sulandırılmıştır. Pipetle iyice karıştırılıp developer (geliştirici) 1,1 mL Substrate ile sulandırılmıştır. Aconitase Activation Solution (Aconitase Aktivasyon Solüsyonu) Sistein ve $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ 'yi her biri 0,5 mL Assay buffer ile sulandırılmıştır. Pipetle iyice karıştırılmıştır. Plate, paketinden çıkarılmıştır. Tüm numuneler ve standartlar iki kopya halinde çalıştırılmıştır. 2 mM standart çözelti için 490 µL Tahlil Tamponu içeren standart çözelti. 0 (boş), 4, 8, 12, 16 ve 20 nmol/kuyu standartları oluşturulmuş 96 oyuklu bir plakaya 2 mM standart çözeltinin 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 uL'sini eklenmiştir. Hacmi 50 µL'ye getirmek için her kuyucuğa Tahlil Tamponu eklenmiştir. Hassas terazide tartılarak 40 mg olacak şekilde alınan dokular test tamponunda homojenize edilmiştir. Çözünmeyen materyali çıkarmak için dokular 20.000 g'de 15 dakika 4 C'de santrifüj edildikten sonra 20 saniye boyunca sonikasyon yapılmıştır. Dokuları etkinleştirmek için 100 µL dokuya 10 µL Aconitase Aktivasyon Solüsyonu eklenilip buz üzerinde 1 saat inkübe edilmiştir. Kuyular 25 µL aktif numune eklenip örnekleri Assay Buffer ile 50 µL'lik son hacme getirilmiştir.

Reaksiyon karışımları Tablo 3.8 'deki şemaya göre ayarlanmıştır. Her reaksiyon (kuyu) için 50 µL uygun reaksiyon karışımı şeklinde ayarlanmıştır. Enzim karışımı kullanım sırasında buz üzerinde tutulmuştur.

Tablo 3.8. Elisa Reaksiyon Karışımları

	Dokular	Blank
Assay Buffer	46 µL	48 µL
Enzim karışımı	2 µL	2 µL
Substrate	2 µL	-

Her kuyucuğa 50 µL uygun Reaksiyon Karışımı eklendi. Yatay çalkalayıcı kullanarak veya pipetleyerek iyice karıştırıldı. İnkübasyon sırasında plakayı ışıktan korunarak plakayı 25 C'de 60 dakika inkübe edildi. Her kuyuya 10 µL Developer eklenip, 25 C'de 10 dakika inkübe edildi. 450 nm'de absorbansı ölçüldü.

3.9. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)

Transmisyon elektron mikroskobu, Biyoloji (botanik, hücre biyolojisi), tıp (Adli Tıp, anatomi, mikrobiyoloji, biyokimya, fizyoloji, toksikoloji, patoloji), madde bilimleri ve yeryüzü bilimlerinden elde edilen örnekleri 600.000 kez büyütürken içyapılarını görüntüler. İncelenecek örneklerin ultramikrotomla 80 nm kalınlığında ince kesitleri alınır. Bunlardan dokunun ultrastrüktürel düzeyde incelenmesi yapılır. Hücre organelleri, yapı taşları, mikroorganizmalar, hücre zarı ve hücrenin çekirdeğine bakılır. İki boyutlu bir görüntüyü fosfofluoresan ekran üzerinde oluşturmak için, elektronları örneğin çok ince kesiti içinden geçirir. Görüntünün özel bir alanının parlaklığı örneğin içinden geçen elektronların sayısı ile orantılıdır(43).

Elektron mikroskobik inceleme için alınan 2x2x2 mm boyutlarında sol ventrikül miyokard doku örnekleri alındı. Doku örneklerine 0.1 M NaH₂PO₄ ve NaHPO₄ (pH 7.2–7.3) ile tamponlanmış 2.5 % glutaraldehit içinde üç saat tespit edildikten sonra % 2 Osmiyum tetroksit (OsO₄) ile 2 saat ikincil tespit işlemi uygulandı. Tespit işlemi tamamlanan doku örnekleri artan derecelerdeki aseton (%30, 50, 70, 90 ve 100) ile dehidrate edildi. Dehidratasyon işlemi takiben doku örneklerine araldit (Araldite CY212 kit, Agar scientific Ltd. Stansted Essex, UK) infiltrasyonu (%50 aseton + % 50araldit, % 25 aseton + % 75 araldit, % 100 araldit) uygulandı. Araldit infiltrasyonu işlemi takiben doku örnekleri araldit bloklar içine gömülerek polimerize edildi. Elektron mikroskobik doku takip işlemleri otomatik elektron mikroskobik doku takip cihazı (Leica EM AMW Automatic Microwave Tissue Processor, Leica Microsystems IR GmbH Wetzlar, Hessen, Germany) ile yapıldı. Araldit bloklardan ultramikrotom ile 70 nm kalınlığında ultra-ince kesitler bakır gridler üzerine alındı. Kesitler ise uranil

asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlama işlemini takiben Zeiss Libra 120 Transmission elektron mikroskop (TEM) (Carl Zeiss NTS GmbH, Oberkochen Germany) ile incelenerek fotoğraflar alındı.

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mehmet GÜL ve Arş. Gör. Dr.Semir Gül tarafından, Transmisyon Elektron Mikroskopuyla, alınan örneklerin mitokondriyal yapıları değerlendirildi. Transmission elektron mikroskop (TEM) ile incelenen her kesitte rastgele toplam 100 mitokondriyonun ultrastrüktürel yapısı değerlendirildi. Mitokondriyonlarda izlenen hasar bulguları (krista hasarı ve dilatasyon) bulguları semikantitatif olarak skorlandı (Normal ultrastrüktürel yapıda mitokondriyon (krista hasarı ve dilatasyon yok) = 0, minimal/kısmi krista hasarı ve minimal dilatasyon = +, orta derece krista hasarı ve dilatasyon = ++, şiddetli krista hasarı ve dilatasyon, dejenere mitokondriyon = +++). Ayrıca incelenen kesitlerde kardiyomiyositlerde miyofibril hasarı, vakuolizasyon ve intrasitoplazmik ödem bulguları skorlandı (normal ultrastrüktürel yapı = 0, minimal = +, orta derece şiddette = ++, şiddetli = +++).

3.10. İstatiksel Analiz

3.10.1. Vücut Ağırlıkları, Gen Analizleri ve ELISA Sonuçları İçin İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler, IBM® SPSS Statistics for Windows Version 22.0 ile yapılmıştır. Verilerin tanımlanmasında min-med-max. değerleri kullanılmıştır. Ölçülebilir verilerin normallik testi Shapiro Wilk testi ile yapılmıştır. Tüm grupların ortalama değerleri nonparametrik Kruskal- Wallis testi ile karşılaştırılmıştır. Grupların karşılaştırırken iki bağımsız grup arasında farklılığın önemli olup olmadığı Bonferroni düzeltmeli Mann–Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Sıçanların çalışma öncesinde ve sonrasında ağırlıklarındaki değişikliklerin analizi Wilcoxon W testi kullanılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir (190).

3.10.2. Transmission Elektron Mikroskopik İçin İstatistiksel Değerlendirme

İstatiksel analizler SPSS 13 ve MedCalc programı ile yapıldı. Tüm grupların ortalama değerleri nonparametrik Kruskal- Wallis testi ile karşılaştırıldı. Gruplar arasındaki farklılığın önemli olup olmadığı Bonferroni düzeltmeli Mann–Whitney U testi ile ikili karşılaştırmalar yapılarak değerlendirildi. Bütün sonuçlar ortalama $\pm$

standart hata (SE) şeklinde belirtildi ve $p < 0.0001$ değerleri istatistiksel bakımdan anlamlı olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Hayvanların Vücut Ağırlığı Yem ve Su Tüketimi

4.1.1. Hayvanların Vücut Ağırlığı Değişimleri

Çalışmanın başlangıç ve bitiş haftalarında yapılan kilo ölçümlerine göre her 4 grupta da anlamlı olarak kilo artışı olduğu görülmüştür.

Tablo 4.1’de gösterildiği üzere Grup içi ağırlık değişimi, istatistiksel analizlere göre çalışma sonrası hayvan ağırlıklarında, grup içi ağırlık değişimi tüm gruplar için anlamlıdır ($p<0.05$). Ancak gruplar arasında fark yok, değişim tüm gruplarda benzer bulundu ($p>0.05$)(Tablo 4.2)

Tablo 4.1. Çalışmanın İlk ve Son Haftalarında Hayvanların Kilo Değişimi (Veriler med- (min- max) şeklinde sunulmuştur.)

	1.Hafta (gr) med (min-max)	11.Hafta (gr) med (min-max)	P değeri
Kontrol Grubu	246 (231-269)	379.5 (328-493)	0.005
Zorlu Egzersiz Grubu	255 (234-285)	381.5 (337-405)	0.005
ZE+TSİ Grubu	286 (272-305)	420 (347-448)	0.008
KKSİ+ZE Grubu	213 (180-232)	344.5 (284-390)	0.005

(Farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farkı gösterir ($p<0.05$))

Tablo 4.2. 11. hafta ile 1.hafta arası ağırlık değişiminin gruplar arasında karşılaştırılması

	11.Hafta -1.Hafta (gr) Med (min-max)	P değeri
Kontrol Grubu	132 (97-243)	0.832
Zorlu Egzersiz Grubu	126.5 (52-157)	
ZE+TSİ Grubu	135 (50-169)	
ZE+KKSİ Grubu	129.5 (52-174)	

4.1.2. Hayvanların Su ve Yem Tüketimi Ölçümleri

Çalışmamızda hayvanların 11 hafta boyunca yem ve su tüketimi incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ve bu değişim tüm gruplar arasında benzer bulundu ($p>0.05$) Tablo 4.3.

Tablo 4.3. 11 hafta boyunca hayvanların toplam yem ve su tüketimi

	Kontrol Grubu	ZE Grubu	ZE+TSİ Grubu	ZE+KKSİ Grubu	P Değeri
Yem (kg)	21.04	18.03	18.49	16.48	0.66
Su (Lt.)	38.33	40.00	39.52	33.66	0.44

4.2. Genetik Veriler

4.2.1. Sol Ventrikülde Beclin-1, Atrogin ve Atg12 Düzeylerinin Ölçülmesi

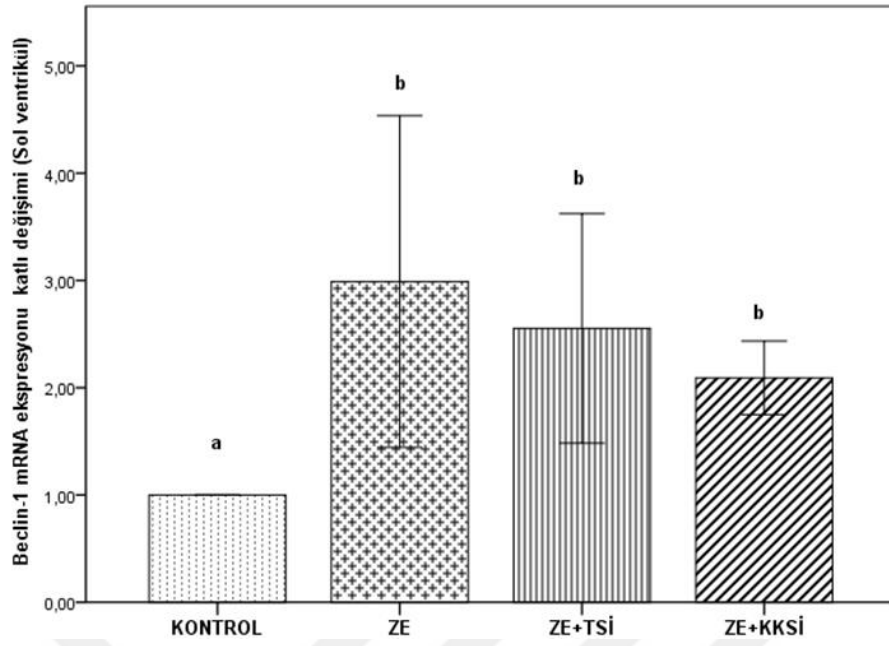
Çalışmamızda, farklı egzersiz gruplarının kontrol gruplarındaki sol ventrikülde Beclin-1, Atrogin Atg12 mRNA ekspresyon seviyeleri ölçülmüştür. Real-Time PCR yöntemiyle elde edilen sonuçlar tablo 4.4’de verilmiştir.

Tablo 4.4. Sol ventrikül Beclin-1, Atrogin ve Atg12 mRNA ekspresyon seviyeleri ölçümü (Veriler med.(min.-max.)şeklinde sunulmuştur.)

	Kontrol Grubu n=9	ZE Grubu n=9	ZE+TSİ Grubu n=9	ZE+KKSİ Grubu n=9	P değeri
Beclin-1	1 ^a (1-1)	2.73 ^b (1.34-4.89)	1.95 ^b (1.72-3.97)	2.29 ^b (1.63-2.34)	<0.001
Atrogin	1 ^a (1-1)	0.673 ^b (0.59-1)	0.72 ^b (0.48-0.82)	0.64 ^b (0.62-0.76)	<0.001
Atg12	1 ^a (1-1)	1.16 ^{a,b} (0.83-1.22)	2.12 ^c (1.45-2.31)	1.30 ^b (0.94-1.42)	<0.001

*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

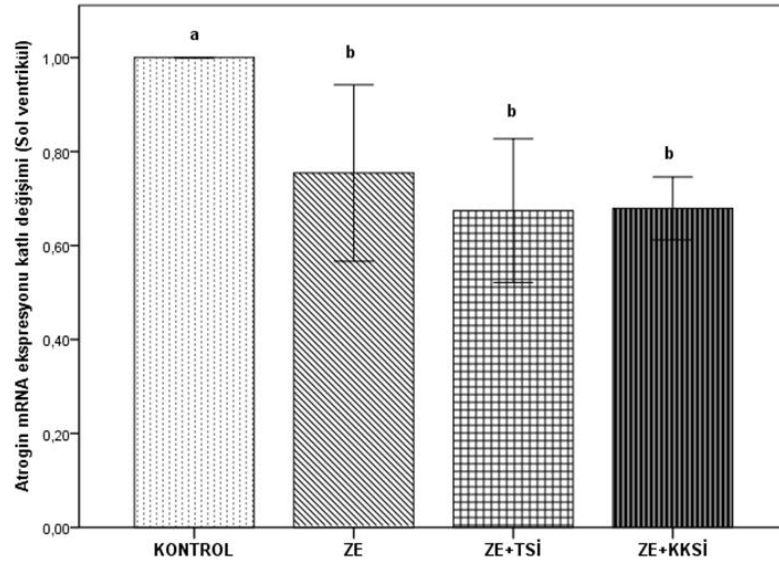
Yapılan Kruskal-Wallis testi sonucuna göre sıçanlardan alınan sol ventrikül doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ gruplar arasında Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.1).



*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Şekil 4.1. Gruplara göre sol ventrikül Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyeleri

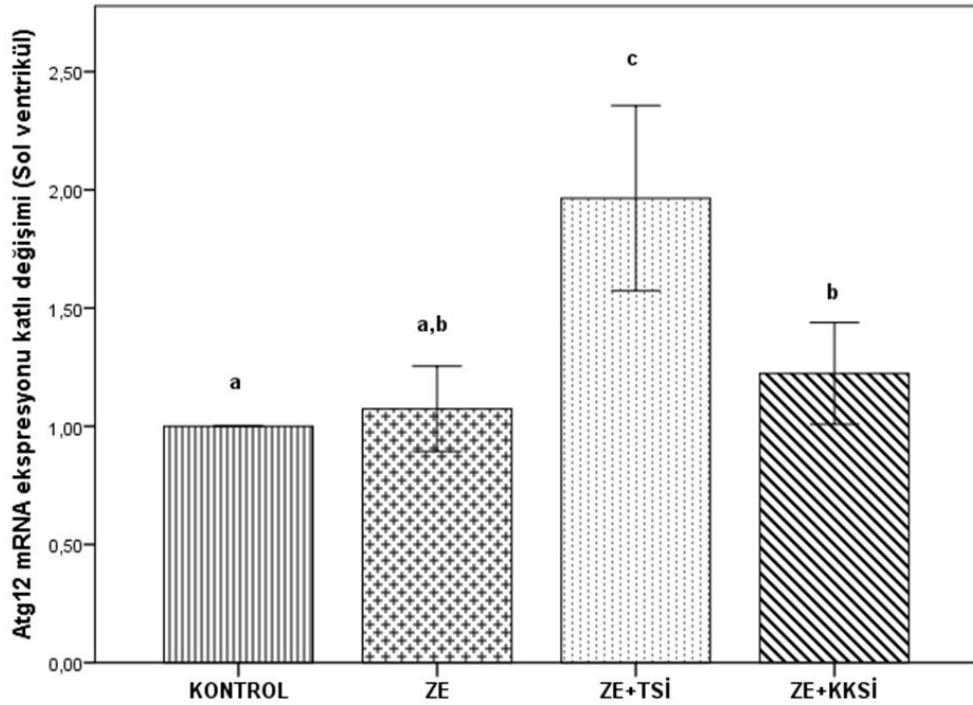
Sıçanlardan alınan sol ventrikül doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda Atrogin mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p < 0,001$). ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ gruplar arasında Atrogin mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.2).



*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Şekil 4.2. Gruplara göre sol ventrikül Atrogin mRNA ekspresyon seviyeleri

Sıçanlardan alınan sol ventrikül doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda Atg12 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). Kontrol ile ZE grubu arasında Atg12 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. ZE grubu grubu ile kıyaslandığında, ZE+TSİ grubunda Atg12 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE ile ZE+KKSİ grubu arasında Atg12 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında, ZE+KKSİ grubunda Atg12 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p<0,001$)(Şekil 4.3).



*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Şekil 4.3. Gruplara göre sol ventrikül Atg12 mRNA ekspresyon seviyeleri

4.2.2. Gastrocnemius Kasında Beclin-1, Atrogin ve Atg12 Düzeylerinin Ölçülmesi

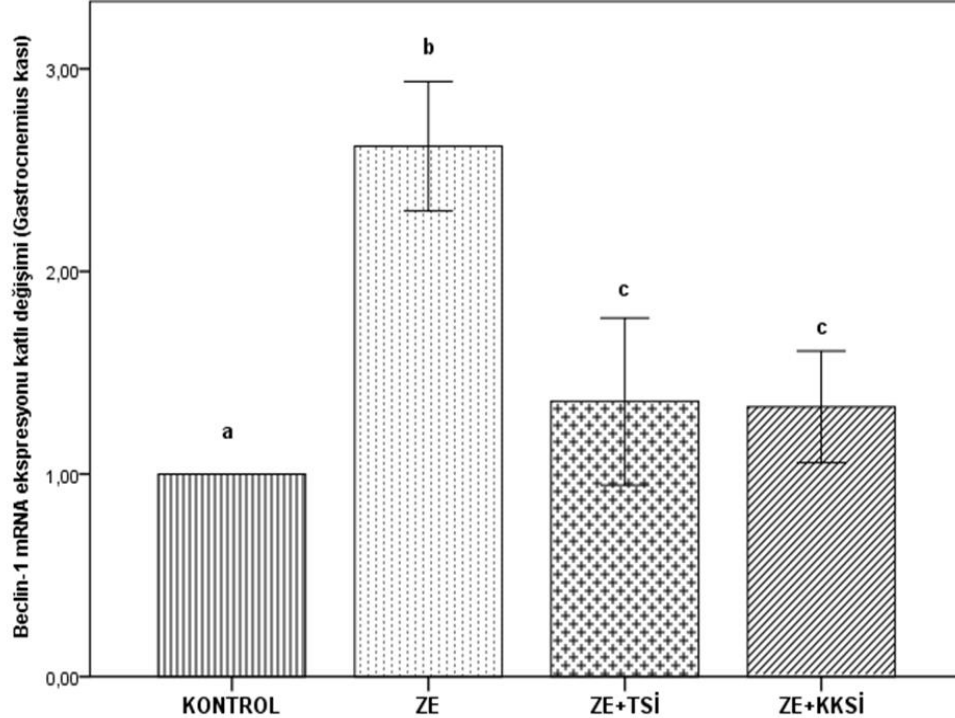
Çalışmamızda, farklı egzersiz gruplarının kontrol gruplarındaki Gastrocnemius kasında Beclin-1, Atrogin Atg12 mRNA ekspresyon seviyeleri ölçülmüştür. Real-Time PCR yöntemiyle elde edilen sonuçlar tablo 4.5’de verilmiştir.

Tablo 4.5. Gastrocnemius Kasında Beclin-1, Atrogin ve Atg 12 mRNA ekspresyon seviyelerinin ölçümü (Veriler med.(min.-max.)şeklinde sunulmuştur.)

