



**FARKLI ŞİDDETTEKİ AEROBİK EGZERSİZİN
ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİNE
VE IL-23 DÜZEYİNE ETKİSİ**

Kübranur KORKMAZ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Halil DÜZOVA
Yüksek Lisans Tezi – 2019**

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI ŞİDDETEKİ AEROBİK EGZERSİZİN ENDOPLAZMİK
RETİKULUM STRESİNE VE IL-23 DÜZEYİNE ETKİSİ**

Kübranur KORKMAZ

Fizyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Halil DÜZOVA

Bu araştırma Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından TYL-2019-1747 proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA
2019

 İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ	KABUL ONAY FORMU	Doküman No	
		Yayın Tarihi	
Revizyon No			
Revizyon Tarihi			
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ		Sayfa No	

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

**FARKLI ŞİDDETE AEROBİK EGZERSİZİN ENDOPLAZMİK RETUKULUM
STRESİNE VE IL-23 DÜZEYİNE ETKİSİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN
PROF. DR. HALİL DÜZOVA

HAZIRLAYAN
KÜBRANUR KORKMAZ

Jürimiz tarafından 13/01/2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda bu tez **oybirliği /oyçokluğu** ile başarılı bulunarak Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul etmiştir.

Jüri Üyelerinin Unvanı Adı Soyadı

1. Prof. Dr. Mustafa GÜL
2. Prof. Dr. Süleyman SANDAL
3. Prof. Dr. Halil DÜZOVA

İmza



O N A Y

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../20... tarih ve 20.../..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

.....

Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
ABSTRACT	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLOLAR DİZİNİ	x
GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Egzersiz	3
2.1.1. Egzersiz Türleri	3
2.1.2. Egzersizin Etkileri	4
2.2. Endoplazmik Retikulum ve Şaperon Proteinleri	5
2.3. Endoplazmik Retikulum Stresi	6
2.4. Hücrenin ER Stresinden Korunma Mekanizmaları	7
2.4.1. Endoplazmik Retikulum İlişkili Yıkım (ERAD)	7
2.4.2. Glikoz İle Regüle Protein 78 kDA (GRP78/BIP) ile Aktifleşen Katlanmamış Protein Yanıtı (UPR)	8
2.4.3. Protein Kinaz RNA (PKR) Benzeri ER Kinaz (PERK) Sinyal Yolu	9
2.4.4. ATF4 (Aktive Edici Transkripsiyon Faktör 4)	10
2.4.5. İnozitol Gerektiren Kinaz 1 (IRE1)	10
2.4.6. Aktive Edici Transkripsiyon Faktör 6 (ATF6)	11
2.4.7. Egzersiz ve ER Stresi Arasındaki İlişki.....	11
2.5. İnterlökinler	12
2.5.1. İnterlökin-17 (IL-17)	12
2.5.2. İnterlökin-23 (IL-23)	13
2.5.3. Egzersizin ile IL-23 ve IL-17 Düzeylerinin İlişkisi.....	14
3. MATERYAL VE METOD	15
3.1. Deney Hayvanları ve Deney Planının Oluşturulması	15
3.1.1. Deney Gruplarındaki Hayvanlarının Sayısının Belirlenmesi	15
3.1.2. Deney Grupları	15
3.1.3. Deney Süreci.....	16
3.2. Dokuların Alınması ve Analizleri.....	17
3.2.1. Hayvanların Ağırlıklarının Ölçümleri	17