	Kontrol	ZE	ZE+TSİ	ZE+KKSİ	P
	Grubu	Grubu	Grubu	Grubu	değeri
	n=9	n=9	n=9	n=9	
Beclin-1	1 ^a (1-1)	2.61 ^b (2.28-2.88)	1.35 ^c (0.88-1.85)	1.25 ^c (1.05-1.68)	<0.001
Atrogin	1 ^a (1-1)	0.19 ^b (0.10-0.25)	0.36 ^c (0.29-0.42)	1.41 ^d (1.35-3.16)	<0.001
Atg12	1 ^a (1-1)	1.11 ^a (0.88-1.22)	1.04 ^a (0.97-1.14)	1.50 ^b (1.38-1.62)	<0.001

*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

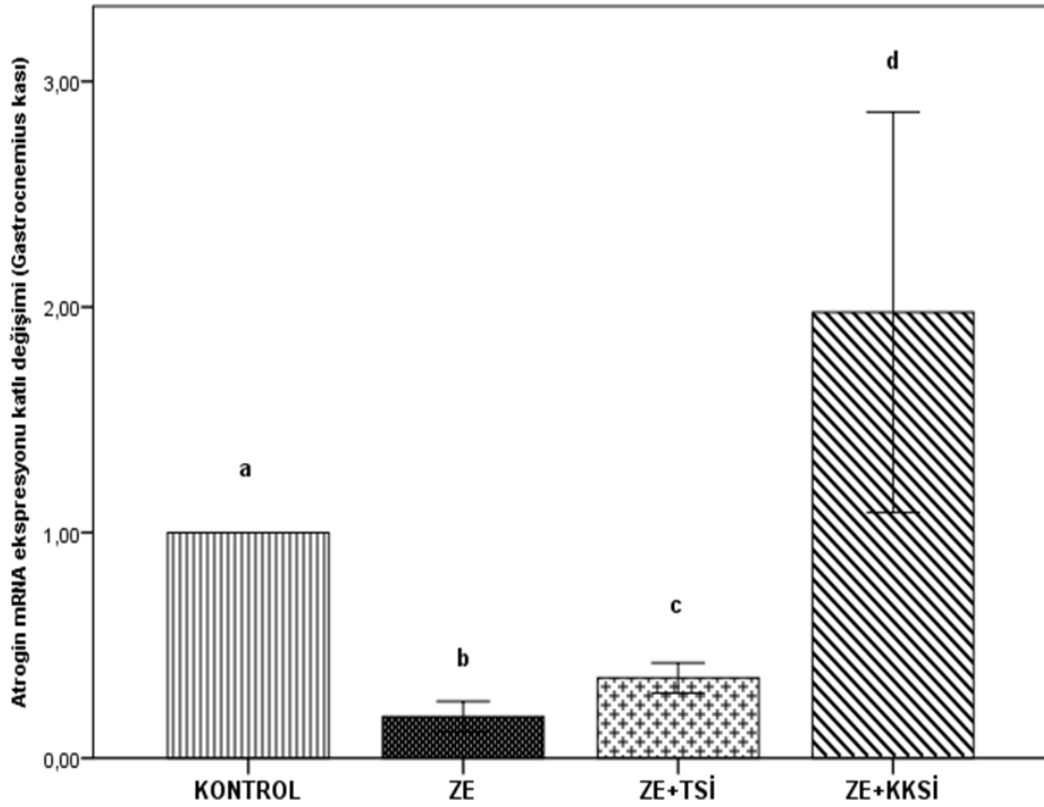
Yapılan Kruskal-Wallis testi sonucuna göre sıçanlardan alınan Gastrocnemius kasındaki doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p<0.001$). Ayrıca ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubu arasında Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.4).



*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Şekil 4.4. Gruplara göre gastrocnemius kası Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyeleri

Sıçanlardan alınan Gastrocnemius kasındaki doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE ve ZE+TSİ grubunda Atrogin mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda Atrogin mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ grubunda Atrogin mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda Atrogin mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda Atrogin mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$)(Şekil 4.5).

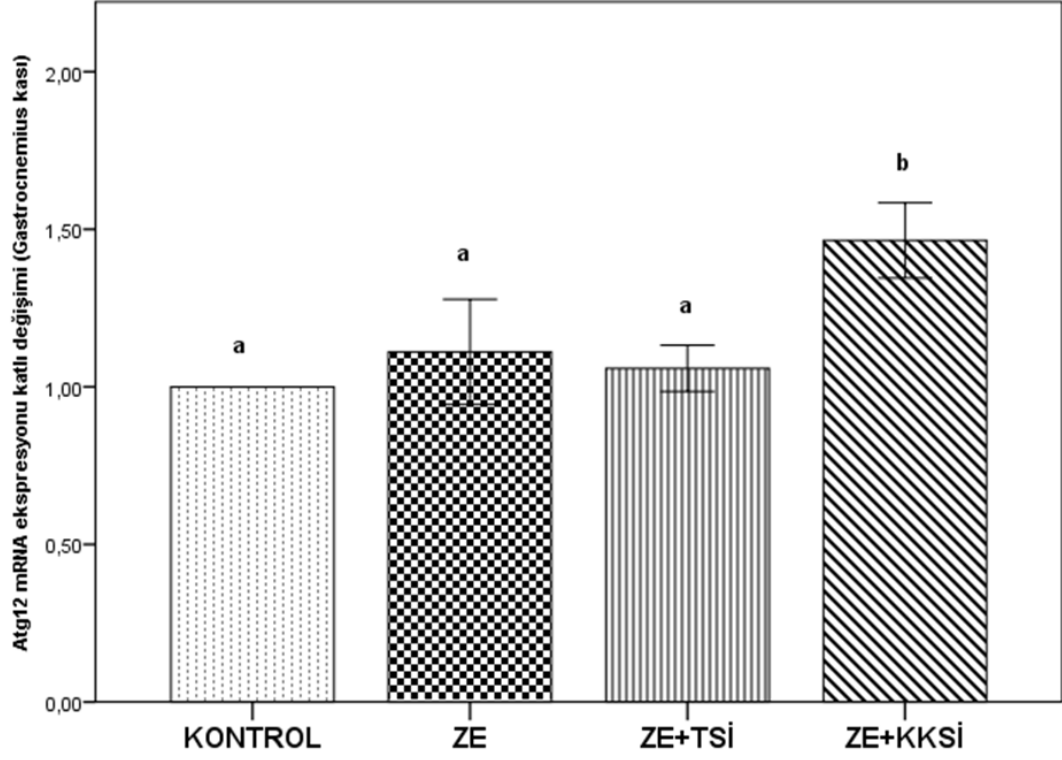


*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Şekil 4.5. Gruplara göre gastrocnemius kası Atrogin mRNA ekspresyon seviyeleri

Sıçanlardan alınan Gastrocnemius kasındaki doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında, ZE+KKSİ grubunda Atg12 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). Kontrol ile ZE ve ZE+TSİ grubu arasında Atg12 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark

bulunmadı. ZE ve ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda Atg12 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$)(Şekil 4.6).



*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Şekil 4.6. Gruplara göre gastrocnemius kası Atg12 mRNA ekspresyon seviyeleri

4.3. Mitokondriyal DNA Sayısının COXII mtDNA ile Ölçümü

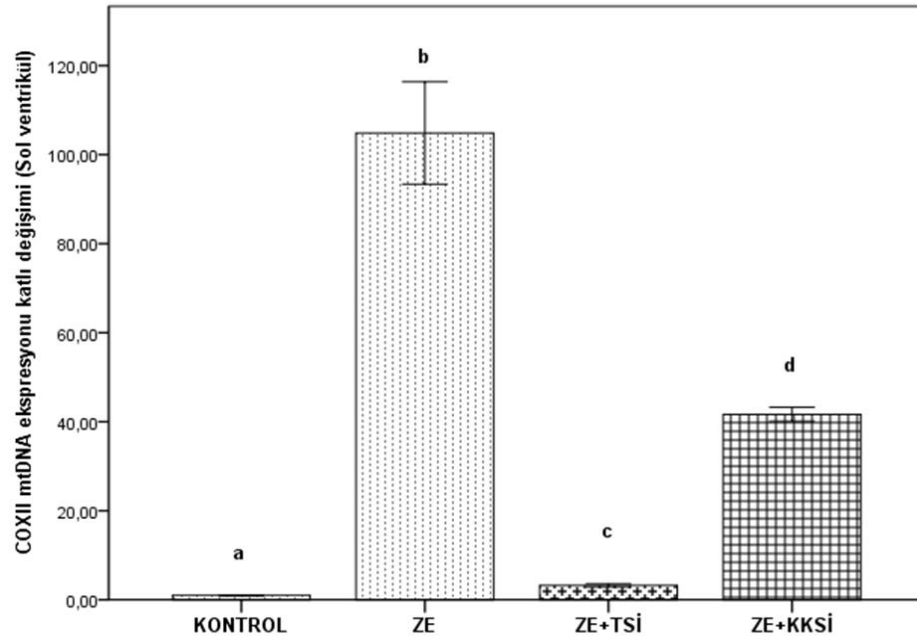
Çalışmamızda, farklı egzersiz gruplarının kontrol gruplarındaki Gastrocnemius ve sol ventrikül kasında elde edilen genomik DNA'lar ile rölatif mitokondriyal DNA içeriği, mitokondriyal genom içinde yer alan COXII genini amplifiye ederek kantitatif RT PCR analizi ile ölçülmüştür. Real-Time PCR yöntemiyle elde edilen sonuçlar tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Gastrocnemius ve sol ventrikül COXII mtDNA ekspresyonu ölçümü (Veriler med.(min.-max.)şeklinde sunulmuştur.)

	Kontrol	ZE	ZE+TSİ	ZE+KKSİ	P
	Grubu	Grubu	Grubu	Grubu	değeri
	n=6	n=6	n=6	n=6	
COXII (İ. Kas)	1 ^a (1-1)	9.62 ^b (9.19-10.05)	6.27 ^c (5.77-6.77)	12.46 ^d (12.29-12.64)	<0.001
COXII (kalp)	1 ^a (1-1)	10485 ^b (94.35-115.36)	3.218 ^c (2.908-3.531)	41.66 ^d (40.22-43.11)	<0.001

*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

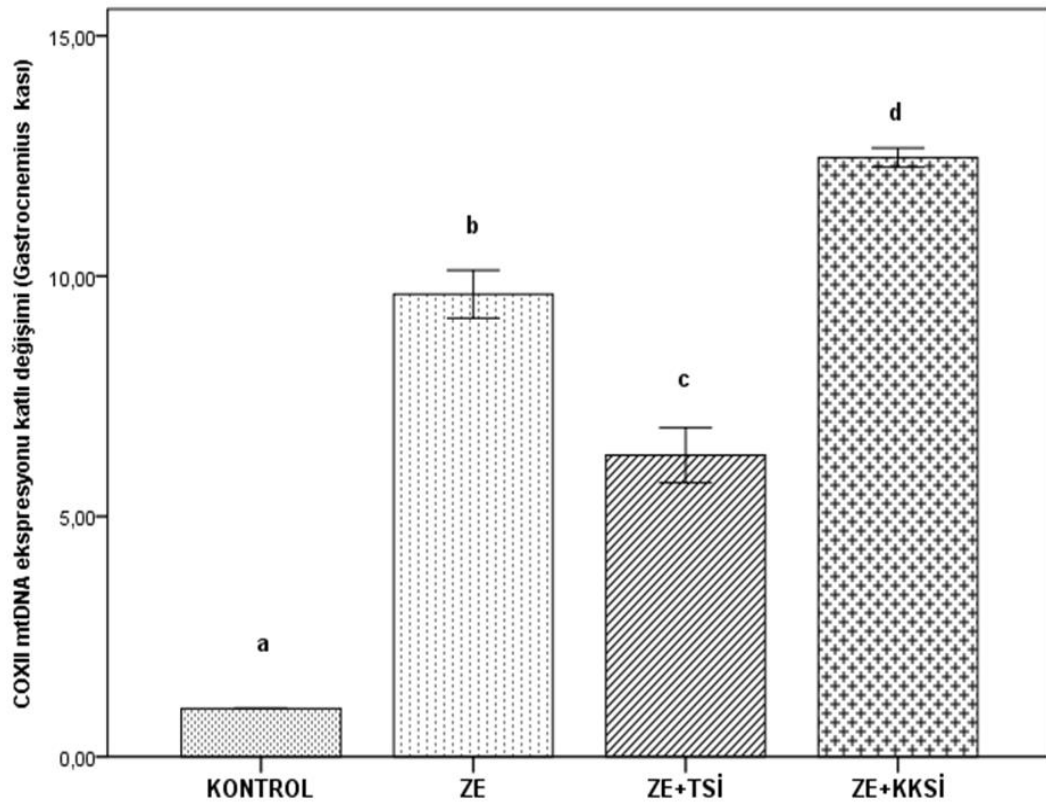
Yapılan Kruskal-Wallis testi sonucuna göre sıçanlardan alınan sol ventrikül doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda COXII geni ekspresyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ grubunda COXII geni ekspresyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p<0.001$). ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda COXII geni ekspresyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p<0.001$). ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda COXII geni ekspresyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$)(Şekil 4.7).



*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Şekil 4.7. Gruplara göre sol ventrikül COXII mtDNA ekspresyon seviyeleri

Yapılan Kruskal-Wallis testi sonucuna göre sıçanlardan alınan gastrocnemius kasındaki doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda COXII geni ekspresyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ grubunda COXII geni ekspresyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p<0.001$). ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda COXII geni ekspresyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda COXII geni ekspresyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$)(Şekil 4.8).



*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Şekil 4.8. Gruplara göre gastrocnemius kası COXII mtDNA ekspresyon seviyeleri

4.4. Akonitaz Aktivite Seviyesinin Ölçümü

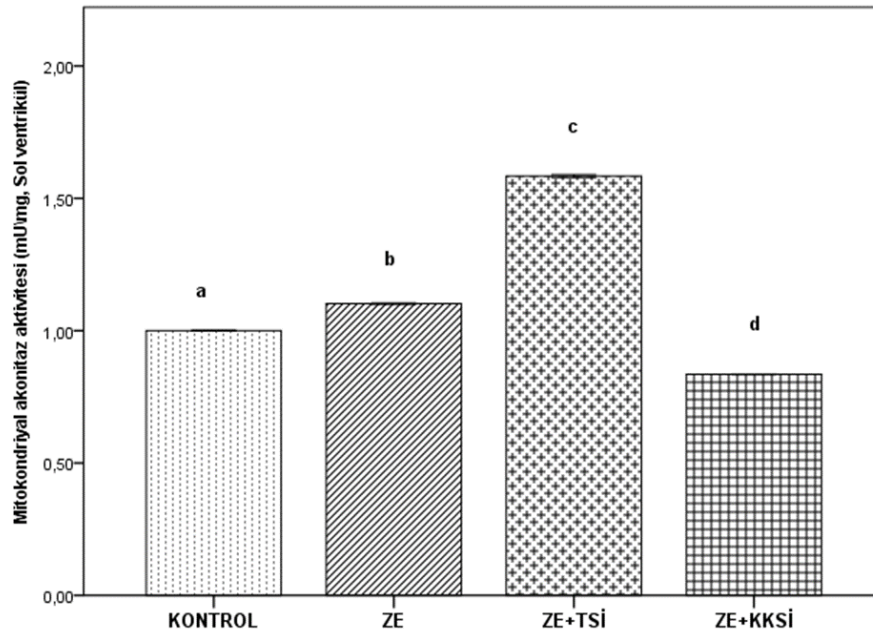
Çalışmamızda, farklı egzersiz gruplarının kontrol gruplarındaki Gastrocnemius kası ve sol ventrikül kasında bulunan Akonitaz seviyeleri analiz edilmiştir. ELISA cihazında 450 nm de okunması ile elde edilen sonuçların matematiksel değerleri ve ortalama değerleri tablo 4.7’de verilmiştir

Tablo 4.7. Gastrocnemius ve sol ventrikül Akonitaz aktivite düzeylerinin ölçümü (Veriler med.(min.-max.)şeklinde sunulmuştur.)

	Kontrol	ZE	ZE+TSİ	ZE+KKSİ	P
	Grubu	Grubu	Grubu	Grubu	değeri
	n=6	n=6	n=6	n=6	
Akonitaz (kalp)	1 ^a (1-1)	1.10 ^b (1.10-1.10)	1.58 ^c (1.57-1.58)	0.83 ^d (0.83-0.83)	<0.001
Akonitaz (İ. kas)	1 ^a (1-1)	0.70 ^b (0.69-0.70)	1.07 ^c (1.06-1.07)	1.53 ^d (1.47-1.5)	<0.001

*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

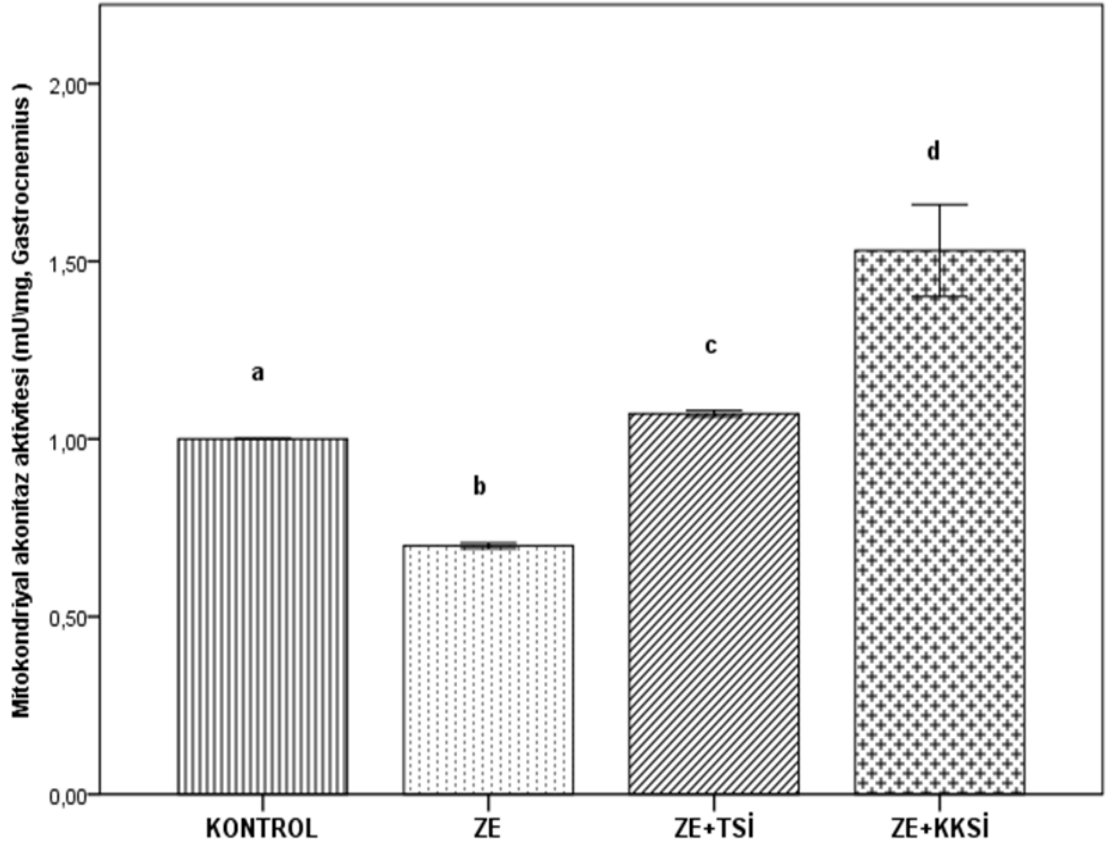
Yapılan Kruskal-Wallis testi sonucuna göre sıçanlardan alınan sol ventrikül doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE ve ZE+TSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p<0.001$). ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p<0.001$). ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ grubunda akonitaz enzim seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p<0.001$)(Şekil 4.9).



*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Şekil 4.9. Gruplara göre sol ventrikül Mitokondriyal akonitaz aktivitesi seviyeleri

Yapılan Kruskal-Wallis testi sonucuna göre sıçanlardan alınan Gastrocnemius kasındaki doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE grubunda akonitaz aktivite seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p<0.001$). ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$)(Şekil 4.10).



*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Şekil 4.10. Gruplara göre Gastrocnemius kası Mitokondriyal akonitaz aktivitesi seviyeleri

4.5. Sol Ventrikül Dokusunun Transmission Elektron Mikroskopik Değerlendirmesi

Çalışmamızda, farklı egzersiz gruplarının ve kontrol gruplarına ait kalp dokusu kesitlerinin TEM incelenmesinde kardiyomiyositlerin sitoplazmasında, düzenli yönelim ve enine bantlaşmalar gösteren miyofibril demetleri ve miyofibril demetleri arasında diziler şeklinde mitokondriyonlar hasarları ölçülmüştür. TEM incelenmesi yöntemiyle elde edilen sonuçlar tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8. Transmission Elektron Mikroskopik mitokondri hasarı ölçümleri

	Kontrol	ZE	ZE+TSİ	ZE+KKSİ	p
Hasarsız	100 ^a	33 ^b	43 ^{b,c}	57 ^c	<0.001
Az hasarlı	0 ^a	47 ^b	44 ^b	39 ^b	
Orta hasarlı	0 ^a	17 ^b	13 ^{b,c}	4 ^{a,c}	
Ağır hasarlı	0 ^a	3 ^a	0 ^a	0 ^a	

*Farklı üst simgeler grupların farklılığını göstermek için kullanılmıştır.

**İkili karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmesi ile yapılmıştır.

Çalışmamızda, farklı egzersiz gruplarının ve kontrol gruplarına ait kalp dokusu kesitlerinin TEM incelenen kesitlerde kardiyomiyositlerde miyofibril hasarı, vakuolizasyon ve intrasitoplazmik ödem bulguları ölçülmüştür. TEM incelenmesi yöntemiyle elde edilen sonuçlar tablo 4.9’da verilmiştir

Tablo 4.9. Transmission Elektron Mikroskopik kardiyomiyositlerde miyofibril hasarı, vakuolizasyon ve intrasitoplazmik ödem ölçümleri

	Kontrol (n=4)	ZE (n=4)	ZE+TSİ (n=4)	ZE+KKSİ (n=4)	p
Miyofibril hasarı	0 ^a (0-0)	1.5 ^b (1-2)	0 ^a (0-0)	0 ^a (0-0)	0.002
Vakuolizasyon	0 ^a (0-0)	2 ^b (1-2)	1 ^b (1-2)	0 ^a (0-1)	0.007
İntrasitoplazmik ödem	0 ^a (0-0)	1 ^b (1-2)	0.5 ^c (0-1)	0 ^a (0-0)	0.011

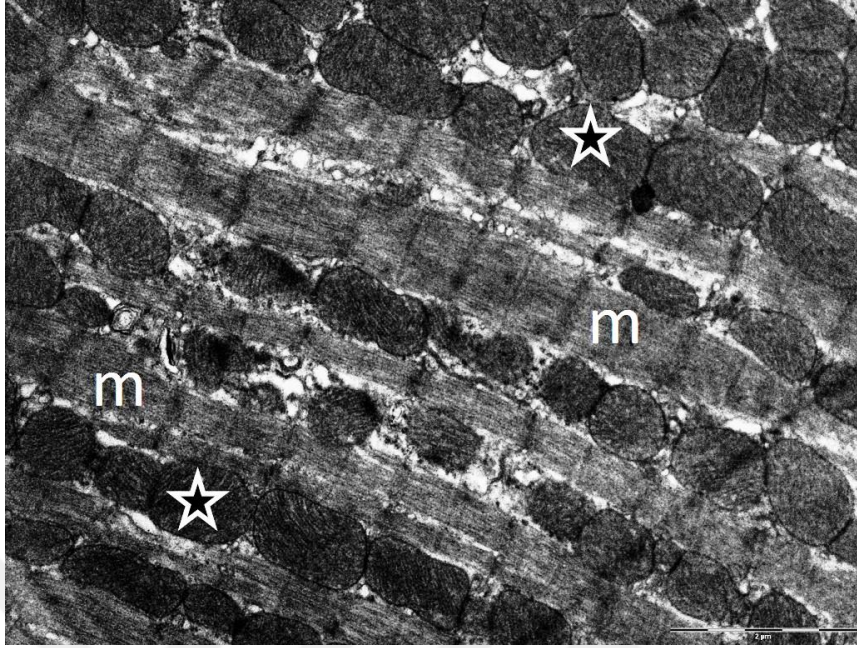
*Farklı üst simgeye sahip gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

**Veriler medyan (minimum-maksimum) değerler ile özetlenmiştir.

***İkili karşılaştırmalar Conover yöntemi ile yapılmıştır.

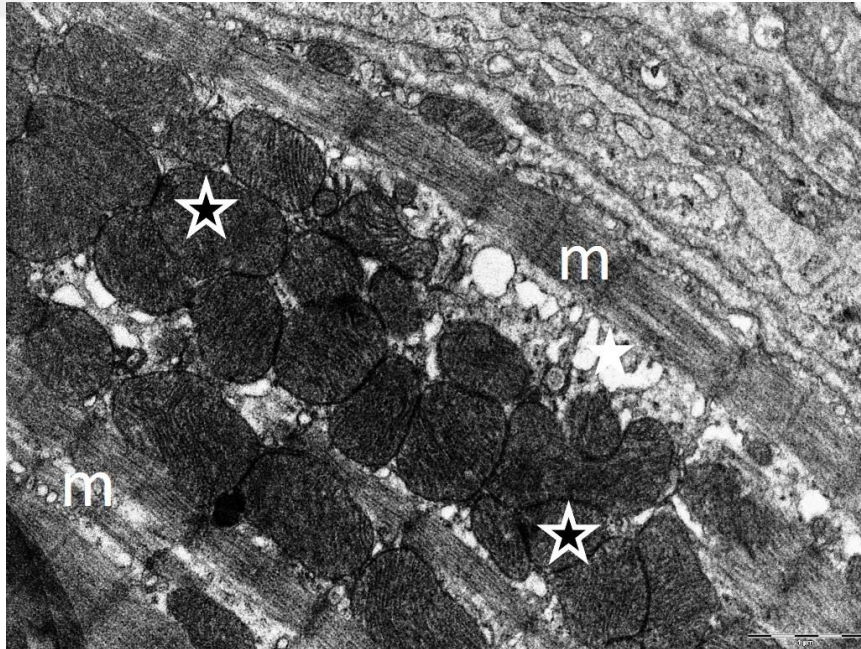
Kontrol grubuna ait kalp dokusu kesitlerinin TEM incelenmesinde kardiyomiyositlerin sitoplazmasında, düzenli yönelim ve enine bantlaşmalar gösteren miyofibril demetleri ve miyofibril demetleri arasında diziler şeklinde mitokondriyonlar izlendi. Ayrıca miyofibril demetleri ve mitokondriyonlar dışındaki sitoplazmik

alanlarda sitoplazmik organeller izlendi. İncelenen tüm kesitlerde kardiyomiyositler normal ultrastrüktürel yapıda değerlendirildi (Şekil 4.11, 4.12, 4.13).



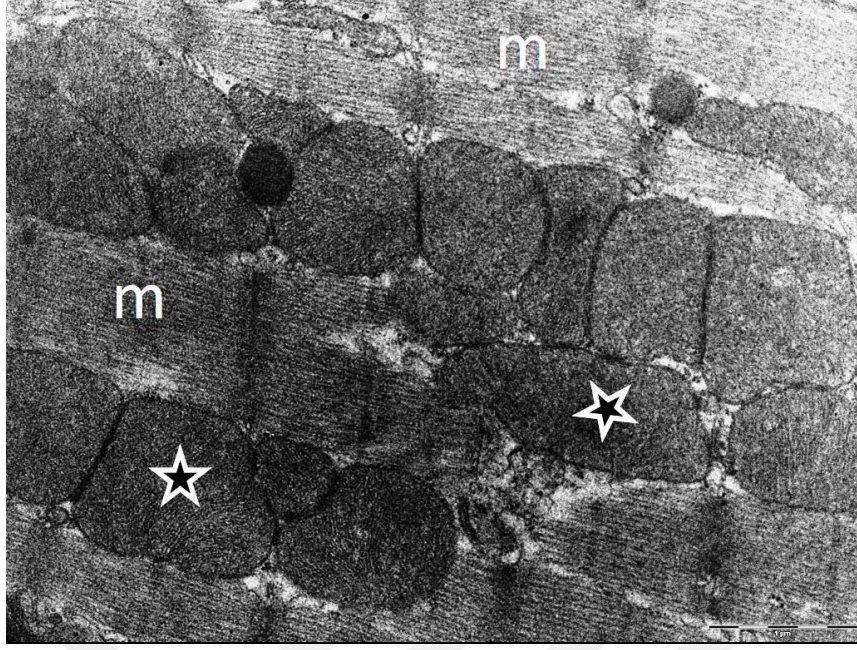
(Miyofibril demetleri (m), mitokondriyon (yıldız). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x10000)

Şekil 4.11. Kontrol grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü



(Miyofibril demetleri (m), mitokondriyon (yıldız). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x12500)

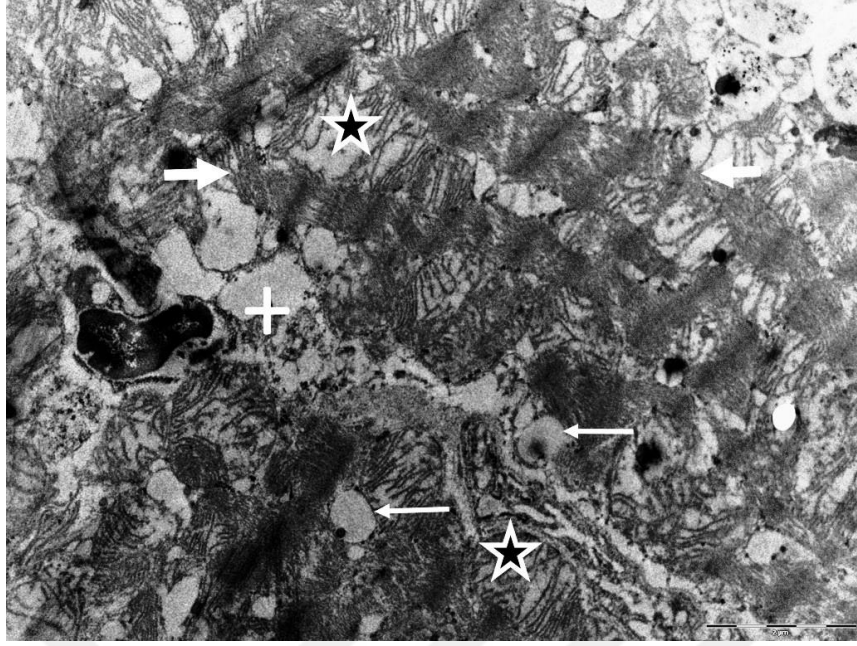
Şekil 4.12. Kontrol grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü



(Miyofibril demetleri (m), mitokondriyon (yıldız). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x16000)

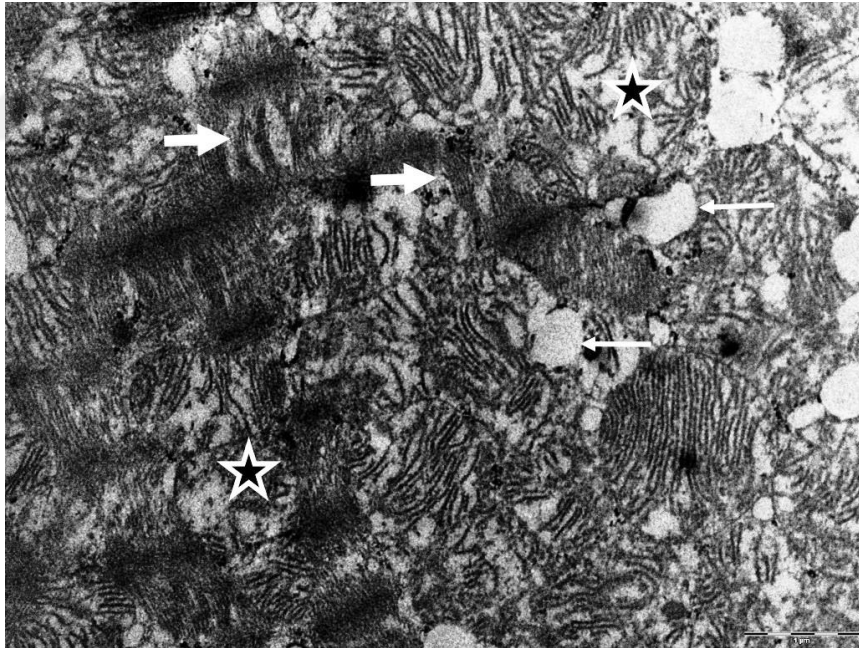
Şekil 4.13. Kontrol grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü

Zorlu egzersiz grubundaki sıçanların kalp dokusu kesitlerinde miyofibril düzenlenmesi ve yapısının bozulduğu ile yer yer miyofibril dejenerasyonu saptandı. Mitokondriyonlarda şiddeti ve yaygınlığı değişen şekilde krista hasarı, krista kaybı, dilatasyon ve dejenerasyon izlendi. Ayrıca kardiyomiyositlerde intrasitoplazmik ödem ile heterojen şekil ve büyüklüklerde vakuoller tespit edildi. (Şekil 4.14, 4.15, 4.16). Bu grubun Kardiyomiyositlerde ultrastrüktürel hasar skoru 2 (++) ve Kardiyomiyosit mitokondriyon hasar skoru 3 (+++), olarak tespit edildi (Tablo 4.7, 4.8.).



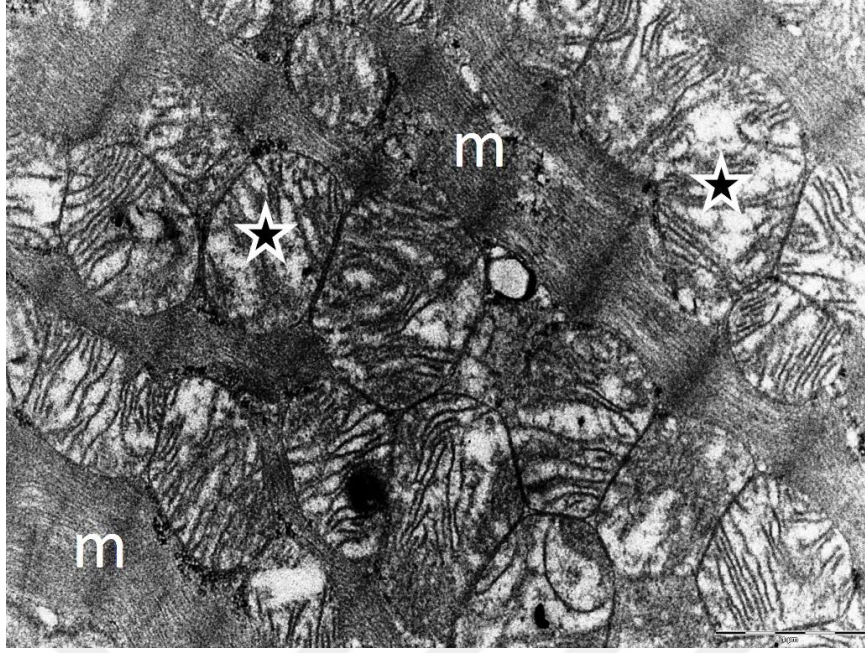
(Mitokondriyonda dilatasyon krista hasarı (yıldız), miyofibril hasarı (kalın ok), vakuol (ince ok), intrasitoplazmik ödem (+). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x10000)

Şekil 4.14. Zorlu egzersiz grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü



(Mitokondriyonda dilatasyon krista hasarı (yıldız), miyofibril hasarı (kalın ok), vakuol (ince ok). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x12500)

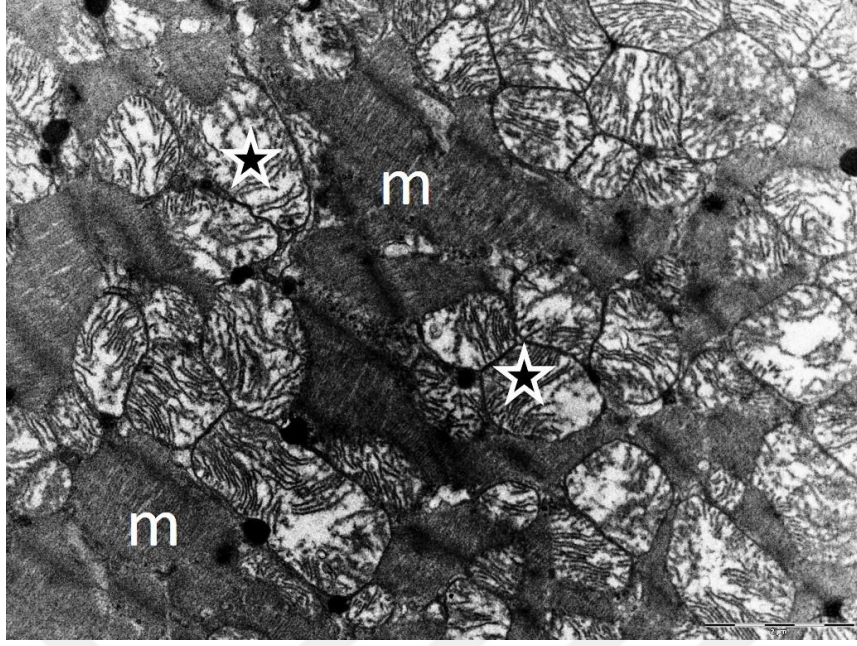
Şekil 4.15. Zorlu egzersiz grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü



(Mitokondriyonda dilatasyon krsta hasarı (yıldız), miyofibril demetleri (m). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x16000)

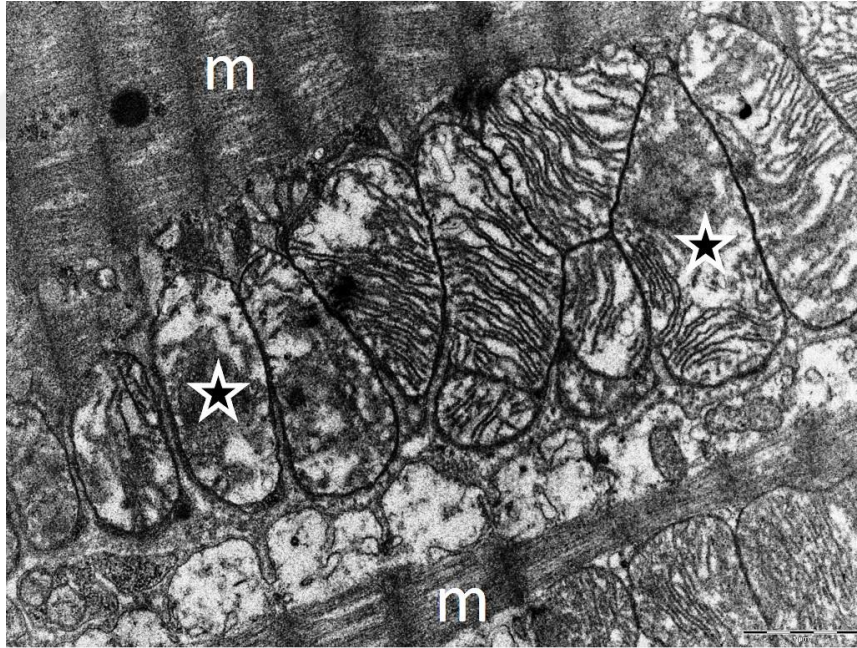
Şekil 4.16. Zorlu egzersiz grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü

Zorlu egzersiz + Ticari Sporcu İçeceği grubundaki sıçanlara ait kalp dokusu kesitlerinde miyofibril yoğunluğu ve düzenlenmesi normal ultrastrüktürel yapıda gözlemlendi. Ancak bazı mitokondriyonlarda farklı derecelerde kısmi krsta hasarı ve krsta kaybı ile intramitokondriyal ödem ve dilatasyon izlendi. Ayrıca kardiyomiyositlerde farklı derecelerde intrasitoplazmik ödem alanları ile heterojen şekil ve büyüklüklerde vakuol yapıları saptandı (Şekil 4.17, 4.18, 4.19). Bu grubun kardiyomiyositlerde ultrastrüktürel hasar skoru 1 (+) ve kardiyomiyosit mitokondriyon hasar skoru 2 (++), olarak tespit edildi (Tablo 4.7, 4.8.).



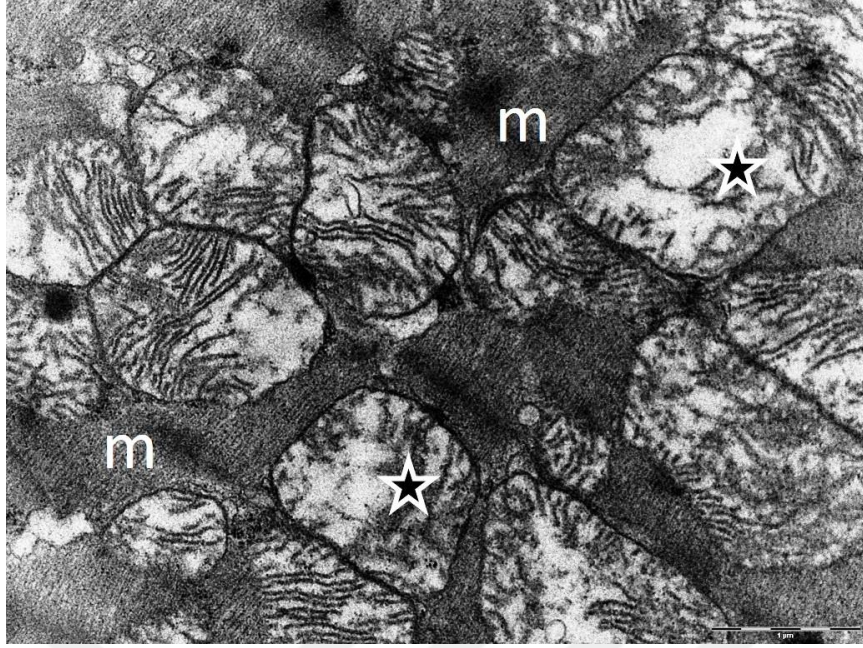
(Mitokondriyonda dilatasyon krista hasarı (yıldız), miyofibril demetleri (m). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x10000)

Şekil 4.17. ZE+TSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü



(Mitokondriyonda dilatasyon krista hasarı (yıldız), miyofibril demetleri (m). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x12500)

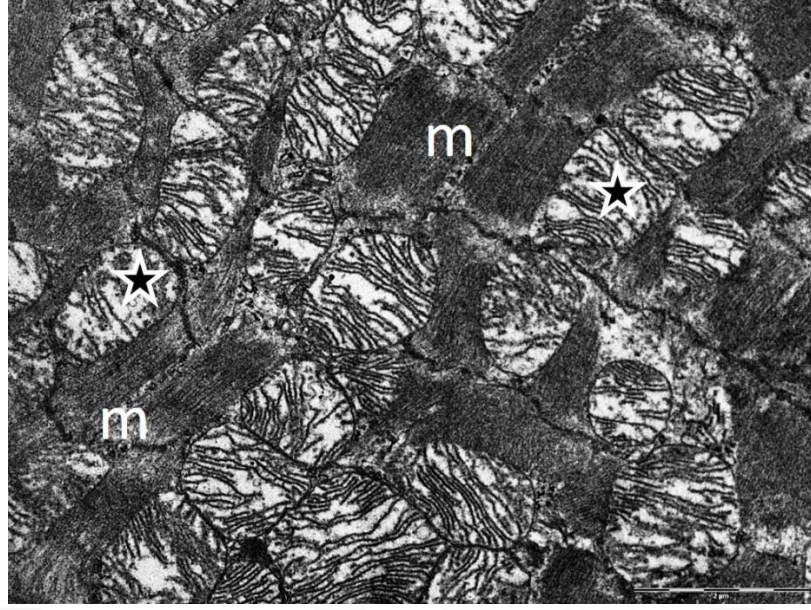
Şekil 4.18. ZE+TSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü



(Mitokondriyonda dilatasyon krista hasarı (yıldız), miyofibril demetleri (m). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x16000)

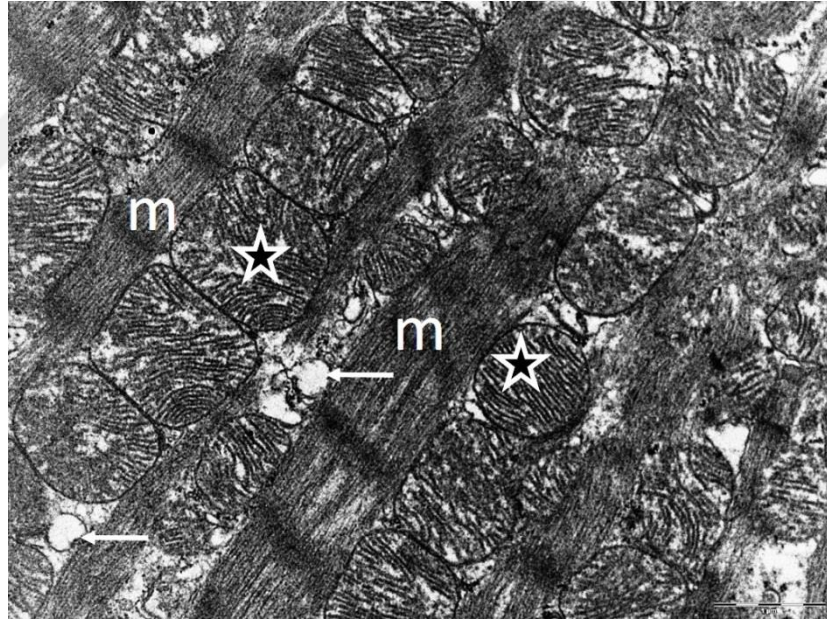
Şekil 4.19. ZE+TSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü

Zorlu egzersiz + kaysı katkılı Sporcu İçeceği grubundaki sıçanlara ait kalp dokusu kesitlerinde kardiyomiyositlerin miyofibril yoğunluğu ve düzenlenmesi normal ultrastrüktürel yapıda değerlendirildi. Mitokondriyonların çoğunluğu normal krista ve matriks yapısında olmakla birlikte bazı mitokondriyonlarda minimal düzeyde krista hasarı ve mitokondriyal dilatasyon gözlemlendi. Ayrıca nadir olarak kardiyomiyositlerde küçük intrasitoplazmik vakuoller saptandı (Şekil 4.20, 4.21, 4.22). Bu grubun Kardiyomiyositlerde ultrastrüktürel hasar skoru 0 (-) ve Kardiyomiyosit mitokondriyon hasar skoru 1 (+), olarak tespit edildi (Tablo 4.7, 4.8.).