3.2.2. ELISA Testi İle Serum IL-23 ve IL-17 Düzeyinin Ölçülmesi	17
3.3. Western Blot Yöntemiyle GRP78 VE ATF4 Proteinlerinin Analizi	18
3.3.1. Proteinlerin Yürütüleceği Jelin Hazırlanması.....	18
3.3.2. Dokuların Homojenizasyonu ve Protein Miktarlarının Belirlenmesi	19
3.3.3. Yürütülecek Örneklerin Hazırlanması	19
3.3.4. Elektroforetik Yürütme Sisteminin Kurulması.....	19
3.3.5. Jeli Commassie Blue ile Boyama	20
3.3.6. Proteinlerin Jelden Membrana Geçirilmesi ve Antikor Muamelesi	20
3.3.7. Membrandaki Proteinlerin Görüntülenmesi	20
3.3.8. Protein Yoğunluklarını Hesaplanması	20
3.3.9. İstatistiksel Analiz	21
4. BULGULAR	22
4.1. Hayvanların Haftalık Kilolarının Ölçüm Sonuçları	22
4.2. Kan serum IL-17 ve IL-23 Düzeylerinin Analizi	22
4.3. Çizgili Kas Dokusundaki GRP78 ve ATF4 Proteinlerinin Analizi	23
4.4. Kalp Kası Dokusundaki ATF4 Proteinlerinin Analizi	24
5. TARTIŞMA	25
5.1. Yüksek Yoğunluklu Egzersizin IL-17 ve IL-23 Düzeylerine Etkileri	25
5.2. Yüksek Yoğunluklu Egzersizin Endoplazmik Retikulum Stresi Üzerine Etkileri ..	26
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	28
7. KAYNAKÇA	29
8. EKLER	40

TEŞEKKÜR

TYL-2019-1747 numaralı yüksek lisans tez projeme maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimin boyunca beni yetiştiren, ders dönemimde ve tez dönemimde her zaman destek olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Halil DÜZOVA'ya çok teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim süresinde bana kattıkları her şey için Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi hocalarım Prof. Dr. Sedat YILDIZ'a, Prof. Dr. Alaadin POLAT'a, Prof. Dr. Süleyman SANDAL'a ve Doç. Dr. Suat TEKİN'e teşekkür ederim.

Aylarca laboratuvarlarında çalışmama müsaade eden, bu süre boyunca tez çalışmamda karşılaştığım zorluklarda bana yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Ahmet KOÇ'a teşekkür ederim.

Tez dönemimde, zorlandığım anlarda destekleyerek yol gösterdiği için ve tez çalışmamdaki analizlerime laboratuvarında çalışmama izin vererek yardım ettiği için değerli hocam Prof. Dr. Başak KAYHAN'a teşekkür ederim.

Kıymetli Dr. Öğretim Üyesi Filiz ÇİLEDAĞ ÖZDEMİR hocama henüz lisans öğrencisiyken bilimi sevdiği için, araştırmayı aştığı için ve her zaman yanımda olduğu için çok teşekkür ederim.

Her anımda yanımda olan biricik arkadaşlarım Yağmur ÇAĞLAR'a, Nurcan TURAN'a, İlayda UĞURLU'ya, Gamze ELBİR'e, Sena ÇINARLI'ya, Ervanur İÇEN'e ve Merve ALTINOĞLU'na teşekkür ederim.

Bilgisini ve deneyimlerini paylaşarak bana destek olan Faruk DİŞLİ'ye, tezimin analiz kısmında ve yazma sürecimde yanımda olan oda arkadaşım Zeynep Rumeysa YOLDAŞ'a teşekkür ederim. Tez sürecimde tecrübelerini paylaşarak yanımda olan Gül Büşra KAYA'ya ve Dr. Tuğçe ATCALI'ya, yüksek lisans eğitimim boyunca beraber güzel vakit geçirdiğim Damla AYKORA'ya, Merve SOYTÜRK'e, Kübra DURMUŞ'a, Selcen SEZER'e, Özge ARSLAN'a, Mesut ÇELİK'e, Dr. Kevser TANBEK'e ve Yücehan YILMAZ'a teşekkür ederim.

Tezimin deney aşamasında yardımcı olan Onur ÖZKAYA'ya, Gamze ÖZKAYA'ya, Aliseydi KARASOY'a ve Süleyman ATMACA'ya çok teşekkür ederim.