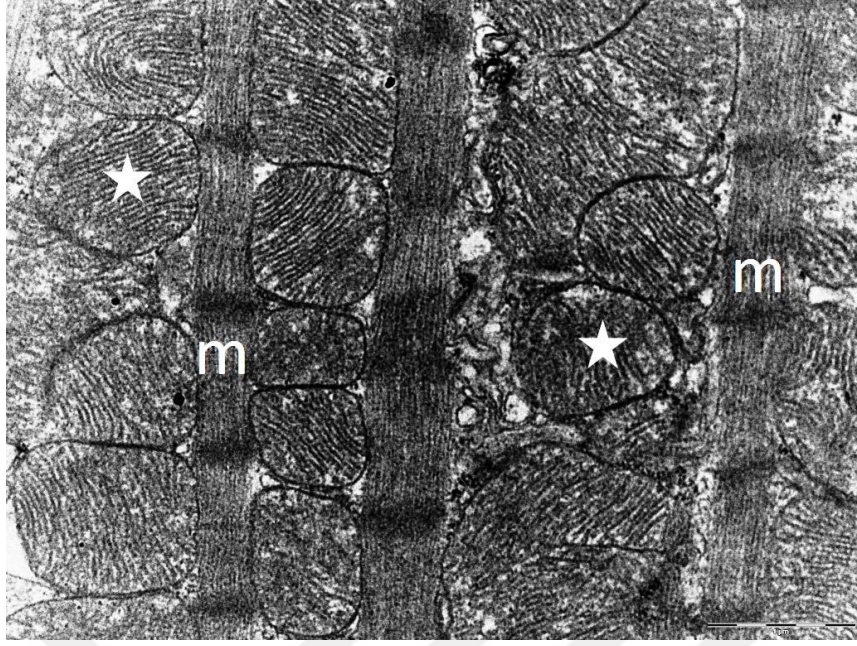
(Mitokondriyonda minimal dilatasyon ve kısmi krista hasarı (yıldız), miyofibril demetleri (m). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x10000)

Şekil 4.20. ZE+KKSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü



(Mitokondriyon (yıldız), miyofibril demetleri (m), vakuol (ok). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x12500)

Şekil 4.21. ZE+KKSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü



(Miyofibril demetleri (m), mitokondriyon (yıldız). Uranil asetat-Kurşun sitrat, TEM, x16000)

Şekil 4.22. ZE+KKSİ grubu transmission elektron mikroskopisi görünümü

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada; zorlu egzersizle oluşabilecek stres sonucu ortaya çıkabilecek olası mitokondriyal disfonksiyona, kayısı katkılı sporcu ieeğinin (KKSİ) ve ticari sporcu ieeğinin (TSİ) sol ventrikül ve gastrocnemius kas dokularında etkisi araştırılmıştır. Zorlu egzersiz, zorlu egzersizle TSİ ve KKSİ verilen sıçanların kalp ve kas dokusunda Beclin-1, Atrogin, Atg12 mRNA gen seviyeleri, COXII mtDNA seviyesi ve akonitaz aktivite düzeyleri incelendi. Sol ventrikül dokusunda mitokondriyal ultrastrüktür ve miyoflamnetlerin TEM incelemesi yapıldı. Beklenildiğİ gibi zorlu egzersiz yaptırılan sıçanların kalp kasında yüksek oksidatif stres, hasarlı mitokondri, yüksek ölçüde otofajiye sahip olduğu görülmüştür. TSİ verilen sıçanlar bu bozuklukları yalnızca kısmen iyileştirirken, KKSİ verilen sıçanların kalp kasında bozulan mitokondriyal fonksiyonu, genel yapısal ve fonksiyonel durumunu önemli ölçüde iyileştirdiğİ görüldü. Zorlu egzersiz mitokondriyal disfonksiyon ile ilişkilidir ve mitokondriyal ROS'un aşırı üretimi, mitokondriyal enerji metabolizmasının bozulması ile güçlü bir şekilde ilişkili görünmektedir (2).

Mitokondri, sayısız fizyolojik veya patofizyolojik stresin neden olduğu durumları karşılamak için adaptif yeniden programlama ile kas enerji homeostazını korumak için gereklidir (1). Düzenli yapılan egzersizin mitokondriyal disfonksiyonu azalttığı yönünde çalışmalar mevcut olmasına rağmen ağır veya uzun süreli egzersizin mitokondriyal disfonksiyona neden olduğu gösterilmiştir. 1988 yılında Friden ve ark. on bir erkek elit sprinter sporcuda yüksek tempolu anaerobik koşu sonrasında yaptıkları iskelet kası biyopsisinde miyoflamentlerde bozulma mitokondride yapısal değişikliklerle birlikte kas hasarının olduğunu göstermişlerdir (191). Bundan sonra çok sayıda egzersiz ve mitokondriyal disfonksiyonla ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu hasarı azaltmak ve sporcunun performansını artırmak için çeşitli sporcu içecekleriyle birlikte destekleyici ürünler kullanmaya başlanmıştır (192). Kayısı meyvesi vitamin, polifenol, mineral ve karbonhidratça zengin içeriğİ sahip olması nedeniyle, sporcu ieeğİ ve destek ürünü olarak kullanılabilir. Mitokondriyal disfonksiyon üzerine birçok çalışma yapılmış olsa da kayısı katkılı sporcu ieeğİ ve zorlu egzersizin bir arada değerlendirildiğİ bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu bağlamda mevcut tez çalışmamızda kullanılacak olan kayısı katkılı sporcu ieeğİ zorlu egzersizle yaptırılan sıçanlarda mitokondriyal disfonksiyon üzerine etkisi ilk defa

araştırılmıştır. Bu çalışmada Mitokondriyal disfonksiyonun kayısı katkılı sporcu içeceği ile piyasada satılan diğer sporcu içecekleriyle kıyaslanması yapılmıştır.

Günümüzde meyveler bolca tüketilmektedir. Bu meyvelerden biri olan kayısı da Malatya ilinde fazlaca yetiştirilip kullanılmaktadır. Kayısı β -karoten, polifenol ve kateşinler yönünden oldukça zengin bir içeriğe sahiptir (12). Kayısıda bol miktarda bulunan β -karoten ve polifenollerin mitokondriyal fonksiyonu düzelttiğine dair çalışmalar mevcuttur (124, 125). Egzersiz sırasında iskelet ve kalp kasında üretilen yüksek seviyelerde ROS, kas hasarı ve bozulmuş kas fonksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. C vitamini ve β -karoten gibi antioksidanlar egzersiz performansını iyileştirdiği, oksidatif stresi önlediği, kas hasarını azalttığı ve mitokondriyal biyogenez üzerinde faydalı etkisi nedeniyle egzersiz yapan bireyler için kullanılması tavsiye edilmiştir (12, 193).

5.1. Zorlu Egzersizin Sıçanların Vücut Ağırlığı, Yem ve Su Tüketimi Üzerine Etkisinin değerlendirilmesi

Çalışmamızda 10 haftalık zorlu egzersiz antrenmanı sonucunda elde ettiğimiz sonuçlara göre; bütün gruplarda deney başlangıcına göre deney sonunda vücut ağırlıklarının arttığı görülmüştür. Yaptığımız gruplar arası karşılaştırmada ise, grupların kendi içinde vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında tartımlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ayrıca sıçanların yem ve su tüketimleri ile ilgili yapılan değerlendirmede, sıçan grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla bütün gruplar arası benzer ağırlık artışının sebebi kontrol grubunda yağlı vücut kütlesi artarken zorlu egzersiz gruplarında ise yağ kütlesinin azalıp kas kütlesinin artmasından dolayı kaynaklanmış olabilir. Yapılan bir çalışmada ise wistar sıçanlarının vücut yağının, 10 hafta boyunca bir koşu bandında 12 m/dk'da, 60 dak/gün, hafta 5/7 gün, boyunca egzersiz yaptıktan sonra değişmediğini bildirmiştir (194). Ayrıca Sherk ve ark. 8 hafta boyunca 15 m/dk'da günde 60 dakika koşan 17 haftalık Wistar sıçanlarının yağ ve vücut ağırlığında bir azalma yaşadığını göstermiştir (195). Miyateke ve ark. 2016 yılında yaptıkları çalışmada, sıçanlara 6 hafta, haftada 5/7 gün, 100 dakika boyunca 20 m/dk'da 60 km zorlu koşu bandı egzersizi sonucunda gruplar arasında anlamlı vücut ağırlık değişimi olmadığını göstermişlerdir (196). Bu çalışmaların aksine 2019 yılında genç (3 aylık), orta yaşlı (16 aylık) ve yaşlı (23 aylık) sıçanları 10 hafta, haftada 6 gün egzersiz süresi kademeli olarak artan 10 m/dak hızında ve %0 eğiminde koşu bandı aerobik egzersiz programı uygulanmış. Aerobik egzersiz koşucu gruplarındaki sıçanların ağırlıklarında hafif bir düşüş gösterdiğini görmüşlerdir (197).

Yaptığımız bu çalışmamızda sıçanların ağırlık değişiminin gruplar arası benzer ağırlık artışının sebebi hayvanların çok genç (7 haftalık) olmasından kaynaklanmış olabilir. Literatürdeki bazı çalışmalar, koşu bandında 10 ila 12 m/dk'da 60 dakika koşan sıçanların vücut ağırlık üzerinde fayda sağlamadığını, ancak 17.5 ve 18 m/dk'da aerobik enerji belirteçlerinde bir artış gösterdiğini bildirmektedir. Buna karşılık, %65 yoğunlukta 16 m/dk koşu daha fazla fayda sağladı rapor etmişlerdir (194, 198, 199). Çalışmamızda hayvanların zorlu egzersiz protokolünde (27 m/dk, %18 eğim) koşulduğu için hayvanların ağırlık üzerine bir etkisi olmadığı yorumunu yapabiliriz. Bu bilgi tutarsızlığı, koşu yoğunluğunun vücut ağırlığı üzerindeki etkisi hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Deney sonucunda TSİ verilen grupta visseral yağlanma gözle görülen bir artış oluşmuşken KKSİ verilen grupta ise visseral yağlanmanın oluşmadığı görüldü. Bu durum bizlere kayısının vücut yağlanmasını önlediği yönünde kanıtlar sunmuştur. Çalışmamızda kullanılan TSİ ve KKSİ'nin içerik olarak sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve karbonhidratça eşit olmasına rağmen kayısı katkılı sporcu içeceği verilen gruptaki yağ düzeyinin az olmasının nedenleri, kayısının karotenoidler (200), kateşin, epikateşin, polifenoller ve C (201) vitamininden zengin olmasından kaynaklı olabilir. Nitekim Kıtakaze ve ark. 2015 yılında yaptıkları çalışmada, 8 haftalık sıçanlara 14 gün boyunca oral olarak verilen β -Karotenin sıçanlarda soleus kası/vücut ağırlığı oranını arttırdığını, vücut ağırlığı üzerinde etkisinin olmadığını ve β -Karotenin kas hipertrofisini indüklediğini göstermişlerdir (200). Ayrıca Farag ve ark. 2019 yılında insanlarda yaptıkları çalışmada, 12 hafta boyunca C vitamini takviyesi ve fiziksel egzersiz uygulamasının serum total kolesterol seviyelerinde ve vücut ağırlıklarında plasebo grubuna göre anlamlı şekilde azaldığını göstermişlerdir (201). Başka bir çalışmada ise sıçanlar haftada 5 gün, 20 m/dk'da 1 saat/gün koşu bandı programıyla beraber günde iki kez 2 ml izotonik sporcu içeceği oral gavaj yoluyla verilen sıçanlarda ağırlıklarının arttığını gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını görmüşlerdir (202). Bu bulgular bizlere kayısı meyvesinin ticari sporcu içeceklerinin içeriğine eklenerek obezite üzerine zararlı etkilerinin önleme potansiyeli sahip olduğunu ve kas kütlesini artırmak için takviye olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Ayrıca sıçanlara verilen TSİ ve KKSİ'nin sporcu içeceklerinin ağırlık, yem ve su tüketimi üzerine bir etkisi olmadığı görüldü.

5.2. Zorlu Egzersiz ve Otofaji

Memeli hücrelerinde otofaji, esas olarak otofajiye bağlı proteinler tarafından düzenlenir. Beclin-1, memelilerde bulunan ilk otofaji ile ilgili gendir. Otofagozomların oluşumunda en önemli moleküllerden biri olan Beclin-1, hücrelerin otofaji aktivitesini düzenlemek için kilit bir hedeftir (203). Otofaji ile ilişkili genlerden birtaneside Atg12'dir. Otofagozom oluşumu için gerekli olan ubiquitin benzeri bir değiştiricidir. Atg12; Atg5, Atg16 ile bir E3 kompleksi oluşturur ve Atg3 ile etkileşime girer. Bu kompleks mitokondriyal homeostazı ve hücre otofajisini düzenler (177). Mevcut çalışmamızda, zorlu egzersiz ile birlikte verilen ticari sporcu ieeği ve kaysı katkılı ieeğinin sıçanların gastrocnemius ve sol ventrikül kasında mitokondriyal otofaji aktivitesini gosteren Beclin-1 ve Atg12 mRNA ekspresyon seviyelerini ölçtük.

5.2.1. Sol Ventrikülde Zorlu Egzersizin Otofaji Üzerine Etkisi

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, sıçanlardan alınan sol ventrikül doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinde anlamlı olarak artarken, ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ gruplar arasında Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinde fark bulunmadığı saptanmıştır. Çalışmadan elde ettiğimiz veriler neticesinde zorlu egzersizin sol ventrikül üzerinde otofajiyi indükleyeceğini, zorlu egzersizin neden olduğu stresten dolayı artan Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinin, sıçanlara verilen kaysı katkılı ve ticari sporcu içeceklerinin Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyelerinde azalmaya neden olmamıştır. Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyelerinin genel olarak bu artışın sebebi zorlu egzersizin neden olduğu mitokondriyal apoptotik faktörlerin uyarılması, mitokondriyal membran hiperpolarizasyonu ve depolarizasyonu, matris şişmesi ve dış zarın geçirgenliği, mitokondriyal membran potansiyelinde azalma ve mitokondriyal ROS üretiminde artmasından olduğu yorumunu yapabiliriz (204). Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar bizim bulgularımızı desteklemektedir. McMillan ve ark. 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada, 11 haftalık sıçanlara 6 haftalık progresif bir aerobik koşu bandı egzersizi 21 m/dk, %4.5 eğim, 60 dak/gün, 5 gün/hafta, uygulanan çalışmada sıçanların sol ventrikül ve gastrocnemius kaslarında kronik dayanıklılık egzersizinin Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyelerinin arttığını bulmuşlardır (205). Bir başka çalışmada 2 hafta boyunca sıçanlara 30 m/dk, %0 derece ile 60 dakika/gün için 5 gün ardışık koşu bandı egzersizi yaptırılmış. Çalışma sonunda gastrosoleus kasında Beclin-1

seviyelerinin önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir (206). Sun ve ark. sıçanları 8 hafta boyunca aerobik egzersiz (haftada 6 gün, 60 dakika, 20 m/dakika, %5 eğim) ile beraber ginsenosit (Rg3) uygulamasının sıçanların kalp kası dokusunda Beclin-1 ve otofaji ile ilişkili proteinleri arttırdığını görmüşlerdir (207). Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyelerinin artması bakımından çalışmamız, literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir.

Çalışmamızın Atg12 seviyelerine ilişkin elde ettiğimiz sonuçlara göre, sıçanlardan alınan sol ventrikül doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda Atg12 gen seviyesinde anlamlı bir şekilde arttığı, kontrol ile ZE grubu arasında ise Atg12 gen seviyesinde anlamlı bir fark bulunmadığı saptanmıştır. ZE grubu ile kıyaslandığında, ZE+TSİ grubunda Atg12 gen seviyesinde anlamlı bir şekilde arttığı, ZE ile ZE+KKSİ grubu arasında Atg12 gen seviyesinde anlamlı bir fark bulunmadığı saptanmıştır. Ayrıca ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında, ZE+KKSİ grubunda Atg12 gen seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar bizim bulgularımızı desteklemektedir. 2018 yılında yapılan bir çalışmada 8 hafta boyunca 0,5 km /s, % 5 eğimle, 30 dak/gün, haftada 5/7 gün egzersiz yaptırılan farelerin kaslarındaki Atg12 seviyelerinin kontrole göre değişmediğini görmüşlerdir (208). Smuder ve ark. 30 m/dk, %0 derece ile 60 dakika/gün için 5 gün ardışık koşu bandı egzersizi sıçanlarda sol ventrikül kasında kontrol grubuna kıyasla egzersiz grubunda Atg12 seviyesinin değişmediğini görmüşlerdir (209). Bu çalışmaların aksine, fluza-Luces ve ark. 11 hafta boyunca 25 dk ile başlanıp 60 dakikaya tamamlayacak şekilde sürdürülen çalışmada deney sonunda orta yoğunlukta koşu bandı antrenmanı yapan gruptaki farelerin kalp dokusundaki Atg12 değerlerinin diğer gruplara göre arttığını bulmuşlardır (210). Sonuçlarımız göre egzersizin, otofaji ile ilgili faktörlerin ekspresyonunu modüle ettiğini ve kalp kasında otofaji ile ilgili faktörlerin adaptasyonunda ve otofaji seviyelerinin artmasında rol oynayabileceğini gösterdi (211). Zorlu egzersiz ve TSİ'nin beraber verilmesi Atg12 mRNA ekspresyon seviyelerine göre mitokondriyal disfonksiyonu daha fazla artmasına neden olmuştur. Bu duruma TSİ' nin içeriğinde bulunan bazı maddelerden kaynaklanmış olabilir. KKSİ ile Zorlu egzersizin mitokondriyal disfonksiyonu TSİ ile zorlu egzersize kıyasla daha düşük olmasının nedeni ise sporcu içeceklerinin içeriklerinin nispeten farklı olması ve KKSİ'nin içeriğinde bulunan polifenol,

karotenoidler ve C vitamini gibi minerallerin koruyucu etkisinden kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızda mitokondriyal ultrastrüktür, sol ventrikülde transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile değerlendirildi. Kontrol farelerinin kardiyomiyositlerindeki normal miyokardiyal ultrastrüktür bozulmamış miyofibrillere, berrak, düzenli Z ile paralel ve sürekli sarkomerlere sahipti. Tümleşik zar ve kristallere sahip çok sayıda iyi gelişmiş mitokondri de dahil olmak üzere organeller açısından zengindi. Bununla birlikte, yoğun egzersiz yapan hayvanların kardiyomiyositleri, belirgin şekilde şişmiş ve dejeneratif değişiklikler sergiledi. Birçok kardiyomiyosit, hasarlı, parçalanmış ve düzensiz miyofibriller gösterdi. Fasya yapışıklarında diastem şişmesi ve egzersiz yapan sıçanların miyokardiyal interkalar disklerinin merdiven yapısında membran erimesi gözlemlendi. Ayrıca, yoğun egzersizle indüklenen mitokondriyal yapısal heterojenlik, dinlenmiş kontrol farelerine kıyasla zarların parçalı parçalanmasını, şiddetli şişmeyi ve tahrip olmuş veya kaybolmuş kristaller ve elektron şeffaf matrisi içeriyordu. Beklendiği gibi kayısı katkılı sporcu içeceği verilen grupta, miyofibriller ve mitokondri üzerindeki yoğun egzersiz kaynaklı ultrastrüktürel anormallik veya düzensizlik, kısmen düzensiz kalp kası lifleri ve hafif şişmiş mitokondriye rağmen, büyük ölçüde iyileşmişti. Bu veriler, düzenli fiziksel egzersizle birlikte kayısı katkılı sporcu içeceği takviyesinin ticari sporcu içeceğine göre egzersize bağlı mitokondriyal disfonksiyonları önlediğini göstermektedir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar bizim bulgularımızı desteklemektedir. Pan ve ark. farklı yoğunluklarda uzun süreli egzersiz antrenmanının kalbin miyokardiyal bütünlük üzerindeki etkilerini değerlendirmiş. Orta ve yüksek yoğunluklu egzersiz yaptırılan gruplarda kardiyomiyositlerin ultrastrüktürünün adaptif değişikliklere sahip olduğunu, düzensiz sarkomerler, tamamlanmamış miyofibriller, dağınık ve düzensiz miyofilamentler, kısmen kırık miyofilamentler, şişkinlik ve flokülen değişikliklerle birlikte gevşek veya kırık mitokondriyal kristaller, farklı boyutlarda mitokondriler olduğunu görmüşlerdir (212). 2018 yılında farelerde Koenzim Q 10 alımı ve orta düzey fiziksel aktivitenin kombinasyonu çalışmasında, iki ay boyunca 0.5 km / s, % 5 eğimle, 30 dakika, haftada 5/7 gün egzersiz yaptırılmış. Deney sonunda 2 aylık fiziksel egzersiz, egzersiz yapılan farelerin kaslarındaki mitokondriyal hasarı kontrole göre kıyasla önemli ölçüde arttığını görmüşler. Ayrıca, Koenzim Q 10 ve fiziksel egzersiz grubunda, fiziksel egzersizin neden olduğu mitokondriyal hasarı iyileştirdiğini göstermişlerdir (208).