En büyük teşekkürümü benim için yaptıkları fedakarlıkları yazsam da bitiremeyeceğim güzel aileme ediyorum.

ÖZET

Farklı Şiddetteki Aerobik Egzersizin Endoplazmik Retikulum Stresine ve IL-23 Düzeyine Etkisi

Amaç: Günümüzde sedanter yaşam şeklinin insan vücudu üzerindeki olumsuz etkilerinden bahsedilirken egzersizin önemi uzmanlar tarafından vurgulanmaktadır. Ancak egzersizin sıklığının, şiddetinin, süresinin ve türünün üzerinde durmak gerekir. Orta şiddetli aerobik egzersizin vücut üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinmektedir. Egzersizin yoğunluğu arttıkça proinflatuar sitokinlerin salgılanması ve kas dokuda hasara yol açabilecek endoplazmik retikulum (ER) stres belirteçlerinin değiştirebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Planladığımız çalışma ile farklı yoğunluktaki yüzme egzersizinin ER stresi üzerine etkisi ile serumdaki IL-17 ve IL-23 düzeylerini değiştirip değiştirmediği araştırılacaktır.

Materyal ve Metot: Sıçanlar kontrol (n=9), normal yüzme egzersizi (NYE)(n=8), ve ağırlık yüklü yüzme egzersiz (AYYE) (n=9) grubu olmak üzere 3 ayrı gruba ayrıldı. 10 hafta boyunca NYE gruplarındaki sıçanlar 10 dk ile yüzme egzersizine başlatılıp her 2 haftada bir süresi 10'ar dk arttırılarak yüzdürüldü. AYYE grubundaki sıçanlar egzersizin ilk haftası hayvanın vücut ağırlığının %5'i oranında ağırlık bağlanarak yüzme egzersizine başlatıldı. NYE grubundaki gibi her 2 haftada bir 10 dk süre artışının yanı sıra her 2 haftada bir bağlanan ağırlık oranı da %1 oranında arttırılarak yüzdürüldü. Hayvanlar feda edildikten sonra çizgili kas ve kalp dokuları homojenize edildi ve Western Blot tekniği ile çizgili kas dokusunda Glikoz İle Regüle Protein 78 kDA (GRP78/BIP) ve Aktive Edici Transkripsiyon Faktör 4 (ATF4) yoğunlukları ile kalp kasındaki ATF4 yoğunlukları ölçüldü. Alınan serum örneklerinden ELISA yöntemiyle IL-23 ve IL-17 düzeyleri ölçüldü. Veriler Kruskal Wallis testi ile karşılaştırıldı. Anlamli çıkan verilerde göreceli Benforroni Mann-Whitney U testi yapılarak gruplar arası farklılık test edildi.

Bulgular: IL-23 ve IL-17 düzeylerinde gruplar arasında ($P>0.05$) anlamlı bir fark görülmedi. Çizgili kas dokusundan elde edilen GRP78 düzeyleri NYE grubunda AYYE ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı. ATF4 protein düzeyi ise AYYE grubuna göre ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak arttı. Kalp kasında ATF4 düzeyi AYYE grubunda NYE grubuna kıyasla azaldığı görüldü; ancak kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark görülmedi.

Sonuç: Her 2 yüzme egzersiz türünde proinflatuar sitokinlerden olan IL-23 ve IL-17 düzeyinin değişmediği halde ER stres belirteçlerinin değiştiği gözlemlendi. Kalp ve çizgili kas dokusunda uzun süre uygulanan yüksek yoğunluklu yüzme egzersizinde ER stresine karşı yeterli bir adaptasyon cevabı gelişmedi.