Çalışmamızda zorlu egzersizle oluşan mitokondriyal hasarlar iki sporcu içeceğine kıyasla kayısı katkılı sporcu içeceği sol ventrikül kasının, mitokondriyal yapısını korumuş ve tek başına fiziksel egzersizin neden olduğu mitokondriyal hasarı tamama yakın bir şekilde iyileştirmiştir. Bu bağlamda KKSİ'i zorlu egzersiz yaptırılan sıçanların kalp kasında hasarlı mitokondri, yüksek ölçüde apoptoza sahip ve bozulan mitokondriyal fonksiyonu, genel yapısal ve fonksiyonel durumunu önemli ölçüde iyileştirmiş görünmektedir. İki sporcu içeceğine kıyasla kayısı katkılı sporcu içeceği bir fark yarattığı saptanmıştır.

5.2.2. Gastrocnemius Kasında Zorlu Egzersizin Otofaji Üzerine Etkisi

Gastrocnemius kasındaki Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyelerini değerlendirdiğimizde ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinde anlamlı olarak arttığı, ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda Beclin-1 gen seviyesinde anlamlı bir şekilde azalma olduğu saptanmıştır. Ayrıca ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubu arasında Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinde bir fark bulunmadığı sonucu elde edilmiştir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar değerlendirildiğinde; Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyelerinin genel olarak bu artışın sebebi zorlu egzersizin neden olduğu mitokondriyal apoptotik faktörlerin uyarılması, mitokondriyal membran potansiyelinde azalma ve mitokondriyal ROS üretiminde artmasından olduğu yorumunu yapabiliriz. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar bizim bulgularımızı desteklemektedir. 2021 yılında egzersiz ön koşullandırma yapılan sıçanlara dakika 28-30 m/h hızla tükenene kadar koşturulduktan 30 dakika sonra sakrifiye edilmiştir. Deney sonunda egzersiz ön koşullandırma yapılan grubun diğer gruplara göre iskelet kasında Beclin-1 gen seviyesinin diğer gruplara göre arttığını görmüşlerdir (213). Başka bir çalışmada, genç ve yaşlı sıçanlara 8 hafta boyunca 5 gün/haftada 40 dak/gün ve 5°'lik bir eğimde 16.3 m/dk.'da bir koşu bandında koşturulan sıçanların ekstansör digitorum longus ve gastrocnemius kaslarında Beclin-1 gen seviyesinin arttığını göstermişlerdir (214). Brandt ve arkadaşlarının 2018 yılında insanlarda yaptıkları çalışmada, bisiklet egzersizi çalışmasında 8 hafta boyunca haftada 3 gün ve 60 dakika boyunca sabit bir güç çıkışında (Vo_{2max} 'ın %60) antrenmanı insanların kas dokusunda Beclin-1 seviyelerinin diğer gruplara göre arttığını bulmuşlardır (211). Zorlu egzersizin Beclin-1 seviyesinin artacağı yönündeki bu çalışmaların aksine sonuçlar da bulunmuştur. 2020 yılında yapılan bir çalışmada, 12 hafta boyunca 21 aylık sıçanlara koşu bandı egzersizi

(12m/dk, %0 derece ile 60 dakika/gün için haftada 3 gün), direnç egzersizi (1 m yüksekliğinde, 2 cm basamaklı ve 85° eğimli ile dönüşümlü antrenman) uygulanmış. Deney sonunda sıçanların iskelet kaslarında Beclin-1 protein seviyelerinin azaldığını görmüşlerdir (215). 2021 yılında yapılan başka bir çalışmada bir gruba 8 haftalık aşamalı merdiven egzersizi, bir grubu da 8 hafta boyunca koşu bandında (günde 20 m/dk, günde 60 dakika, 4 kez/hafta) aerobik egzersiz yaptırılmış. Deney sonunda, hem merdiven hem de aerobik egzersizin, iskelet kası tipinden bağımsız olarak gastrocnemius ve soleus kaslarındaki Beclin-1 ve Atrogin seviyelerinin önemli ölçüde azalttığını bulmuşlardır (216). Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesindeki bu tutarsızlığın egzersiz programının türüne, sıklığına, yoğunluğuna, süresine ve yaştan dolayı kaynaklanmış olabilir (214). Beclin-1mRNA ekspresyon seviyesinin egzersiz programının türüne, sıklığına, yoğunluğuna, süresine ve yaşla birlikte nasıl farklı şekilde düzenlendiğinin mekanizmalarını aydınlatmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler neticesinde zorlu egzersizin gastrocnemius kasındaki otofajiyi indükleyeceğini, zorlu egzersizin neden olduğu stresten dolayı artan Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinin, sıçanlara verilen kayısı katkılı sporcu içeceği ve ticari sporcu içeceklerinin Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyelerinde azalmaya neden olmuştur. Bu azalmanın her iki sporcu içeceğinde bulunan ortak bir maddeden kaynaklandığını düşünülmüştür. Her iki sporcu içeceğinde ortak olarak bulunan maddeler; sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve glikoz olduğu görülmüştür. Literatürü inceldiğimizde potasyum ve sodyum eksikliğinin otofajiyi indükleyeceğini gösteren araştırmalar mevcuttur (217, 218). Mevcut çalışmamızdaki Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyesinde meydana gelen azalmanın kayısı katkılı sporcu içeceği ve ticari sporcu içeceğinde bulunan potasyumdan ve sodyumdan dolayı olduğunu düşünmekteyiz. 2022 yılında yaşlı sıçanlara yapılan bir çalışmada 10 hafta boyunca direnç egzersizi ve ALA (alfa-lipoik asit) takviyesinin iskelet kaslarında beclin-1 seviyelerinin azaldığını görmüşlerdir (219). 2018 yılında farelerde yapılan bir çalışmada Koenzim Q 10 “alımı ve orta düzey fiziksel aktivitenin kombinasyonu” çalışmasında, 8 hafta boyunca 0.5 km /s, % 5 eğimle, 30 dak/gün, haftada 5/7 gün yaptırılmış. Deney sonunda Koenzim Q 10 ve fiziksel egzersiz yapılan farelerin iskelet kaslarındaki beclin-1 seviyelerinin azaldığını görmüşlerdir (208). Zorlu egzersiz ile beraber sporculara

verilen takviye edici maddelerin Beclin-1 mRNA ekspresyon seviyelerinin azaltması bakımından çalışmamız, literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir.

Gastrocnemius kasındaki Atg12 seviyelerini değerlendirdiğimizde ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında, ZE+KKSİ grubunda Atg12 gen seviyesinde anlamlı bir şekilde arttığı, kontrol ile ZE ve ZE+TSİ grubu arasında Atg12 gen seviyesinde bir fark bulunmadığı saptanmıştır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar değerlendirildiğinde; Literatürü incelediğimizde Atg12 mRNA ekspresyon seviyesindeki değişikliğin nedenleri olarak yaş, egzersizi tipi ve süresi gösterilmiştir (220). Çalışmamızdaki Atg12 mRNA ekspresyon seviyesindeki bu tutarsızlığın egzersiz programının türüne, sıklığına, yoğunluğuna, süresi ve yaştan dolayı kaynaklanmış olabilir (215). Smuder ve ark. 30 m/dk, %0 derece ile 60 dakika/gün için 5 gün ardışık koşu bandı egzersizi sıçanlarda gastrosoleus kasında Atg12 seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla değişmediğini görmüşler (206). Zorlu egzersizin Atg12 seviyesinin değişmeyeceğinin yönündeki bu çalışmaların aksine sonuçlar da bulunmuştur. Jamart ve ark. tarafından 2011 yılında 200 km ultra dayanıklılık yarışına katılan erkek sporcuların yarıştan 2 hafta önce ve yarıştan 3 saat sonra vastus lateralisten bir kas örneği alınarak yapılan çalışmalarında, otofajiye bağlı gen olan Atg12 arttığını görmüşlerdir (221). Başka bir çalışmada sıçanlara açken yapılan düşük yoğunluklu bir koşu egzersizinin (90 dakika boyunca 10 m/dak) gastrocnemius kaslarında Atg12 seviyesinin arttığını görmüşlerdir (222). 2017 yılında 8 hafta direnç programı yaptırılan yaşlı insanlarda Beclin-1 ve Atg12 seviyelerinin arttığını rapor etmişlerdir (223). Literatürü incelediğimizde akut egzersiz yaptırılan sıçanların, egzersizden 0, 3, 6 veya 12 saat alınan kas örneklerinde Atg12 seviyesinin azaldığını ve en çok azalmanın 12 saat sonra alınan dokularda olmuştur. Bizim çalışmamızda Atg12 gen seviyelerinin farklı çıkmasının sebebi uzun süreli ve ağır egzersiz protokolünden ve sıçanların adaptasyon sağlamasından kaynaklanmış olabilir. Bu nedenle akut ve uzun süreli egzersizin iskelet kasındaki otofaji sürecini nasıl düzenlediğini ile adaptasyon mekanizmasını açıklamak için daha fazla çalışma gereklidir (224).

5.3. Zorlu Egzersizin Hipertrofi Üzerine Etkisi

Atrogin ilk olarak iskelet kası atrofisi programlarında önemli bir katılımcı olarak tanımlanan, kalp ve iskelet kasına özgü bir F-box proteindir. Atrogin-1'in ekspresyon seviyesi, Forkhead ailesinin transkripsiyon faktörleri üyeleri tarafından hem iskelet miyositlerinde hem de kardiyomiyositlerde transkripsiyon seviyesinde sıkı bir şekilde

düzenlenir. Atrogin-1 antihipertrofik aktiviteye sahiptir ve patolojik veya fizyolojik uyaranlarla oluşan kardiyak hipertrofiyi inhibe eder (179). Mevcut çalışmamızda, zorlu egzersiz ile birlikte verilen ticari sporcu içeceği ve kaysı katkılı içeceğinin sıçanların sol ventrikül ile gastrocnemius kasında mitokondriyal hipertrofik aktivitesini gösteren Atrogin mRNA ekspresyon seviyelerinin ölçtük.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, sıçanlardan alınan sol ventrikül doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda Atrogin gen seviyesinde anlamlı bir şekilde azaldığı, ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ gruplar arasında Atrogin gen seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı saptanmıştır. Sonuçlarımıza göre genel olarak zorlu egzersiz yaptırılan bütün gruplardaki sıçanların Atrogin mRNA ekspresyon seviyelerinde azalma olduğu için sol ventrikül kardiyomiyositlerinde hipertrofi artırıcı bir etki olduğunu söyleyebiliriz. Sol ventrikül dokusunda Atrogin mRNA ekspresyon seviyelerinde azalma bakımından çalışmamız, literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Zanchi ve ark. yaptığı çalışmada sıçanlara kronik direnç egzersizi yaptırılan sıçanların kas dokusunda kontrol grubuna kıyasla Atrogin düzeylerinin %61,19 oranında azaldığını bulmuşlardır (18). 2020 yılında yapılan bir çalışmada, 12 hafta boyunca 21 aylık sıçanlara koşu bandı egzersizi (12m/dk, %0 derece ile 60 dakika/gün için haftada 3 gün), direnç egzersizi ve gönüllü tekerlek koşusu olmak üzere gruplara ayrılmış. Deney sonunda sıçanların kaslarında Atrogin seviyelerinin azaldığını görmüşlerdir (215). 2018 yılında farelerde yapılan bir çalışmada Koenzim Q 10 alımı ve orta düzey fiziksel aktivitenin kombinasyonu çalışmasında, 8 hafta boyunca 0.5 km /s, % 5 eğimle, 30 dakika, haftada 5/7 gün yaptırılmış. Deney sonunda Koenzim Q 10 fiziksel egzersiz yapılan farelerin iskelet kaslarındaki Atrogin seviyelerinin azaldığını görmüşlerdir (208). Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında, zorlu egzersiz sol ventrikül ve gastrocnemius kasında atrogin mRNA ekspresyon seviyelerinde azalma meydana gelmesi, literatürdeki egzersiz yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Sıçanlara zorlu egzersizle birlikte verilen KKSİ ve TSİ'nin sol ventrikül kasında atrogin mRNA ekspresyon seviyelerinde her hangi bir değişikliğe neden olmamıştır.

Gastrocnemius kasındaki Atrogin seviyelerini değerlendirdiğimizde ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE ve ZE+TSİ grubunda Atrogin mRNA ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir şekilde azaldığı, kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda Atrogin mRNA ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir şekilde arttığı görüldü.

ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda Atrogin mRNA ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir şekilde arttığı saptanmıştır. Ayrıca ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda Atrogin gen seviyesinde anlamlı bir şekilde arttığı sonucu elde edilmiştir. 2021 yılında yapılan bir çalışmada, bir gruba 8 haftalık aşamalı merdiven egzersizi, bir grubu da 8 hafta boyunca koşu bandında (günde 20 m/dk, günde 60 dakika, 4 kez/hafta) aerobik egzersiz yaptırılan sıçanlarda, iskelet kası tipinden bağımsız olarak gastrocnemius ve soleus kaslarındaki Atrogin seviyelerinin önemli ölçüde azalttığını bulmuşlardır (216). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar değerlendirildiğinde; Sonuçlarımıza göre genel olarak zorlu egzersiz yaptırılan ZE ve ZE+TSİ gruplardaki sıçanların Atrogin mRNA ekspresyon seviyelerinde azalma olduğu için gastrocnemius kaslarında hipertrofiyi arttırıcı bir faktör olduğunu söyleyebiliriz. Bu bulgular sol ventrikül dokularında yapılan mevcut tez çalışmamızdaki ZE ve ZE+TSİ gruplarında görülen azalmayla benzerlik göstermektedir. Daha önceki çalışmalarda aerobik egzersizin AKT FOXO3_a yolağı ile atrogin inhibe ettiğini göstermişlerdir (216). Fakat çalışmamızda ZE+KKSİ grubunda atrogin düzeyinde ilginç bir şekilde artma görüldüğü gözlemlendi. Feng ve ark. 2011 yılında yaptıkları çalışmada, doğal bir zeytin polifenolü olan Hydroxytyrosol (HT)'nin yorucu veya aşırı egzersizin yorgunluğa, kas ve bağışıklık fonksiyonlarında hasarlarını araştırmışlar. 8 hafta, haftada 6 gün, günde 1 saat, 20 m/dk hızda ve 5° eğimde motorlu bir koşu bandında koşturulan sıçanların, Atrogin beclin-1 ve atg7 seviyelerinin arttırdığını, HT takviyesinin Atrogin beclin-1 ve atg7 seviyelerinin azalttığını görmüşlerdir (225). Bu durum sebebi tam anlaşılamamış olsa da literatür verilerine bakıldığında atrogin düzeyinin kas hipertrofisi ile korelasyon içerisinde olmadığı görülmüştür (226). Bazı çalışmalarda kas kütlesinin artışıyla birlikte atrogin düzeyi artarken bazı çalışmalarda ise azaldığı görülmüştür (226). Atrogin düzeyi kas hipertrofisi dışında yaş, beslenme, egzersiz tipi, süresi ve egzersize adaptasyon mekanizmaları gibi birçok faktörden de etkilenebilmektedir (227).

Bizim çalışmamızda atrogin gen seviyelerinin farklı olmasının koşu protokolümüzün aşırı zor olması, yüksek ROS üretimi, mitokondriyal biyogenezinin bozulmasına, otofajiye ve mitokondriyal fisyon aktivasyonunda bozulmadan dolayı kaynaklanmış olabilir (228). İskelet ve kalp kasında kasta egzersize bağlı adaptasyonlar oldukça spesifiktir. Egzersizin türüne, sıklığına, yoğunluğuna ve süresinden etkilenir (229). Mevcut tez çalışmamızda kayısı katkılı sporcu içeceği verilen grupta mRNA ekspresyon seviyesinin yüksek çıkması sporcu içeceğine konulan kayısının içindeki

maddelerden dolayı olabilir. Kayısı ve atrogin düzeyi arasındaki ilişkinin ortaya konula bilmesi için yeni çalışmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

5.4. Zorlu Egzersizin Mitokondri Sayı ve Fonksiyon Üzerine Etkisi

COXII, çoğu dokuda ekspresyonu düşük olan veya olmayan, ancak mitojenler ve sitokinler tarafından geçici olarak indüklenen ani/erken bir gendir. Genellikle bir pro-inflamatuar role sahip olduğu kabul edilir ve kök hücrelerinin mitojenik aktivasyonu COXII'nin yukarı regülasyonu ile ilişkili olduğundan COXII yolunun miyoblast proliferasyonunu düzenler. COXII geni, mitokondriyal DNA (mtDNA) miktarını belirlemede RT-qPCR yöntemiyle egzersize bağlı mitokondriyal disfonksiyonu şiddetini ve ilerlemesini değerlendirmek için kullanılır (135).

Akonitaz, bir [4Fe-4S] kümesi içeren ve iki izoformda bulunan bir enzimdir. Mitokondriyal izoform, trikarboksilik asit (TCA) döngüsünde sitratın izositrata dönüşümünü katalize eder ve sitozolik izoform ise, demir metabolizmasında yer alır. Akonitaz, mitokondride neredeyse tamamen lokalize ve ROS tarafından inaktive edilen bir mitokondriyal enzimdir. Mevcut çalışmamızda, zorlu egzersiz ile birlikte verilen ticari sporcu içeceği ve kaysı katkılı içeceğinin sıçanların iskelet ve kalp kasında mitokondriyal DNA (mtDNA) miktarını gösteren COXII mtDNA ekspresyon seviyelerinin ve mitokondri fonksiyonunu gösteren Akonitaz aktivite seviyelerini ölçtük.

5.4.1. Sol Ventrikülde Zorlu Egzersizin Mitokondri Sayı ve Fonksiyonu Üzerine Etkisi

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, sıçanlardan alınan sol ventrikül doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda COXII mtDNA ekspresyon seviyesinde anlamlı bir şekilde arttığı, ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ grubunda mtDNA ekspresyon seviyesinde anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır. ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda COXII mtDNA ekspresyon seviyesinde anlamlı bir şekilde azaldığı, ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda COXII mtDNA ekspresyon seviyesinde anlamlı bir şekilde arttığı saptanmıştır. Sonuçlarımıza göre genel olarak zorlu egzersiz yaptırılan bütün gruplardaki sıçanların COXII mtDNA ekspresyon seviyelerinde artma olduğu için sol ventrikülde mitokondri kopya sayısının arttığını söyleyebiliriz. Bununla birlikte mitokondriyal biyogenez, oksidatif metabolizma ve düzenli fiziksel egzersizden sonra

önemli ölçüde artan otofajinin kontrolünde önemli genlerin seviyesinin analizi ile doğrulanır (230). Bu bağlamda, KKSİ'nin zorlu egzersizin neden olduğu mitokondriyal bozulmayı önleyebildiğini ve ayrıca mitokondriyal sayıyı arttırdığını söyleyebiliriz. Kayısı katkılı sporcu içeceği sol ventrikül kasındaki COXII mtDNA ekspresyon seviyelerinde artması bakımından çalışmamız, literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Adreani ve ark. 2018 yılında farelerde yaptıkları Koenzim Q10 Alımı ve orta düzey fiziksel aktivitenin kombinasyonu çalışmasında, sedanter, egzersiz, Koenzim Q, Koenzim Q 10 ve egzersiz olmak üzere 4 grup oluşturulmuş. Egzersiz iki ay boyunca 0.5 km / s,% 5 eğimle, 30 dakika, haftada 5/7 gün yaptırılmış. Deney sonunda koenzim Q10 ve egzersiz grubunda önemli ölçüde daha COXII geni sayısı tespit etmişlerdir (208). Zuo ve ark. yaptıkları çalışmada, egzersiz gruplarındaki sıçanlar, 90 dakika boyunca 16 m/dk'da 16 derecelik bir negatif eğimli motorlu bir koşu bandında bir yokuş aşağı koşu egzersizi yaptırılan sıçanlarda COXII geninin koşudan 12 saat sonra önemli ölçüde arttığını bulmuşlardır (231). Bu çalışmaların aksine Beak ve ark. yaptıkları çalışmada, 4 hafta boyunca, haftada 5 kez, günde 60 dk yüksek yoğunluklu egzersiz ve 2.86 g/kg siyah sarımsak takviyesi verilen sıçanlarda COXII gen ifadesi tüm gruplarda değişmediğini görmüşlerdir (232).Yaptığımız çalışmada COXII mtDNA ekspresyon seviyesinin yüksek olmasının nedeni, koşu protokolümüzün uzun, ağır ve sıçanların bu süre içinden koşmaya adapte olmasından dolayı yorumunu yapabiliriz

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, sıçanlardan alınan sol ventrikül doku örneklerinde; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE ve ZE+TSİ grubunda Akonitaz aktivite seviyesinde anlamlı bir şekilde arttığı, kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır. ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde anlamlı bir şekilde azaldığı, ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde anlamlı bir şekilde arttığı saptanmıştır. Ayrıca ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır. Sonuçlarımıza göre çalışmadan elde ettiğimiz veriler neticesinde zorlu egzersiz yapılan gruptaki sıçanların kalp kasında akonitaz aktivitesini kontrol ile karşılaştırıldığında, yoğun egzersiz grubunun akonitaz aktivitesi artmış bu da zorlu egzersizin sonucunda seviyesinin arttığını düşündürmektedir. Sol ventrikül dokusunda akonitaz aktivite seviyesinde artması bakımından çalışmamız, literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Yapılan bir çalışmada, erkek

Wistar sıçanları, kontrol, normoksik-egzersiz (1 saat/gün/5 hafta), hipoksik-sedanter (6000 m, 5 saat/gün/5 hafta) olarak gruplara ayrılmış. Deney sonunda mitokondriyal akonitaz enzim aktivitelerinin arttığını görmüşler (233). Caldwell ve ark. 2020 yılında yaptıkları çalışmada, 13-15 aylık fareleri, 12 hafta boyunca, haftada 3 gün, günde 1 saat koşu bandı egzersizine tabi tutulmuş. Akonitaz aktivitesi ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyon komplekslerinin arttığını bulmuşlar (234). Bu çalışmaların aksine, Ozturk ve ark. 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada, 4 aylık ve 24 aylık dişi sıçanlar sedanter genç, sedanter yaşlı ve egzersiz yapan yaşlı olmak üzere üç gruba ayrılmış. Yüzme egzersizi 8 hafta (60 dk/gün, 5 gün/hafta) uygulanmış. Kalp dokusunda alınan örneklerde akonitaz aktivitesinde azalma olduğunu söylemişler (235). Fakat çalışmamızda zorlu egzersiz ve TSİ'nin beraber verilmesi akonitaz aktivitesi seviyelerine daha fazla artmasına neden olmuştur. Bu duruma TSİ'nin içeriğinde bulunan bazı maddelerden kaynaklanmış olabilir. KKSİ ile zorlu egzersizde akonitaz aktivitesi seviyeleri TSİ ile zorlu egzersize kıyasla daha düşük olmasının nedeni ise sporcu içeceklerinin içeriklerinin nispeten farklı olması ve KKS'nin içeriğinde bulunan kaysının içindeki polifenol, vitaminler, karotenoidler ve mineraller gibi maddelerden kaynaklanmış olabilir. Kayısı katkılı sporcu içeceği verilen grupta, miyofibriller ve mitokondri üzerindeki yoğun egzersiz kaynaklı ultrastrüktürel anormallik veya düzensizlik, kısmen düzensiz kalp kası lifleri ve hafif şişmiş mitokondriye rağmen, büyük ölçüde mitokondrilerin iyileşmişinden dolayı akonitaz aktivitesi seviyesinin azaldığını söyleyebiliriz. Egzersiz nedeni ile indüklenen-artan ROS üretiminin ve bunun sonucunda hücre içi redoks durumunun değişmesinin, egzersize yanıt olarak kas adaptasyonunu teşvik etmek için gerekli olan sinyal yollarının düzenlenmesinde ve akonitaz aktivitesi üstünde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (236). Ayrıca sonuçlarımız göre egzersizin, tekrarlanan zorlu egzersizin, kalp mitokondrilerinde önemli ultrastrüktürel malformasyona otofajik işlev bozukluğuna neden olduğunu göstermiştir. Bu zararlı değişiklikler, aşırı egzersiz yapan sıçanlarda ticari sporcu içeceği takviyesi ile açıkça kısmen iyileştirdiğini söyleyebiliriz. Sol ventrikül dokusunda zorlu egzersizle beraber çeşitli polifenol, karotenoidler ve C vitamini gibi takviyelerinin akonitaz aktivite seviyesinde azaltması bakımından çalışmamız, literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Gao ve arkadaşlarının 2014 yılında antioksidan etkiye sahip, doğal olarak oluşan bir flavonoid olan quercetin yoğun egzersize bağlı mitokondriyal oksidatif stres ve disfonksiyon üzerindeki koruyucu

etkisini değerlendirmek için yaptıkları bir çalışmada sıçanları kontrol, yoğun egzersiz, yoğun egzersiz + quercetin takviyesi ve quercetin takviyesi olarak gruplar oluşturulmuş. 4 hafta (90 dk/gün, 7 gün/hafta) koşma egzersizi ve quercetin (100 mg/kg vücut ağırlığı) oral gavaj yoluyla uygulanmış. Deney sonunda, Quercetin tedavisi, yoğun egzersiz yapılan sıçanların kardiyak mitokondrilerinde akonitaz enzim aktivesinin kontrol grubuna göre azaldığını göstermişlerdir (237).

5.4.2. Gastrocnemius Kasında Zorlu Egzersizin Mitokondri Sayı ve Fonksiyonu zerine Etkisi

Gastrocnemius kasındaki COXII mtDNA ekspresyon seviyelerini değerlendirdiğimizde ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE, ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda COXII mtDNA ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir şekilde arttığı, ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ grubunda COXII mtDNA ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır. ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda COXII mtDNA ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir şekilde arttığı, ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda COXII mtDNA ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir şekilde arttığı sonucu elde edilmiştir. Sonuçlarımıza göre genel olarak zorlu egzersiz yaptırılan bütün gruplardaki sıçanların COXII mtDNA ekspresyon seviyelerinde artma olduğu için gastrocnemius kasında mitokondri kopya sayısının arttığını söyleyebiliriz. KKSİ zorlu egzersizin neden olduğu mitokondriyal bozulmayı önleyebildiğini ve ayrıca mitokondriyal sayıyı arttırdığını söyleyebiliriz. Kayısı katkılı sporcu içeceği sol ventrikül kasındaki COXII mtDNA ekspresyon seviyelerinde artması bakımından çalışmamız, literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Yapılan bir çalışmada sıçanlara 8 hafta boyunca, haftada 6 gün, 60 dakika koşu bandı egzersizi yaptırılan sıçanlarda COXII protein seviyelerinin arttığını görmüşler (238). Zhang ve ark. sporcularda yaptığı çalışmada, orta yoğunluklu bir egzersizin akut döneminden sonra artmış akonitaz aktivitesini göstermişler (239).

Gastrocnemius kasındaki Akonitaz aktivite seviyelerini değerlendirdiğimizde ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE+TSİ ve ZE+KKSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde anlamlı bir şekilde arttığı, kontrol grubu ile kıyaslandığında ZE grubunda akonitaz aktivite seviyesinde anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır. ZE grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ ve ZE+TSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde anlamlı bir şekilde arttığı saptanmıştır. Ayrıca ZE+TSİ grubu ile kıyaslandığında ZE+KKSİ grubunda akonitaz aktivite seviyesinde anlamlı bir şekilde arttığı sonucu elde edilmiştir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar değerlendirildiğinde; zorlu egzersiz yapılan gruptaki sıçanların Gastrocnemius kasındaki akonitaz aktivitesini kontrol göre akonitaz aktivitesi azalmış. Bu azalmanın oksidatif dâhil diğer faktörler, ROS, stres, fosforilasyon ve hipoksi mitokondriyal kontrolde de rol oynayabilir (240). Akonitaz, egzersize ve oksidatif strese yanıt veren, hassas bir redoks-regüle protein olarak hareket eder. Akonitaz inhibisyonu mitokondriyal solunumun inhibisyonuna neden olarak hücreyi daha fazla oksidatif stresten korur. Akonitaz inaktive edildiğinde, sitrat birikip ve mitokondriyi oksidatif bozulmadan koruduğunu söyleyebiliriz (241). Gastrocnemius kasındaki dokusunda akonitaz aktivite seviyesinde azalması bakımından çalışmamız, literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Larsen ve ark. yaptığı bir çalışmada, antrenman yapmamış kişilerde yüksek yoğunluklu koşu antrenmanının, akonitaz aktivitesinin azalmasından dolayı mitokondriyal solunumu engelleyebileceğini görmüşler (242). Ho ve ark. sıçanlara yaptığı çalışmada, 3 ay boyunca günde 2 saat zorlu yüzme egzersizi yaptırılmış. Kontrol grubuna göre kıyasla egzersizin akonitaz aktivitelerinin azalmasına neden olabileceğini görmüşler (243). 2021 yılında yapılan bir çalışmada, elit dayanıklılık sporcularında normal antrenman hacimlerine ek olarak 4 hafta boyunca haftada 3 gün orta yoğunlukta sürekli egzersizin ardından yüksek yoğunluklu interval egzersizi yaptırılmış. Deney sonunda akonitaz aktivitesi düzeyinde azalma olduğunu görmüşler (244).

Fakat çalışmamızda zorlu egzersiz ile KKSİ ve TSİ'nin beraber verilmesi akonitaz aktivitesi seviyelerine daha fazla artmasına neden olmuştur. Bu duruma KKSİ ve TSİ'nin içeriğinde bulunan bazı ortak maddelerden kaynaklanmış olabilir. Zorlu egzersizde akonitaz aktivitesi seviyeleri TSİ ile zorlu egzersize kıyasla daha yüksek olmasının nedeni ise sporcu içeceklerinin içeriklerinin nispeten farklı olması ve KKSİ içeriğinde bulunan kaysının polifenollerden, karotenoidler ve C vitaminin etkisinden kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızın sol ventrikül ve gastrocnemius kasında KKSİ ve TSİ'nin Beclin-1, Atg12, Atrogin, COXII mtDNA ekspresyon seviyeleri ve akonitaz aktivite seviyelerinin farklı olmasının nedeninin kalp ve iskelet kasındaki mitokondri yapısı, sayısı, mitokondriyal biyojenik yanıt yollarından dolayı düşünmekteyiz (245). Gastrocnemius gibi iskelet kasları ile kalp kasının fizyolojik ve anatomik yapı ve çalışma sistemleri farklıdır. Bu farklılık kas çalışması üzerinde etkili olan sodyum potasyum ve kalsiyum gibi elektrolitlerin bu iki kas türünde farklı yayılım göstererek

farklı fonksiyonlar meydana getirir. Ayrıca, zorlu egzersizin, ağırlıklı olarak hızlı kasılan bir kasta, karışık lifli veya yavaş kasılan kastan daha fazla adaptasyon ile sonuçlanabilir. Ayrıca zorlu koşu bandı egzersizin yoğunluğunun ve süresinin kademeli olarak arttırılmasının sıçanların koşmaya adapte edebilmiş olabilir. Kalp ve iskelet egzersize oluşan adaptasyondan mekanizmalarının farklı olmasından dolayı iskelet kası ile sol ventrikül kası arasında elde ettiğimiz sonuçlar farklı olabilir (246).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Zorlu egzersiz yaptırılan bütün gruplarda sol ventrikül dokusunda otofaji belirteçlerinde Atg12 ve Beclin-1 seviyelerini artırırken, bu değişimin kayısı katkılı sporcu içeceği ve ticari sporcu içeceği verilen sıçanlarda Beclin-1 seviyelerini azaltmadığı görüldü. Ancak Atg12 seviyesinin kayısı katkılı sporcu içeceği verilen grupta azaldığı görüldü. Bunun, verdiğimiz kayısı katkılı sporcu içeceğinin antioksidan etkisinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.
2. Zorlu egzersiz yaptırılan bütün gruplarda gastrocnemius kasındaki otofaji belirteci Beclin-1 seviyesi artarken, bu değişimin kayısı katkılı sporcu içeceği ve ticari sporcu içeceği verilen sıçanlarda Beclin-1 seviyesinin zorlu egzersize kıyasla azalttığı bulundu. Bunun, kayısı katkılı sporcu içeceği ve ticari sporcu içeceğinin içeriklerinde ortak olarak bulunan sodyum ve potasyum gibi elektrolitlerden kaynaklanabilir.
3. Zorlu egzersiz ve zorlu egzersiz+ticari sporcu içeceği grubunda gastrocnemius kasındaki otofaji belirteci Atg12 değişmediğini kayısı katkılı sporcu içeceği verilen grupta arttığı görüldü. Bunun, verdiğimiz kayısı katkılı sporcu içeceğinin içeriğinde bulunan çeşitli maddelerin Atg12 oluşumu veya yıkımıyla ilgili süreçleri etkileyebileceğini düşünmekteyiz.
4. Zorlu egzersiz yaptırılan bütün gruplarda sol ventrikül dokusunda anitipetrofik belirteci Atrogin seviyesinin değişmediği görüldü. Gastrocnemius kasında ise zorlu egzersiz ve zorlu egzersiz+ticari sporcu içeceği verilen gruplarda azaldığı ancak kayısı katkılı sporcu içeceği verilen grupta arttığı görüldü. Bunun, kayısı katkılı sporcu içeceği verilen grupta atrogin düzeyinin yüksek çıkması sporcu içeceğine konulan kaysının içindeki maddelerden dolayı olabilir. Kalp ve iskelet kasındaki mitokondri yapısı, sayısı, mitokondriyal biyojenik yanıt yolaklarından ve egzersize oluşan adaptasyondan mekanizmalarının farklı olmasında dolayı olduğunu düşünmekteyiz. Kayısı ve Atrogin düzeyi arasındaki ilişkinin ortaya konula bilmesi için yeni çalışmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.
5. Zorlu egzersiz yaptırılan bütün gruplarda sol ventrikül ve gastrocnemius kasındaki mtDNA miktarını gösteren COXII gen seviyesinin arttığı görüldü.

COXII gen seviyesinde ticari sporcu ieeğine kıyasla kaysı katkılı sporcu ieeğinin daha fazla etkili olduğu bulundu. COXII geninin dokularda kayısı katkılı sporcu ieeğine bağlı olarak yükselmiş olması elektron mikroskop bulgularını desteklemektedir.

6. Zorlu egzersiz ve zorlu egzersiz+ticari sporcu ieeği verilen gruplarda sol ventrikül kasındaki akonitaz aktivite seviyesinin arttığı kayısı katkılı sporcu ieeği verilen grupta azaldığı görüldü. Bunun, kayısı meyvesinin içeriğinde bol miktarda bulunan polifenol karotenoidler ve C vitamini gibi maddelerin reaktif oksijen türlerini azaltarak akonitaz seviyesinin azalttığını düşünmekteyiz.
7. Zorlu egzersiz+kayısı katkılı sporcu ieeği ve zorlu egzersiz+ticari sporcu ieeği verilen gruplarda gastrocnemius kasındaki akonitaz aktivite seviyesinin arttığı zorlu egzersiz grubunda azaldığı görüldü. Bunun, ticari ve kaysı katkılı sporcu ieeğinde ortak olarak bulunan sodyum, potasyum ve glikozdan kaynaklanmış olduğunu düşünmekteyiz.
8. Çalışmamızda zorlu egzersiz yaptırılan sıçanların kalp dokusunda miyofibril yapısının bozulduğu ve miyokard dejenerasyonu saptandı. Ek olarak mitokondriyonlarda şiddetli krista hasarı, krista kaybı, dilatasyon ve dejenerasyon izlendi. Ayrıca kardiyomiyositlerde inrasitoplazmik ödem ile heterojen şekil ve büyüklüklerde vakuoller tespit edildi. Zorlu egzersiz+ticari sporcu ieeği verilen sıçanlarda bu mitokondriyal bozuklukların yalnızca kısmen iyileştirirken, zorlu egzersiz+kayısı katkılı sporcu ieeği verilen sıçanların kalp kasında bozulan mitokondriyal fonksiyonları, miyofibril ve mitokondrinin yapısal durumunu önemli ölçüde iyileştirdiği saptandı. Ağır ve uzun süreli egzersizlerde kayısı katkılı sporcu ieeğinin kalp sağlığını korumak için bir fark yarattığı saptanmıştır.
9. Ağır ve uzun süreli egzersiz yapan sporcularda, takviye olarak verilecek kaysı meyvesinin kas atrofisi ve otofajisinin Atrogin ile ilişkili olup olmadığına ayrıca değişen akonitaz dzeyenin mtDNA ile ilişkili olup olmadığını ve etkilerini incelemek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.
10. Yaygın olarak kullanılan ticari sporcu ieeğinin obezite yapma potansiyellerini önlemek için kayısı gibi doğal meyvelerden hazırlanmış sporcu içeceklerinin verilmesi tavsiye edilmelidir.

11. Yaptığımız çalışmada zorlu koşu bandı egzersizinin çizgili ve kalp kasında mitokondriyal disfonksiyonu ile miyokard hasarına sebep olduğu görüldü. Bu nedenle hazırladığımız kaysı katkılı sporcu içeceğinin ticari sporcu içeceğine göre daha fazla koruyucu etkiye sahip olması nedeniyle piyasada satılan sporcu içeceklerinin doğal meyveler eklenerek sporcuların kullanmasını tavsiye edilir.



KAYNAKLAR

1. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Neurobiol Physiol* 2003, 552(2): 335-44.
2. Baykal B. Nörodejeneratif mekanizmaların mitokondriyal disfonksiyon hücre modellerinde proteomik yöntemlerle araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Genetik Anabilim. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli: Kocaeli Üniversitesi, 2011.
3. Bulteau AL, Ikeda-Saito M, Szweda LI, Redox-dependent modulation of aconitase activity in intact mitochondria. *Biochemistry* 2003, 42(50): 14846-55.
4. Theilen NT, Kunkel GH, Tyagi SC. The role of exercise and TFAM in preventing skeletal muscle atrophy. *J Cell Physiol* 2017, 232(9): 2348-58.
5. Psilander N. The effect of different exercise regimens on mitochondrial biogenesis and performance. From The Department Of Physiology And Pharmacology, Thesis For Doctoral Degree, Sweden: Karolinska Institutet, 2014.
6. Gibson ASC, Lambert M, Weston AR, Myburgh KH, Emms M, Kirby P, Noakes TD. Exercise-induced mitochondrial dysfunction in an elite athlete. *Clin J Sport Med* 1998, 8(1): 52-5.
7. Bielecki JW, Pawlicka E, Gorski J. Effect of exhaustive exercise on liver mitochondrial function in the rat. *Acta Physiol Pol* 1988, 39(5): 421-6.
8. Kolwicz Jr SC. An “exercise” in cardiac metabolism. *Front Cardiovasc Med* 2018, 5: 66.
9. Huang SC, Lee FT, Kuo TY, Yang JH, Chien CT. Attenuation of long-term *Rhodiola rosea* supplementation on exhaustive swimming-evoked oxidative stress in the rat. *Chin J Physiol* 2009, 52(5): 316-24.
10. Winklhofer-Roob BM, Khoschsorur G, Meinitzer A, Maritschnegg M, Hiller D, Wuga S, Wonisch W, Cardinault N, Sundl I, Roob JM, Ribalta J. Effects of vitamin E depletion/repletion on vitamin E status and oxidative stress in healthy volunteers. *Clin Nutr Open Sci* 2003, 22: S33.
12. Sobutay T. *Servisi Kayısı sektör araştırması* İstanbul Ticaret Odası Dış Ticaret Şubesi Araştırma İstanbul, 2003.

13. Pialoux V, Mounier R, Ponsot E, Rock E, Mazur A, Dufour S, Richard R, Richalet JP, Coudert J, Fellmann N. Effects of exercise and training in hypoxia on antioxidant/pro-oxidant balance. *Clin Nutr Open Sci* 2006, 60(12): 1345-54.
14. Mason SA, Trewin AJ, Parker L, Wadley GD. Antioxidant supplements and endurance exercise: Current evidence and mechanistic insights. *Redox Biol* 2020, 35: 101471.
15. Dragovic-Uzelac V, Levaj B, Mrkic V, Bursac D, Boras M. The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. *Food Chem* 2007, 102(3): 966-975.
16. Hasima N, Ozpolat B. Regulation of autophagy by polyphenolic compounds as a potential therapeutic strategy for cancer. *Cell Death Dis* 2014, 5(11): e1509-e.
17. Crabtree D, Adler A. Is β -carotene an antioxidant. *Medical hypotheses* 1997, 48(2): 183-7.
18. Zanchi NE, de Siqueira Filho MA, Lira FS, Rosa JC, Yamashita AS, Oliveira-Carvalho CR, Seelaender M, Lancha-Jr AH. Chronic resistance training decreases MuRF-1 and Atrogin-1 gene expression but does not modify Akt, GSK-3 β and p70S6K levels in rats. *Eur J Appl Physiol* 2009, 106(3): 415-23.
19. Ivy JL. Exercise physiology: a brief history and recommendations regarding content requirements for the kinesiology major. *Quest* 2007, 59(1): 34-41.
20. Biddle SJ. Motivation and perceptions of control: Tracing its development and plotting its future in exercise and sport psychology. *J Sport Exerc Psychol* 1999, 21: 1-23.
21. Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep* 1985, 100(2): 126.
22. Lee IM, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT, Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet*, 2012, 380(9838): 219-29
23. Adeniran S, Toriola A. Effects of different running programmes on body fat and blood pressure in schoolboys aged 13-17 years. *J Phys Fit Sports Med* 1988, 28(3): 267-73.

24. Sloan AW, Weir JDV. Nomograms for prediction of body density and total body fat from skinfold measurements. *J appl physiol* 1970, 28: 221-2.
25. Scott C. Misconceptions about aerobic and anaerobic energy expenditure. *J Int Soc Sports Nutr* 2005, 2(2): 1-6.
26. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. *Essentials of exercise physiology*, 5th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 2006.
27. İbrahim K, Akdenk M, Akbulut M, Kurt MK. Effects of Sprint And Plyometric Training on Speed, Jumping And Anaerobic Strenght of Hearing Impaired Male Sportsmen. *IJDSHS3* 2020, 2: 83-99.
28. Åstrand PO, Rodahl K, Dahl HA, Strømme SB. *Textbook of work physiology: physiological bases of exercise*. 1 th ed Australia, Human kinetics, 2003.
29. Guyton A Hall J, Textbook of medical physiology, Çeviri: Çavuşoğlu H. *Tıbbi fizyoloji İstanbul*, Nobel Tıp Kitapevi, 2001: 432-92.
30. Hale T. History of developments in sport and exercise physiology: AV Hill, maximal oxygen uptake, and oxygen debt. *J Sports Sci* 2008, 26(4): 365-40.
31. Ardiç F. Egzersiz reçetesi. *Turk J Phys Med Rehabilitasyon* 2014, 60(2): 1-8.
32. Karacabey K. Egzersiz tiplerinin dihidroepiandrosteron-kortizol hormonları ve metabolik parametreler üzerine etkileri. Sağlık bilimleri Enstitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, 2000.
33. Kılıç Ö. Spontan hipertansif sıçanlarda egzersiz ve onu izleyen egzersizi bırakma (detraining) sürecinin hemoreolojik parametreler üzerine etkisi. Sağlık bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Denizli: Pamukkale Üniversitesi, 2014.
34. Doğanay S. Akut Yorucu Egzersiz Yaptırılan Ratlarda Kan Ve Karaciğer Oksidan/Antioksidan Sistemler Üzerine Bilberry'nin (Yaban Mersini) Etkileri. Sağlık bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2014.

35. Nemoto S, Kasahara Y, Izawa KP, Watanabe S, Yoshizawa K, Takeich N, Kamiya K, Suzuki N, Omiya K, Matsunaga A, Akashi YJ. Effect of carvedilol on heart rate response to cardiopulmonary exercise up to the anaerobic threshold in patients with subacute myocardial infarction . *Heart Vessels* 2019, 34 (6): 957-64.
36. Yıldız SA. Aerobik ve anaerobik kapasitenin anlamı nedir. *Solunum dergisi* 2012, 14(1): 1-8.
37. Frontera WR, Slovik DM, Dawson DM. *Exercise in rehabilitation medicine*, 2th ed. Australia, Human kinetics: 2006
38. Bencke J, Damsgaard R, Saekmose A, Jørgensen P, Jørgensen K, Klausen K. Anaerobic power and muscle strength characteristics of 11 years old elite and non-elite boys and girls from gymnastics, team handball, tennis and swimming. *Scand J Med Sci Sports* 2002, 12(3): 171-8
39. Pescatello LS, Riebe D, Thompson PD. *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription*, 8th Ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 2014.
40. Kujala UM. Evidence on the effects of exercise therapy in the treatment of chronic disease. *Br J Sports Med* 2009, 43(8): 550-5.
41. Nunan D, Mahtani KR, Roberts N, Heneghan C. Physical activity for the prevention and treatment of major chronic disease: an overview of systematic reviews. *Systematic reviews* 2013, 2(1): 1-6.
42. Febbraio MA. Exercise and inflammation. *J Appl Physiol* 2007, 103(1): 376-7.
43. Lin X, Zhang X, Guo J, Roberts CK, McKenzie S, Wu WC, Liu S, Song Y. Effects of exercise training on cardiorespiratory fitness and biomarkers of cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Am Heart Assoc* 2015,4(7): e002014.
44. Ruderman N, Park H, Kaushik VK, Dean D, Constant S, Prentki M, Saha AK. AMPK as a metabolic switch in rat muscle, liver and adipose tissue after exercise *Acta Physiol Scand* 2003, 178: 435-42.
45. Stanford KI, Middelbeek RJ, Townsend KL, Lee M, Takahashi H, So K, Hitchcox KM, Markan KR, Hellbach K, Hirshman MF, Tseng YT, Goodyear LJ. A novel role for subcutaneous adipose tissue in exercise-induced improvements in glucose homeostasis. *Diabetes*. 2015, 64(6): 2002-14.