Anahtar Kelimeler: ER Stresi, Yüzme Egzersizi, GRP78, ATF4, IL-23, IL-17

ABSTRACT

The Effects of Different Intensity of Aerobic Exercise on Endoplasmic Reticulum Stress and IL-23 Levels

Aim: Today, while the negative effects of sedentary lifestyle on the human body are mentioned, the importance of exercise is emphasized by experts. However, the frequency, intensity, duration and type of exercise should be emphasized. Moderate aerobic exercise is known to have positive effects on the body. There are studies showing that secretion of proinflammatory cytokines and endoplasmic reticulum (ER) stress markers that may cause muscle tissue damage may increase as the intensity of exercise increases. The aim of this study is to investigate whether IL-17 and IL-23 levels in serum change with the effect of different intensity swimming exercise on ER stress.

Material and method: The rats were divided into three groups as control (n = 9), normal swimming exercise (NSE) (n = 8), and weight-loaded swimming exercise (WLSE) (n = 9). For 10 weeks, rats in NSE groups were started swimming exercise with 10 minutes and then swimming time was increased for 10 minutes in every 2 weeks time. In the first week of the exercise, rats in the WLSE group were started to swim by tying up a weight of 5% of the body weight of the animal. As in the NSE group, swimming time was increased 10-minutes in every 2 weeks, as well as the bound weight ratio was increased by 1% in every 2 weeks. After sacrificing the animals, the striated muscle and heart tissues were homogenized and the glucose-regulated protein 78 kDA (GRP78 / BIP) and Activating Transcription Factor 4 (ATF4) concentrations in the striated muscle tissue, ATF4 concentrations in the heart muscle were measured by Western Blot technique. IL-23 and IL-17 levels were measured by ELISA from serum samples. Data were compared with Kruskal Wallis test. Significant data were compared by using the relative Benforroni test.

Results: There was no significant difference in IL-23 and IL-17 levels between the groups ($P > 0.05$). GRP78 levels obtained from striated muscle tissue decreased significantly in NSE group compared to WLSE and control group. ATF4 protein levels were significantly increased compared to WLSE I group and control group. ATF4 levels in heart muscle were found to be decreased in the WLSE group compared to the NSE group, but there was no significant difference compared to the control group.

Conclusion: It was observed that the levels of IL-23 and IL-17, proinflammatory cytokines, did not change in both swimming exercise types, but ER stress markers changed. There was no adequate adaptation response to ER stress in high intensity swimming exercise performed for a long time in heart and striated muscle tissue.

Key Words: ER Stress, Swimming Exercise, GRP78, ATF4, IL-23, IL-17

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APS	:Amonyum Persülfat
ASK1	:Apoptoz Sinyal Kinaz 1
ATF4	:Aktive Edici Transkripsiyon Faktör4
ATF6	:Aktive Edici Transkripsiyon Faktör
ATP	:Adenozin Tri-Fosfat
AYYE	:Ağırlık Yüklü Yüzme Egzersizi
bZIP	:Lösin Fermuar Aktifleyici Faktör
Ca²⁺	:Kalsiyum
CHOP	:C/EBP homolog proteini
ECL	:Enhanced Chemi Luminescence
ELISA	:Enzyme Linked Immunosorbent Assay
eIF2α	:Ökaryotik Başlama Faktörünü
ER	:Endoplazmik Retikulum
ERAD	:Endoplazmik Retikulum İlişkili Yıkım
GRP78/BIP	:Glikoz İle Regüle Protein 78 kDA
H.S.P.	:Heat Shock Protein
IL	:İnterlökin
IRE1	:İnozitol Gerektiren Kinaz 1
JNK	:c-Jun NH2-terminal kinaz
ml	:Mililitre
NYE	:Normal Yüzme Egzersizi
PERK	:Protein Kinaz RNA (PKR) Benzeri ER Kinaz

Pg	:Pikogram
SDS	:Sodyum Dodesil Sülfat
Th 17	:Yardımcı T Lenfositleri
TBS-T	Tris Buffered Saline
UPR	:Katlanmamış Protein Yanıtı
XBP1	:X-Box Bağlayıcı Protein 1