46. Lundby C, Jacobs RA. Adaptations of skeletal muscle mitochondria to exercise training. *Exp Physiol* 2016, 101(1): 17-22.
47. Riehle C, Wende AR, Zhu Y, Oliveira KJ, Pereira RO, Jaishy BP. Insulin receptor substrates are essential for the bioenergetic and hypertrophic response of the heart to exercise training. *J Clin Microbiol* 2014, 34(18): 3450-60.
48. Konopka AR, Suer MK, Wolff CA, Harber MP. Markers of human skeletal muscle mitochondrial biogenesis and quality control: effects of age and aerobic exercise training. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2014, 69(4): 371-8.
49. Irving BA, Lanza IR, Henderson GC, Rao RR, Spiegelman BM, Nair KS. Combined training enhances skeletal muscle mitochondrial oxidative capacity independent of age. *J Clin Endocrinol Metab* 2015, 100(4): 1654-63.
50. Tao L, Bei Y, Lin S, Zhang H, Zhou Y, Jiang J, Chen P, Shen S, Xiao J, Li X. Exercise training protects against acute myocardial infarction via improving myocardial energy metabolism and mitochondrial biogenesis. *Cell Physiol Biochem* 2015, 37(1): 162-75.
51. Filipkowski P, Pietrow O, Panek A, Synowiecki J. Properties of recombinant trehalose synthase from *Deinococcus radiodurans* expressed in *Escherichia coli*. *Acta Biochim Pol* 2012, 59(3).
52. Lee Y, Min K, Talbert EE, Kavazis AN, Smuder AJ, Willis WT, Powers SK. Exercise protects cardiac mitochondria against ischemia-reperfusion injury. *Med Sci Sports Exerc* 2012, 44(3): 397-405.
53. Pedersen BK. Exercise and cytokines. *Immunol Cell Biol* 2000, 78(5): 532-5.
54. Incalza MA, D'Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascul Pharmacol* 2018, 100: 1-19.
55. Sahna E, Türk G, Atessahin A, Yılmaz S, Olmez E. Remote organ injury induced by myocardial ischemia and reperfusion on reproductive organs, and protective effect of melatonin in male rats. *Fertil Steril* 2007, 88(1): 188-92.
56. Nieman DC. Exercise, infection, and immunity. *Int J Sports Med* 1994, 15(3): S131-S41.

57. Kawada S, Kobayashi K, Ohtani M, Fukusaki C. Cystine and theanine supplementation restores high-intensity resistance exercise-induced attenuation of natural killer cell activity in well-trained men. *J Strength Cond Res* 2010, 24(3): 846-51.
58. Miles MP, Kraemer WJ, Grove DS, Leach SK, Dohi K, Bush JA, Marx OJ, Nindl BC, Volek JS, Mastro AM. Effects of resistance training on resting immune parameters in women. *Eur J Appl Physiol* 2002, 87(6): 506-8.
59. Pilegaard H, Saltin B, Neufer PD. Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1 α gene in human skeletal muscle. *J Physiol* 2003, 546(3): 851-8.
60. Hoier B, Hellsten Y. Exercise-induced capillary growth in human skeletal muscle and the dynamics of VEGF. *Microcirculation* 2014, 21(4): 301-14.
61. Boppart MD, De Lisio M, Witkowski S. Exercise and stem cells. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2015, 135: 423-56.
62. Christos K, Paul D. The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers. *J Am Coll Cardiol* 2005, 45(10): 1563-9.
63. Petro JL, Gallo-Villegas JA, Calderón JC. Uso de espectroscopía de protones para el estudio de lípidos intramusculares en pacientes con síndrome metabólico: análisis secundario del ensayo clínico Intraining-MET. *Iatreia* 2021, 34(1-S): 37-S 8.
64. Veneroso C, Tuñón MJ, González-Gallego J, Collado PS. Melatonin reduces cardiac inflammatory injury induced by acute exercise. *J Pineal Res* 2009, 47(2): 184-91.
65. Powers SK, Quindry JC, Kavazis AN. Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemia–reperfusion injury. *Free Radic Biol Med* 2008, 44(2):193-1.
66. George K, Whyte GP, Green DJ, Oxborough D, Shave RE, Gaze D. The endurance athletes heart: acute stress and chronic adaptation. *Br J Sports Med* 2012, 46(Suppl 1): i29-i36.

67. Lin WT, Yang SC, Tsai SC, Huang CC, Lee NY. L-Arginine attenuates xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in hearts of rats during exhaustive exercise. *Br J Nutr* 2006, 95(1): 67-75.
68. Dorn GW, Vega RB, Kelly DP. Mitochondrial biogenesis and dynamics in the developing and diseased heart. *Genes Dev* 2015, 29(19): 1981-91.
69. Olichon A, Baricault L, Gas N, Guillou E, Valette A, Belenguer P. Loss of OPA1 perturbs the mitochondrial inner membrane structure and integrity, leading to cytochrome c release and apoptosis. *J Biol Chem* 2003, 278(10): 7743-6.
70. Çolakoğlu S, Kırkalı G, Çolakoğlu M, Örmen M, Akan P. Egzersizde E vitamini desteğinin oksidan stres ve dayanıklılık üzerine etkileri. *CBÜ Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi* 1999, 3(3): 1-8.
71. Ahmadiasl N, Najafipour H, Soufi FG, Jafari A. Effect of short-and long-term strength exercise on cardiac oxidative stress and performance in rat. *J Biol Chem* 2012, 68(1): 121-8.
72. Apple FS, Quist HE, Otto AP, Mathews WE, Murakami MM. Release characteristics of cardiac biomarkers and ischemia-modified albumin as measured by the albumin cobalt-binding test after a marathon race. *Clin Chem* 2002, 48(7): 1097-100.
73. Safi K. Akut yoğun egzersiz yaptırılmış erkek sıçanlarda bazı yangısal belirteçler ve kalp hasarı üzerine melatoninin etkilerinin araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Enstitüsü, 2019.
74. Aslani A, Babae Bigi MA, Moaref AR, Aslani A. Effect of extreme exercise on myocardial function as assessed by tissue Doppler imaging. *Echocardiography* 2009, 26(9): 1036-40.
75. Bisaccia G, Ricci F, Gallina S, Di Baldassarre A, Ghinassi B. Mitochondrial dysfunction and heart disease: critical appraisal of an overlooked association. *Int J Mol Sci* 2021, 22(2): 614.
76. Coombes JS, Hamilton KL. The effectiveness of commercially available sports drinks. *Sports Med* 2000, 29(3):181-209.

77. Orrù S, Imperlini E, Nigro E, Alfieri A, Cevenini A., Polito R, Mancini A. Role of functional beverages on sport performance and recovery. *Nutrients* 2018, 10(10): 1470.
78. Yarar H, Gökdemir K, Eroğlu H, Özdemir G. Evaluation of knowledge for diet and dietary habits of elite athletes. *Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilim Dergisi* 2011, 13(3):368-71.
79. Jeukendrup A, Wallis G. Measurement of substrate oxidation during exercise by means of gas exchange measurements. *Int J Sports Med* 2005, 26(1): S28-S37.
80. Burke LM, Hawley JA, Wong SH, Jeukendrup AE. Carbohydrates for training and competition. *J Sports Sci* 2011, 29(sup1): S17-S27.
81. Brink-Elfegoun T, Ratel S, Leprêtre PM, Metz L, Ennequin G, Doré E. Effects of sports drinks on the maintenance of physical performance during 3 tennis matches: a randomized controlled study. *J Int Soc Sports Nutr* 2014, 11(1): 1-10.
82. Field AE, Sonnevile KR, Falbe J, Flint A, Haines J, Rosner B. Association of sports drinks with weight gain among adolescents and young adults. *Obesity*. 2014, 22(10): 2238-43.
83. Schneider MB, Benjamin HJ. Sports drinks and energy drinks for children and adolescents: are they appropriate? *Pediatrics* 2011, 127(6): 1182-9.
84. Hayoğlu İ, Toğrul Ö. Yeni bir izotonik içecek olarak; nar, kızılıçık ve karadut suları ile zenginleştirilmiş elma suyu üretim olanakları. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi* 2020, 24(2): 165-73.
85. Rehrer N. The maintenance of fluid balance during exercise. *Int J Sports Med* 1994, 15(03): 122-5.
86. Sawka MN, Burke LM, Eichner ER, Maughan RJ, Montain SJ, Stachenfeld NS. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and fluid replacement. *Med Sci Sports Exerc* 2007, 39(2): 377-90.
87. Vera S. Developing a sports nutrition formulary for the Academy of Nutrition and Dietetics Sports Nutrition Care Manual. Department Of Nutrition, Nutrition Theses, Georgia: Georgia State University, 2013.

88. Sanders B, Noakes T, Dennis S. Sodium replacement and fluid shifts during prolonged exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 2001, 84(5): 419-25.
89. Bilzon J, Murphy J, Allsopp A, Wootton S, Williams C. Influence of glucose ingestion by humans during recovery from exercise on substrate utilisation during subsequent exercise in a warm environment. *Eur J Appl Physiol* 2002, 87(4): 318-26.
90. Benardot D. *Advanced sports nutrition*, 1 th ed. Australia, Human kinetics, 2020.
91. Burke LM. Nutritional needs for exercise in the heat. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2001, 128(4): 735-48.
92. Kavouras SA, Armstrong LE, Maresh CM, Casa DJ, Herrera-Soto JA, Scheett TP. Rehydration with glycerol: endocrine, cardiovascular, and thermoregulatory responses during exercise in the heat. *J Appl Physiol* 2006, 100(2): 442-50.
93. Maughan R, Bethell L, Leiper J. Effects of ingested fluids on exercise capacity and on cardiovascular and metabolic responses to prolonged exercise in man. *Exp Physiol* 1996, 81(5): 847-59.
94. Nieman DC, Nehlsen-Cannarella SL, Fagoaga OR, Henson DA, Utter A, Davis JM. Effects of mode and carbohydrate on the granulocyte and monocyte response to intensive, prolonged exercise. *J Appl Physiol* 1998, 84(4): 1252-9.
95. Cheuvront SN, Carter R, Haymes EM, Sawka MN. No effect of moderate hypohydration or hyperthermia on anaerobic exercise performance. *Med Sci Sports Exerc* 2006, 38(6): 1093-7
96. Sawka MN, Coyle EF. Influence of body water and blood volume on thermoregulation and exercise performance in the heat. *Exerc Sport Sci Rev* 1999, 27:167-218.
97. Von Duvillard SP, Braun WA, Markofski M, Beneke R, Leithäuser R. Fluids and hydration in prolonged endurance performance. *Nutrition* 2004, 20(7-8): 651-6.
98. Azevedo Jr JL, Tietz E, Two-Feathers T, Paull J, Chapman K. Lactate, fructose and glucose oxidation profiles in sports drinks and the effect on exercise performance. *PLoS One*. 2007, 2(9): e927.

99. Ückert S, Joch W. Effects of warm-up and precooling on endurance performance in the heat. *Br J Sports Med* 2007, 41(6): 380-4.
100. Vallier J, Grego F, Basset F, Lepers R, Bernard T, Brisswalter J. Effect of fluid ingestion on neuromuscular function during prolonged cycling exercise. *Br J Sports Med* 2005, 39(4): e17-e.
101. Güçlü K, Altun M, Özyürek M, Karademir SE, Apak R. Antioxidant capacity of fresh, sun-and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods. *Int J Food Sci Technol* 2006, 41: 76-85.
102. Prakash O, Jain D, Nikumbhe P, Srivastava S, Raghuvanshi M. Significance, status and scope of apricot in India: A review. *Int J Chem Stud* 2020, 8(6): 05-11.
103. Gecer MK, Kan T, Gundogdu M, Ercisli S, Ilhan G, Sagbas HI. Physicochemical characteristics of wild and cultivated apricots (*Prunus armeniaca* L.) from Aras valley in Turkey. *Genet Resour Crop Evol* 2020, 67(4): 935-45.
104. Coşkun AL, Türkyılmaz M, Aksu ÖT, Koç BE, Yemiş O, Özkan M. Effects of various sulphuring methods and storage temperatures on the physical and chemical quality of dried apricots. *Food chemistry* 2013, 141(4): 3670-80.
105. Siddiq M. Stone fruits production, postharvest storage, processing and nutrition. In: Muzzalupo I, Micali S (eds). *Agricultural and Food Biotechnology of Olea Europaea and Stone Fruits*, 1nded. Rome, Bentham Science Publishers, 2015: 309-83.
106. Kretser A, Murphy D, Starke-Reed P. A partnership for public health: USDA branded food products database. *J Food Compost Anal* 2017, 64: 10-2.
107. Bakan E, Akbulut ZT, İnanc AL. Carotenoids in foods and their effects on human health. *Akademik Gıda* 2014, 12(2): 61-68.
108. Özay G. Kayısı ve incir meyvelerinin antioksidan kapasitelerinin araştırılması: Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, 2008.
109. Akin EB, Karabulut I, Topcu A. Some compositional properties of main Malatya apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties. *Food Chem* 2008, 107(2): 939-48.

110. Özşahin AD. Malatya yöresine ait bazı üzüm ve kayısı çeşitlerinin fitokimyasal içeriklerine bağlı olarak antioksidan aktivitelerinin araştırılması: Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Elazığ : Fırat Üniversitesi, 2010.
111. Ercisli S. Apricot culture in Turkey. *Sci Res Essays* 2009, 4(8): 715-9.
112. Ruiz D, Egea J, Gil M, Tomas-Barberan F, editors. Phytonutrient content in new apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties. *XIII International Symposium on Apricot Breeding and Culture* 2015, 717.
113. Parlakpınar H, Olmez E, Acet A, Ozturk F, Tasdemir S, Ates B, Gul M, Otlu A. Beneficial effects of apricot-feeding on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Food Chem Toxicol* 2009, 47(4): 802-8.
114. Farré G, Sanahuja G, Naqvi S, Bai C, Capell T, Zhu C, Christou P. Travel advice on the road to carotenoids in plants. *Plant Sci.* 2010, 179(1-2): 28-48.
115. Van Vliet T, Van Schaik F, Van Den Berg H, Schreurs W. Effect of Vitamin A and β -Carotene Intake on Dioxygenase Activity in Rat Intestine. *Ann N Y Acad Sci* 1993, 691(1): 220-2.
116. Yonekura L, Nagao A. Intestinal absorption of dietary carotenoids. *Mol Nutr Food Res* 2007, 51(1): 107-15.
117. Woodall AA, Lee SM, Weesie RJ, Jackson MJ, Britton G. Oxidation of carotenoids by free radicals: relationship between structure and reactivity. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1997, 1336(1): 33-42.
118. Silva HD, Cerqueira MA, Souza BW, Ribeiro C, Avides MC, Quintas MA, Vicente AA. Nanoemulsions of β -carotene using a high-energy emulsification–evaporation technique. *J Food Eng* 2011, 102(2): 130-5.
119. Ruiz D, Egea J, Tomás-Barberán FA, Gil MI. Carotenoids from new apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties and their relationship with flesh and skin color. *J Agric Food Chem* 2005, 53(16): 6368-74.
120. Bohn T, McDougall GJ, Alegría A, Alminger M, Arrigoni E, Aura AM, Brito C, Cilla A, El SN, Karakaya S, Martínez-Cuesta MC, Santos C. N. Mind the gap—deficits in our knowledge of aspects impacting the bioavailability of phytochemicals and their metabolites—a position paper focusing on carotenoids and polyphenols. *Mol Nutr Food Res* 2015, 59(7): 1307-23.

121. Akalin EB. Berrak kayısı suyu eldesinde beta karoten kazanımının artırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Malatya:İnönü Üniversitesi, 2016.
122. Kikugawa K, Hiramoto K, Tomiyama S, Asano Y. β -Carotene effectively scavenges toxic nitrogen oxides: nitrogen dioxide and peroxyntous acid. *FEBS Lett* 1997, 404(2-3): 175-8.
123. Khodosevich K, Monyer H. Signaling involved in neurite outgrowth of postnatally born subventricular zone neurons in vitro. *BMC Neurosci* 2010, 11(1): 1-11.
124. Sathasivam R, Ki J-S. A review of the biological activities of microalgal carotenoids and their potential use in healthcare and cosmetic industries. *Mar Drugs* 2018, 16(1): 26.
125. Ashton T, Young IS, Peters JR, Jones E, Jackson SK, Davies B, Rowlands CC. Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. *J Appl Physiol* 1999, 87(6): 2032-6.
126. Wadley GD, Nicolas MA, Hiam D, McConell GK. Xanthine oxidase inhibition attenuates skeletal muscle signaling following acute exercise but does not impair mitochondrial adaptations to endurance training. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013, 304(8): E853-E862.
127. St-Pierre J, Drori S, Uldry M, Silvaggi JM, Rhee J, Jäger S, Spiegelman BM. Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. *Cell*. 2006, 127(2): 397-08.
128. Irrcher I, Ljubcic V, Hood DA. Interactions between ROS and AMP kinase activity in the regulation of PGC-1 α transcription in skeletal muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009, 296(1): C116-C123.
129. Torlak MS, Torlak SE. Diyetle Alınan Antioksidan Maddeleri ve Egzersiz. *Spor Eğitim Dergisi* 2017, 1(1):1-17.
130. Pialoux V, Mounier R, Rock E, Mazur A, Schmitt L, Richalet J-P, Fellmann N. Effects of acute hypoxic exposure on prooxidant/antioxidant balance in elite endurance athletes. *Int J Sports Med* 2009, 30(02):87-3.

131. Wallace DC. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu Rev Genet* 2005, 39: 359-407.
132. Kwak SH, Park KS, Lee KU, Lee HK. Mitochondrial metabolism and diabetes. *J Diabetes Investig* 2010, 1(5): 161-9.
133. Singer M. The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure. *Virulence*. 2014, 5(1): 66-2.
134. Frye RE, Rossignol DA. Mitochondrial dysfunction can connect the diverse medical symptoms associated with autism spectrum disorders. *Pediatr Res* 2011, 69(8): 41-7.
135. O'Rourke B. From bioblasts to mitochondria: ever expanding roles of mitochondria in cell physiology. *Front Physiol* 2010, 1: 7.
136. Smith RA, Hartley RC, Cocheme HM, Murphy MP. Mitochondrial pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* 2012, 33(6): 341-52.
137. Wen R, Banik B, Pathak RK, Kumar A, Kolishetti N, Dhar S. Nanotechnology inspired tools for mitochondrial dysfunction related diseases. *Adv Drug Deliv Rev* 2016, 99: 52-69.
138. Chipuk J, Bouchier-Hayes L, Green D. Mitochondrial outer membrane permeabilization during apoptosis: the innocent bystander scenario. *Cell Death Differ* 2006, 13(8):1396-402.
139. Alberts B, Dennis B, Lewis J. *Molecular biology of the cell*. 4th ed New York: Garland-Puglisshing, 2002.
140. Bhatti JS, Bhatti GK, Reddy PH. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders—A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2017, 1863(5): 1066-77.
141. Kubli DA, Gustafsson ÅB. Mitochondria and mitophagy: the yin and yang of cell death control. *Circ Res* 2012, 111(9): 1208-21.
142. Angara S, Bhandari V. Targeting mitochondrial dysfunction in lung diseases: emphasis on mitophagy. *Front Physiol* 2013, 4: 384.

143. Ding W, Xu C, Wang B, Zhang M. Rotenone attenuates renal injury in aldosterone-infused rats by inhibiting oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and inflammasome activation. *Med Sci Monit* 2015, 21: 3136.
144. Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD. *Basic Neurochemistry*, 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999: 379-91.
145. Nourshahi M, Damirchi A, Babaei P, Gholamali M, Salehpour M. Mitochondrial biogenesis in skeletal muscle: Exercise and aging. *Skeletal Muscle-From Myogenesis to Clinical Relations* 2012: 219-42.
146. Brand MD, Nicholls DG. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. *Biochem J* 2011, 435(2):297-12.
147. Montgomery MK, Turner N. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update. *Endocr Connect* 2015,4(1): R1-R15.
148. Park CB, Larsson N-G. Mitochondrial DNA mutations in disease and aging. *J Cell Biol* 2011, 193(5): 809-18.
149. Lim S, Cho YM, Park KS, Lee HK. Persistent organic pollutants, mitochondrial dysfunction, and metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2010, 1201(1): 166-76.
150. Bouitbir J, Charles A-L, Echaniz-Laguna A, Kindo M, Daussin F, Auwerx J, Piquard F, Geny B, Zoll J. Opposite effects of statins on mitochondria of cardiac and skeletal muscles: a 'mitohormesis' mechanism involving reactive oxygen species and PGC-1. *Eur Heart J* 2012, 33(11): 1397-407.
151. Kalghatgi S, Spina CS, Costello JC, Liesa M, Morones-Ramirez JR, Slomovic S, Molina A, Shiriha OS, Collins JJ. Bactericidal antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in mammalian cells. *Sci Transl Med* 2013, 5(192): 192ra85-ra85.
152. Laguens R, Lozada B, Dumm C, Beramendi A. Effect of acute and exhaustive exercise upon the fine structure of heart mitochondria. *Experientia*. 1966, 22(4): 244-6.
153. Bishop DJ, Granata C, Eynon N. Can we optimise the exercise training prescription to maximise improvements in mitochondria function and content? *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 2014, 1840(4): 1266-75.