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil no	Sayfa no
Şekil 2. 1. ER stresiyle karşılaştığında oluşan hücre cevabı.	7
Şekil 2. 2. Artan protein yüküne karşılık ER kapasitesinin yetersiz kalması.	8
Şekil 2. 3. ER stresi durumunda PERK transmembran proteinin fosforile olması ile başlayan hücre koruyucu mekanizma.	9
Şekil 2. 4. IL-17'nin diğer inflamatuvar sitokinleri üreten hücreleri uyarması.....	13
Şekil 3. 3. 1. Proteinlerin yürütülmesi için gerekli jelin hazırlanması	28
Şekil 4. 1. Çizgili kas dokusu boyama yapılan jel ve membrandaki GRP78 proteini....	23
Şekil 4. 2. Çizgili kas dokusu boyama yapılan jel ve membrandaki ATF4 proteini	23
Şekil 4.5. Kalp kası dokusunda boyama yapılan jel ve membrandaki ATF4 proteini ...	24

TABLolar DİZİNİ

Tablo no	Sayfa no
Tablo 4. 1. Başlangıç ve Bitiş Haftalarında Hayvanların Kilo Değişimleri	22
Tablo 4. 2. Serum IL-17 ve IL-23 analizlerinin sonuçları	22
Tablo 4. 3. Çizgili kas dokusundan elde edilen GRP78 ve ATF4 protein düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	24
Tablo 4. 4. Kalp kası dokusundan elde edilen ATF4 protein düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	24



GİRİŞ

Egzersizin koruyucu ve tedavi edici etkileri son zamanlarda çok çalışılmıştır. Egzersizin fayda veya zarar düzeyini egzersizin şiddeti, süresi gibi faktörlerin etkilediği düşünülmektedir. Egzersizin şiddetli yapıldığı zaman bazı proinflamuar sitokinlerin salgılanmasını değiştirdiği veya değiştirmedeği yönünde sonuçlar vardır. Bu yüzden egzersizin şiddetinin fayda/zarar düzeyini belirlemede önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Fiziksel egzersizin endoplazmik retikulum (ER) stresini azalttığına dair çalışmalar mevcut olduğu gibi bazı yorucu egzersizlerin ER stresine yol açarak kas hasarına sebep olabileceğini belirten çalışmalar da vardır (2-5).

ER, kompleks proteinlerin katlanması, olgunlaştırılması ve taşınmasını sağlayan protein sentezinin kalite kontrol merkezi olarak da bilinen önemli bir organeldir (6, 7). Bazen hücre ortamında yeni sentezlenen proteinler yanlış katlanarak veya birikerek toksik etki oluşturur, bu da ER stresine yol açabilir (8). Oluşan bu stresi engellemek için ilk olarak Endoplazmik Retikulum İlişkili Yıkım (ERAD) mekanizması devreye girer. Bu mekanizma ile katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinler sitoplazmada, proteozomlar tarafından yıkılmaya çalışılır (9). ER stresi ERAD mekanizmasıyla düzeltilemezse, hücrede ER stresini engellemek ve tekrar homeostazisi sağlamak için Katlanmamış Protein Yanıtı (UPR) adı verilen yolağın aktifleşmesi gerekmektedir. Hücrelerde, protein birikmesini engelleyen ve etkin katlanmanın gerçekleşmesini sağlayan karmaşık bir moleküler şaperon ağı vardır. Şaperon proteinlerinden biri olan GRP78 ile UPR yolağı aktive edilir (10). UPR, daha uzun süreli bir adaptasyon sağlayarak katlanmamış proteinlerle başa çıkmak için ER kapasitesinde bir artış meydana getirir (11). Yine de hücre homeostazı sağlanmazsa çevre dokuların korunması için hücre ölümü (apoptoz) gerçekleşir (12).

Hücre homeostazı korunamadığı durumlarda ER stresi bir nevi canlıda uyarı mekanizması olarak görev yapar. Böylece hücredeki bu uyarı inflamatuvar bir süreci de başlatabilir. Hücrede ER stresi gibi vücudu uyaran bazı inflamatuvar durumlarında ortaya çıkan sitokinler de vardır. Bunlardan IL-23 ve IL-17'nin organa özgü inflamatuvar otoimmün hastalıkların oluşumunda önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. Ayrıca ER stresi aktivasyonunda IL-23 salgılanmasının arttığı da görülmüştür (13, 14).

Planladığımız çalışma ile sıçanlarda farklı şiddetteki egzersizin iskelet kasında ER stresi üzerindeki etkileri değerlendirildi. Ayrıca yüksek yoğunluklu egzersizin IL-23 ve

IL-17 salgılanması üzerindeki etkisinin araştırılması hedeflendi. ER stresi ile sitokin seviyeleri arasındaki bağlantı araştırılarak egzersizin şiddetinin vücut çizgili kas ve kalp kası dokusu üzerindeki etkinliği değerlendirildi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Egzersiz

Egzersiz, fiziksel uygunluğu geliştirme veya koruma amacıyla yapılan, kilo kontrolü sağlamanın yanı sıra kronik hastalıkların tedavisinde uzmanların önerdiği, vücut mekanizmasını düzenlemek gibi olumlu etkileri olan tekrarlayıcı vücut hareketleridir (15, 16). Düzenli egzersizin kalp hastalıkları riskini, tromboz riskini azaltır, yağ ve glikoz düzeylerini düşürür, psikolojik durumu iyileştirir ve uyku kalitesini düzeltir, kemik mineral yoğunluğunu artırır ve bazı kanser türleri ile kronik ağrıyı azaltır (17).

Egzersiz anında, insan hareketlerinin oluşumunu sağlayan kas kasılmalarında enerji tüketilir. Bu enerji vücuttan sırasıyla aşağıda özetlendiği gibi karşılanmaktadır. İskelet kası dokusunda ilk önce depo halinde bulunan yüksek enerjili fosfat bağlarına sahip Adenozin Tri-Fosfat'taki (ATP) son bağın indirgenmesiyle enerji açığa çıkarılarak harcanır. Çizgili kasın kasılması için temel enerji kaynağı olan ATP, kas lifi hücrelerinde kas gücünü ortalama 3 sn süre boyunca sürdürebilecek kadar bulunur. Ve devamlı olarak yeniden üretilmesi gerekir. İkinci olarak kreatin fosfat kullanılır. Kreatin fosfat ise, yüksek enerji bağı içeren bir başka bileşiktir. Kreatin fosfat iyonlarına ayrılarak yüksek miktarda enerji serbestleştirir. Kasların büyük bir kısmında ATP'nin 2 ile 4 katı arasında kreatin fosfat vardır. Kreatin fosfattan enerji üretilmesi çok kısa bir sürede gerçekleşmektedir. Üçüncü olarak ise elektron taşıma zinciri sayesinde glikoz veya glikojen oksijenin katkısıyla tüketilecek büyük miktardaki enerjiyi serbestleştirilmesiyle gerçekleşir. Ancak uzun süreli yapılan egzersizde alınan oksijen yetersiz kalır ve ilerleyen anlarda oksijen gereksinimini karşılayamaz düzeye gelir. Bunun sonucunda canlı oksijen borcuna girer. Sürenin uzunluğuna bağlı olarak sıklıkla kullanılan glikolitik yol ile kandaki laktat düzeyi devamlı olarak artar. Son olarak kas dokuda yeterli oksijen kalmaz ve bu durumda da anaerobik glikoliz yolu devreye girerek ATP oluşturulur (18-23).