154. Fernström M, Tonkonogi M, Sahlin K. Effects of acute and chronic endurance exercise on mitochondrial uncoupling in human skeletal muscle. *J Physiol* 2004, 554(3):755-63.
155. Spina RJ, Chi M, Hopkins MG, Nemeth P, Lowry O, Holloszy J. Mitochondrial enzymes increase in muscle in response to 7-10 days of cycle exercise. *J Appl Physiol* 1996, 80(6): 2250-4.
156. Tarnopolsky MA, Rennie CD, Robertshaw HA, Fedak-Tarnopolsky SN, Devries MC, Hamadeh MJ. Influence of endurance exercise training and sex on intramyocellular lipid and mitochondrial ultrastructure, substrate use, and mitochondrial enzyme activity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007, 292(3): R1271-R8.
157. Ostojic SM, Ratgeber L, Olah A, Betlehem J, Pongras A. What do over-trained athletes and patients with neurodegenerative diseases have in common? Mitochondrial dysfunction. *Exp Biol Med* 2021, 246(11): 1241-3.
158. Taylor SD, Ericson NG, Burton JN, Prolla TA, Silber JR, Shendure J. Targeted enrichment and high-resolution digital profiling of mitochondrial DNA deletions in human brain. *Aging cell*. 2014, 13(1): 29-38.
159. Gollnick PD, Ianuzzo CD, Williams C, Hill T. Effect of prolonged, severe exercise on the ultrastructure of human skeletal muscle. *Arbeitsphysiologie* 1969, 27(4): 257-65.
160. Gollnick PD, King DW. Effect of exercise and training on mitochondria of rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 1969, 216(6): 1502-9.
161. Sakai Y, Iwamura Y, Hayashi JI, Yamamoto N, Ohkoshi N, Nagata H. Acute exercise causes mitochondrial DNA deletion in rat skeletal muscle. *Muscle Nerve* 1999, 22(2): 258-61.
162. Nadanaciva S, Will Y. New insights in drug-induced mitochondrial toxicity. *Curr Pharm Des* 2011, 17(20): 2100-12.
163. Biswas G, Guha M, Avadhani NG. Mitochondria-to-nucleus stress signaling in mammalian cells: nature of nuclear gene targets, transcription regulation, and induced resistance to apoptosis. *Gene* 2005, 354: 132-9.

164. Kennedy SC, Rauner R, Gawron O. On pig heart aconitase. *Biochem Biophys Res Commun* 1972, 47(4): 740-5.
165. Koen AL, Goodman M. Aconitate hydratase isozymes: subcellular location, tissue distribution and possible subunit structure. *Biochim Biophys Acta* 1969, 191(3): 698-01.
166. Rose S, Melnyk S, Pavliv O, Bai S, Nick T, Frye R, James SJ. Evidence of oxidative damage and inflammation associated with low glutathione redox status in the autism brain. *Transl Psychiatry* 2012, 2(7): e134-e.
167. Zheng L, Kennedy MC, Blondin GA, Beinert H, Zalkin H. Binding of cytosolic aconitase to the iron responsive element of porcine mitochondrial aconitase mRNA. *Arch Biochem Biophys* 1992;299(2): 356-60.
168. Maiuri MC, Zalckvar E, Kimchi A, Kroemer G. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007, 8(9): 741-52.
169. Reggiori F, Shintani T, Chong H, Nair U, Klionsky DJ. Atg9 cycles between mitochondria and the pre-autophagosomal structure in yeasts. *Autophagy* 2005, 1(2): 101-9.
170. Wirawan E, Lippens S, Vanden Berghe T, Romagnoli A, Fimia GM, Piacentini M, Vandenabeele P. Beclin1: a role in membrane dynamics and beyond. *Autophagy* 2012, 8(1):6-17.
171. Backer JM. The regulation and function of Class III PI3Ks: novel roles for Vps34. *Biochem J* 2008, 410(1): 1-17.
172. Høyer-Hansen M, Jäättelä M. Connecting endoplasmic reticulum stress to autophagy by unfolded protein response and calcium. *Cell Death Differ* 2007, 14(9): 1576-82.
173. He C, Levine B. The beclin 1 interactome. *Curr Opin Cell Biol* 2010, 22(2): 140-9.
174. Ruck A, Attonito J, Garces KT, Núñez L, Palmisano NJ, Rubel Z, Meléndez A. The Atg6/Vps30/Beclin 1 ortholog BEC-1 mediates endocytic retrograde transport in addition to autophagy in *C. elegans*. *Autophagy* 2011, 7(4): 386-400.

175. Wang W, Fan H, Zhou Y, Duan P, Zhao G, Wu G. Knockdown of autophagy-related gene BECLIN1 promotes cell growth and inhibits apoptosis in the A549 human lung cancer cell line. *Mol Med Rep* 2013, 7(5): 1501-5.
176. Tanida I, Mizushima N, Kiyooka M, Ohsumi M, Ueno T, Ohsumi Y, Kominami E. Apg7p/Cvt2p: A novel protein-activating enzyme essential for autophagy. *Mol Biol Cell* 1999, 10(5): 1367-79.
177. Mizushima N, Noda T, Ohsumi Y. Apg16p is required for the function of the Apg12p-Apg5p conjugate in the yeast autophagy pathway. *EMBO J* 1999, 18(14): 3888-96.
178. Kuma A, Mizushima N, Ishihara N, Ohsumi Y. Formation of the ~ 350-kDa Apg12-Apg5-Apg16 multimeric complex, mediated by Apg16 oligomerization, is essential for autophagy in yeast. *J Biol Chem* 2002, 277(21): 18619-25.
179. Powell SR, Herrmann J, Lerman A, Patterson C, Wang X. The ubiquitin-proteasome system and cardiovascular disease. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2012;109: 295-346.
180. Pye J, Ardeshirpour F, McCain A, Bellinger DA, Merricks E, Adams J, Peter J, Pien EJ, Fischer TH, Baldwin Jr AS, Nichols TC. Proteasome inhibition ablates activation of NF- κ B in myocardial reperfusion and reduces reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003, 284(3): H919-H26.
181. Li H-H, Kedar V, Zhang C, McDonough H, Arya R, Wang D-Z, Patterson C. Atrogin-1/muscle atrophy F-box inhibits calcineurin-dependent cardiac hypertrophy by participating in an SCF ubiquitin ligase complex. *J Clin Invest* 2004, 114(8): 1058-71.
182. Johnson SA, Hunter T. Kinomics: methods for deciphering the kinome. *Nat Methods* 2005, 2(1): 17-25.
183. Coleman PS, Parmacek MS, Lesch M, Samarel AM. Protein synthesis and degradation during regression of thyroxine-induced cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 1989, 21(9): 911-25.
184. Schisler JC, Willis MS, Patterson C. You spin me round: MaFBx/Atrogin-1 feeds forward on FOXO transcription factors (like a record). *Cell Cycle*. 2008, 7(4): 440-3.

185. Santos-Alves E, Rizo-Roca D, Marques-Aleixo I, Coxito P, Martins S, Guimarães JT, Oliveira PJ, Torelle JR, Ascensão A. Physical exercise positively modulates DOX-induced hepatic oxidative stress, mitochondrial dysfunction and quality control signaling. *Mitochondrion* 2019, 47: 103-13.
186. Narath E, Skalicky M, Viidik A. Voluntary and forced exercise influence the survival and body composition of ageing male rats differently. *Exp Gerontol* 2001, 36(10): 1699-711.
187. Duzova H, Karakoc Y, Emre MH, Dogan ZY, Kilinc E. Effects of acute moderate and strenuous exercise bouts on IL-17 production and inflammatory response in trained rats. *J Sports Sci Med* 2009, 8(2): 219.
188. Mubarak R. Effect of red bull energy drink on rats submandibular salivary glands (light and electron microscopic study). *J Am Sci* 2012, 8(1): 366-72.
189. Nallamuthu I, Tamatam A, Khanum F. Effect of hydroalcoholic extract of Aegle marmelos fruit on radical scavenging activity and exercise-endurance capacity in mice. *Pharm Biol* 2014, 52(5): 551-9.
190. Corp I. *IBM SPSS statistics for windows, version 22.0*. Armonk, NY: IBM Corp. 2013.
191. Fridén J, Seger J, Ekblom B. Sublethal muscle fibre injuries after high-tension anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physio* 1988, 57(3): 360-8.
192. Von Duvillard SP, Arciero PJ, Tietjen-Smith T, Alford K. Sports drinks, exercise training, and competition. *Curr Sports Med Rep* 2008, 7(4): 202-8.
193. Coombes J. Does antioxidant supplementation promote or impede skeletal muscle mitochondrial biogenesis. *J Sci Med Sport* 2017, 20: e118.
194. Ferreira LG, De Toledo Bergamaschi C, Lazaretti-Castro M, Heilberg IP. Effects of creatine supplementation on body composition and renal function in rats. *Med Sci Sports Exerc* 2005, 37(9): 1525.
195. Sherk VD, Jackman MR, Higgins JA, Giles ED, Foright RM, Presby DM, Carpenter RD, Johnson GC, Oljira R, Houck JA, MacLean PS. Impact of exercise and activity on weight regain and musculoskeletal health postOVX. *Med Sci Sports Exerc* 2019, 51(12): 2465.

196. Miyatake K, Muneta T, Ojima M, Yamada J, Matsukura Y, Abula K, Sekiya I, Tsuji K. Coordinate and synergistic effects of extensive treadmill exercise and ovariectomy on articular cartilage degeneration. *BMC Musculoskelet Disord* 2016, 17(1): 1-11.
197. Liu W, Wang Z, Xia Y, Kuang H, Liu S, Li L, Tang C, Yin D. The balance of apoptosis and autophagy via regulation of the AMPK signal pathway in aging rat striatum during regular aerobic exercise. *Exp Gerontol* 2019, 124: 110647.
198. Rezaei S, Agha-Alinejad H, Shamsi MM, Jafari M, Voltarelli FA, Naderi A, Earnest C. Evaluation of efforts in untrained Wistar rats following exercise on forced running wheel at maximal lactate steady state. *J Exerc Nutrition Biochem* 2017, 21(1): 26.
199. de Brito Vieira WH, Ferraresi C, Schwantes MLB, de Andrade Perez SE, Baldissera V, Cerqueira MS, Parizotto NA. Photobiomodulation increases mitochondrial citrate synthase activity in rats submitted to aerobic training. *Lasers Med Sci* 2018, 33(4): 803-10.
200. KITAkAZE T, Harada N, Imagita H, Yamaji R. β -Carotene increases muscle mass and hypertrophy in the soleus muscle in mice. *J Nutr Sci Vitaminol* 2015, 61(6): 481-7.
201. Farag HAM, Hosseinzadeh-Attar MJ, Muhammad BA, Esmailzadeh A, El Bilbeisi AH. Effects of vitamin C supplementation with and without endurance physical activity on components of metabolic syndrome: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Clin Nutr Exp* 2019, 26: 23-33.
202. Abreu NPd, Bergamaschi CT, Di Marco GS, Razvickas CV, Schor N. Effect of an isotonic rehydration sports drink and exercise on urolithiasis in rats. *Braz J Med Biol Res* 2005, 38(4): 577-82.
203. Tsuchihara K, Fujii S, Esumi H. Autophagy and cancer: dynamism of the metabolism of tumor cells and tissues. *Cancer Lett* 2009, 278(2): 130-8.
204. Gottlieb E, Vander Heiden MG, Thompson CB. Bcl-xL prevents the initial decrease in mitochondrial membrane potential and subsequent reactive oxygen species production during tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis. *Cell Mol Biol* 2000, 20(15): 5680-9.

205. McMillan EM, Paré M-F, Baechler BL, Graham DA, Rush JW, Quadrilatero J. Autophagic signaling and proteolytic enzyme activity in cardiac and skeletal muscle of spontaneously hypertensive rats following chronic aerobic exercise. *PLoS One* 2015, 10(3): e0119382.
206. Smuder AJ, Kavazis AN, Min K, Powers SK. Exercise protects against doxorubicin-induced markers of autophagy signaling in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2011, 111(4): 1190-8.
207. Sun M, Huang C, Wang C, Zheng J, Zhang P, Xu Y, Chen H, Shen W. Ginsenoside Rg3 improves cardiac mitochondrial population quality: mimetic exercise training. *Biochem Biophys Res Commun* 2013, 441(1): 169-74.
208. Andreani C, Bartolacci C, Guescini M, Battistelli M, Stocchi V, Orlando F, Provinciali M, Amici A, Marchini C, Tiano L, Orlando P, Silvestri S. Combination of coenzyme Q10 intake and moderate physical activity counteracts mitochondrial dysfunctions in a SAMP8 mouse model. *Oxid Med Cell Longev* 2018.
209. Smuder AJ, Kavazis AN, Min K, Powers SK. Doxorubicin-induced markers of myocardial autophagic signaling in sedentary and exercise trained animals. *J Appl Physiol* 2013, 115(2): 176-85.
210. Fiuza-Luces C, Delmiro A, Soares-Miranda L, González-Murillo Á, Martínez-Palacios J, Ramírez M, Lucia A, Moran M. Exercise training can induce cardiac autophagy at end-stage chronic conditions: insights from a graft-versus-host-disease mouse model. *Brain Behav Immun* 2014, 39: 56-60.
211. Brandt N, Gunnarsson TP, Bangsbo J, Pilegaard H. Exercise and exercise training-induced increase in autophagy markers in human skeletal muscle. *Physiol Rep* 2018, 6(7): e13651.
212. Pan S. Alterations of atrial natriuretic peptide in cardiomyocytes and plasma of rats after different intensity exercise. *Scand J Med Sci Sports* 2008, 18(3): 346-53.
213. Huang Y, Liu H-T, Yuan Y, Guo Y-P, Wan D-F, Pan S-S. Exercise preconditioning increases Beclin1 and induces autophagy to promote early myocardial protection via intermittent myocardial ischemia-hypoxia. *Int Heart J* 2021, 62(2): 407-15.
214. Kim YA, Kim YS, Oh SL, Kim H-J, Song W. Autophagic response to exercise training in skeletal muscle with age. *J Biochem Physiol* 2013, 69(4): 697-705.

215. Zeng Z, Liang J, Wu L, Zhang H, Lv J, Chen N. Exercise-induced autophagy suppresses sarcopenia through Akt/mTOR and Akt/FoxO3a signal pathways and AMPK-mediated mitochondrial quality control. *Front Physiol* 2020, 2(11):583478 .
216. Bae JH, Seo DY, Lee SH, Shin C, Jamrasi P, Han J, Song W. Effects of exercise on AKT/PGC1- α /FOXO3a pathway and muscle atrophy in cisplatin-administered rat skeletal muscle. *The Korean J Physiol Pharmacol* 2021, 25(6): 585-92.
217. Rangarajan N, Kapoor I, Li S, Drossopoulos P, White KK, Madden VJ, Dohlman HG. Potassium starvation induces autophagy in yeast. *J Biol Chem* 2020, 295(41): 14189-202.
218. Fernández ÁF, Liu Y, Ginet V, Shi M, Nah J, Zou Z, Zhou A, Posner AB, Xia G, Tanguy M, Paradis V, Sadoshima J, Rautou PE, Puyal J, Hu MC, Levine B. Interaction between the autophagy protein Beclin 1 and Na⁺, K⁺-ATPase during starvation, exercise, and ischemia. *JCI insight* 2020, 5(1): e133282
219. Nia FJ, Chaharmahali BY, Nameni F. Simultaneous Effect of Resistance Training and Alpha Lipoic Acid on Beclin-1 Expression and Malondialdehyde Level of Fatty Liver Diabetic Male Rats. *Gene, Cell and Tissue* 2022, 9(1): e113497
220. Radoshevich L, Murrow L, Chen N, Fernandez E, Roy S, Fung C, Debnath J. ATG12 conjugation to ATG3 regulates mitochondrial homeostasis and cell death. *Cell* 2010, 142(4): 590-600.
221. Jamart C, Benoit N, Raymackers J-M, Kim HJ, Kim CK, Francaux M. Autophagy-related and autophagy-regulatory genes are induced in human muscle after ultraendurance exercise. *Eur J Appl Physiol* 2012, 112(8): 3173-7.
222. Jamart C, Naslain D, Gilson H, Francaux M. Higher activation of autophagy in skeletal muscle of mice during endurance exercise in the fasted state. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013, 305(8): E964-74.
223. Mejías-Peña Y, Estébanez B, Rodríguez-Miguel P, Fernandez-Gonzalo R, Almar M, de Paz JA, Cuevas MJ. Impact of resistance training on the autophagy-inflammation-apoptosis crosstalk in elderly subjects. *Aging (Albany NY)* 2017, 9(2): 408.
224. Kim YA, Kim YS, Song W. Autophagic response to a single bout of moderate exercise in murine skeletal muscle. *J Biochem Physiol* 2012, 68(2): 229-35.

225. Feng Z, Bai L, Yan J, Li Y, Shen W, Wang Y, Wert K, Wang Y, Weber P, Zhang Y, Chen Y, Liu J. Mitochondrial dynamic remodeling in strenuous exercise-induced muscle and mitochondrial dysfunction: regulatory effects of hydroxytyrosol. *Free Radic Biol Med* 2011, 50(10): 1437-46.
226. Edström E, Altun M, Hägglund M, Ulfhake B. Atrogin-1/MAFbx and MuRF1 are downregulated in aging-related loss of skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006, 61(7): 663-74.
227. Gumucio JP, Mendias CL. Atrogin-1, MuRF-1, and sarcopenia. *Endocrine* 2013, 43(1):12-21.
228. Bo H, Zhang Y, Ji LL. Redefining the role of mitochondria in exercise: a dynamic remodeling. *Ann N Y Acad Sci* 2010, 1201(1): 121-8.
229. Hickson RC. Skeletal muscle cytochrome c and myoglobin, endurance, and frequency of training. *J Appl Physiol* 1981, 51(3): 746-9.
230. Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, Goldberg AL, Spiegelman BM. PGC-1 α protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006, 103(44): 16260-5.
231. Zuo Q, Wang S-C, Yu X-K, Chao W-W. Response of macrophages in rat skeletal muscle after eccentric exercise. *Chin J Traumatol* 2018, 21(02): 88-5.
232. Baek Y-H, Lee S-H, Han M-H, Choi Y-H, Kim S-H, Kwak Y-S. Effects of black garlic supplementation and exercise on TBARS, HSP 70 and COX-2 expression after high-intensity exercise. *Korean J Biol Sci* 2012, 22(6): 772-7.
233. Magalhães J, Gonçalves I, Lumini-Oliveira J, Marques-Aleixo I, Passos E, Rocha-Rodrigues S, Machado NG, Moreira AC, Rizo D, Viscor G, Oliveria PJ, Torello JR, Ascensão, A. Modulation of cardiac mitochondrial permeability transition and apoptotic signaling by endurance training and intermittent hypobaric hypoxia. *Int J Cardiol* 2014, 173(1): 40-5.
234. Caldwell CC, Petzinger GM, Jakowec MW, Cadenas E. Treadmill exercise rescues mitochondrial function and motor behavior in the CAG140 knock-in mouse model of Huntington's disease. *Chem Biol Interact* 2020, 315: 108907.

235. Ozturk N, Olgar Y, Er H, Kucuk M, Ozdemir S. Swimming exercise reverses aging-related contractile abnormalities of female heart by improving structural alterations. *Cardiol J* 2017, 24(1):85-93.
236. Saborido A, Naudí A, Portero-Otín M, Pamplona R, Megías A. Stanozolol treatment decreases the mitochondrial ROS generation and oxidative stress induced by acute exercise in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2011, 110(3): 661-9.
237. Gao C, Chen X, Li J, Li Y, Tang Y, Liu L, Chen S, Yu H, Liu L, Yao P. Myocardial mitochondrial oxidative stress and dysfunction in intense exercise: regulatory effects of quercetin. *Eur J Appl Physiol* 2014, 114(4): 695-05.
238. Qi Z, He J, Zhang Y, Shao Y, Ding S. Exercise training attenuates oxidative stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Free Radic Biol Med* 2011, 50(7):794-00.
239. Zhang S-J, Sandstrom ME, Lanner JT, Thorell A, Westerblad H, Katz A. Activation of aconitase in mouse fast-twitch skeletal muscle during contraction-mediated oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007, 293(3): C1154-C9.
240. Pantopoulos K, Hentze MW. Rapid responses to oxidative stress mediated by iron regulatory protein. *EMBO* 1995, 14(12): 2917-24.
241. Haller RG, Henriksson K, Jorfeldt L, Hultman E, Wibom R, Sahlin K, Areskog NH, Gunder M, Ayyad K, Blomqvist CG. Deficiency of skeletal muscle succinate dehydrogenase and aconitase. Pathophysiology of exercise in a novel human muscle oxidative defect. *J Clin Invest* 1991; 88(4): 1197-06.
242. Larsen FJ, Schiffer TA, Ørtenblad N, Zinner C, Morales-Alamo D, Willis SJ, Calbet AJ, Holmberg HC, Boushel R. High-intensity sprint training inhibits mitochondrial respiration through aconitase inactivation. *FASEB J* 2016, 30(1): 417-27.
243. Ho KP, Ke Y, Qian ZM. Exercise decreases cytosolic aconitase activity in the liver, spleen, and bone marrow in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 282(1): 264-7.
244. Cardinale DA, Gejl KD, Petersen KG, Nielsen J, Ørtenblad N, Larsen FJ. Short-term intensified training temporarily impairs mitochondrial respiratory capacity in elite endurance athletes. *J Appl Physiol (1985)* 2021, 131(1): 388-400.

245. Li L, Mühlfeld C, Niemann B, Pan R, Li R, Hilfiker-Kleiner D, Chen Y, Rohrbach S. Mitochondrial biogenesis and PGC-1 α deacetylation by chronic treadmill exercise: differential response in cardiac and skeletal muscle. *Basic Res Cardiol* 2011, 106(6): 1221-34.
246. Zonderland M, Bär P, Reijneveld J, Spruijt B, Keizer H, Glatz J. Different metabolic adaptation of heart and skeletal muscles to moderate-intensity treadmill training in the rat. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1999, 79(5): 391-6.



EKLER

EK-1. Özgeçmiş



EK-2. Etik Kurulu Onayı