2.1.1. Egzersiz Türleri

Egzersiz aerobik ve anerobik egzersiz olmak üzere 2 gruba ayrıldığı gibi aerobik, kas güçlendirici (dirençli egzersizler) ve germe egzersizleri olmak üzere 3 gruba da ayrılır

(24, 25). Aerobik egzersiz, büyük kas gruplarının sürekli olarak ritmik bir şekilde tekrarlanmasıyla yapılan dinamik egzersizlerdir. Aerobik, oksijene ihtiyaç duyan anlamına gelir ve enerji üreten süreçler oksijen kullanımıyla ilgilidir. Aerobik egzersizler oksijen döngüsü sağlayan kardiyovasküler sistemi geliştirirler. Yani kalp ile akciğerlerin çalışmasına neden olarak oksijen kapasitesini arttırmayı hedefler. Ritmik yürüme, ritmik koşu, bisiklet sürme, dans etme ve yüzme gibi aktiviteler aerobik egzersiz türlerindedir. Aerobik egzersiz sırasında nefes alıp verme hızlanır, derinleşir, ve kalp daha güçlü atmaya başlar (26, 27). Kas güçlendirici egzersizler, direnç kas kuvvetini ve dayanıklılığı arttırmak amacıyla yapılır. Kas kuvvetlendirici egzersizlerde gittikçe arttırılan yüklenme prensibi vardır. Kas kuvvetlendirici egzersizler serbest ağırlıklar kullanılarak yapılabilmektedir (23) Germe egzersizleri ise ana kas-tendon gruplarına uygulanan egzersizlerdir (28) .

2.1.2. Egzersizin Etkileri

Egzersiz, günümüzde pek çok sistemik hastalığın tedavisine ek olarak verilerek günlük yaşam aktivitelerinin rutini haline getirilmesi önerilmektedir. Böylece kronik hastalıkların kötü prognozu engellenebilir (29). Egzersizin metabolik hastalıklar üzerinde olumlu etkileri bilinmektedir ve uzmanlar tarafından bazı hastalıkların tedavisinde düzenli egzersiz, medikal tedavinin yanında sıklıkla önerilmektedir (30). Ancak bu olumlu etkilerinin yanında egzersizin olumsuz etkileri olabileceği de düşünülmektedir. Özellikle egzersizin yoğunluğunun, türünün ve süresinin fayda/zarar durumunu etkilemesi açısından henüz bir netliğe varılamamıştır. Ancak tolere edilemeyecek düzeyde aşırı egzersizin sıklıkla yorgunluk, bağışıklık sistemi işlevlerinin baskılanması, tekrarlayan doku travması, kasların ve iç organların iltihabı ve kronik sağlık sorunları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (5).

Egzersiz yoğunluğu, süresi ve fiziksel aktivitenin türü, bağışıklıkla bağlantılı olan sitokin profilini etkileyebilir (31). Hatta yorucu egzersizin, aşırı düzeyde kas hasarı, kardiyomiyopati ve hücre ölümüne yol açabilecek ER stresi ile ilişkili olabileceği de söylenmiştir (32). Egzersizin, Heat Shock Protein (H.S.P.) seviyelerini etkilediği gösterilmiştir. H.S.P. hücrel fonksiyonları stabilize etmek ve hayatta kalmayı sağlamak için gerektiğinde hücrel strese cevap olarak düzenlenir. Özellikle H.S.P.70, biraz daha farklı gibi görünen ve H.S.P. yanıtının iki yönlülüğünü yansıtan immünolojik bir etkiye

sahiptir (33, 34). Bunun yanında bir uyarı mekanizması gibi çalışan sitokinler de yorucu egzersiz, stres hormonları, enerji krizi ve oksidatif stres gibi çeşitli fizyolojik uyarınlara da modüle edilerek enfeksiyon ve doku hasarı gibi patolojik uyarınlara karşı inflamatuvar tepkilere aracılık etmede merkezi bir rol oynar (35). Hatta bir çalışmada düzenli ve orta dereceli egzersizin, sedanter yaşam tarzıyla karşılaştırıldığında enfeksiyon riskini azalttığı, uzun süreli, yoğun egzersizin ise enfeksiyon riskini arttırdığı bulunmuştur (36).

Ancak uzatılmış yoğun egzersiz periyotlarının bağışıklık üzerinde olumsuz etkileri olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (37, 38)

2.2. Endoplazmik Retikulum ve Şaperon Proteinleri

Salgı yolu olarak da isimlendirilen ER, düzenli bir membranöz ağdaki ilk kısımdır (39). ER, tıpkı sitokinler ve hormonlar gibi salgı proteinlerinin translasyon sonrası modifikasyonundan, katlanmasından ve taşınmasından sorumludur (40). Uygun organel hedeflenmeden önce, transmembran proteinleri ve salgı proteinleri, ER'de katlanarak fonksiyonel aktivite kazanır (41). Tüm hücrel proteinlerin yaklaşık üçte biri şaperonlar tarafından uygun üçüncül yapılarını oluşturmak üzere değiştirildikleri ER lümenine taşınır (42).

Proteinler henüz sentez aşamasındayken katlanma hataları oluşması durumunda hücrede çökerler. Böylece hücre içinde pek çok görevi olan bu proteinler işlevsiz kalabilirler. Dolayısıyla hücre yaşamsal fonksiyonları etkilenebilir. Hücre içinde bu gibi tehlikeler moleküler şaperon ağı ile önlenmeye çalışılır. Şaperon ağı, oldukça dinamik olan protein moleküllerini devamlı kontrol ederek hücre homeostazını korumaya çalışır (43, 44). Şaperon proteinleri hücre homeostazisini, yeni sentezlenen proteinlerin yanlış katlanmasını ve çökmesini önleyerek sağlar (45-47). Şaperonlar, henüz katlanmamış proteine geçici olarak bağlanır; ama kendileri değişmez. Bağlandığı proteinin katlanmasını bekler, katlanma tamamlandıktan sonra da başka bir proteinin doğru katlanmasını sağlamak üzere bağlandığı proteini bırakır (10, 48). Protein katlanmasında önemli olan bu şaperonlar hem Ca^{2+} tamponlayıcı proteinlerdir hem de aktiviteleri için Ca iyonuna ihtiyaç duyarlar (49).

Çoğu H.S.P. olan birçok molekülden oluşan bu şaperon ağı protein sentezi sırasında yeni sentezlenen proteinlerin doğru bir şekilde katlanarak olgunlaşmasını sağlar. H.S.P. ilk kez 1962 yılında tanımlanmıştır. H.S.P., yüksek ısıya (42-46°C) maruz kalan

hücrelerde üretiminin artması sonucunda fark edilmesiyle keşfedilmiştir. H.S.P. hücredeki sıcaklık değişimlerinin yanı sıra hipoksi, reaktif oksijen metabolitleri, glikoz düzeylerindeki değişiklik, yaşlanma gibi birçok fizyolojik stres durumlarında üretimi artmaktadır (50, 51). Hücre içi ve hücre dışında bulunabilen H.S.P. farklı görevlere sahiptir. Hücre öldüğünde hücre dışına atılan bu proteinler hastalık veya enfeksiyon gibi durumlarda bağışıklık sistemini uyarırken, hücre içinde ise proteinin doğru katlanmasından sorumludur (52). Stres proteinleri olarak da adlandırılan H.S.P.aminoasit dizilim benzerlikleri, hücredeki yerleşimlerine ve işlevlerine göre göre; H.S.P.100, H.S.P.90, H.S.P.70, H.S.P.60, küçük H:S.P. ve ubikuitin olarak 6 sınıfa ayrılır (53). H.S.P.70 ailesinde HSP70, HSP72, HSP73 ile GRP75 ve GRP78 olmak üzere 5 tip protein bulunmaktadır (54).

2.3. Endoplazmik Retikulum Stresi

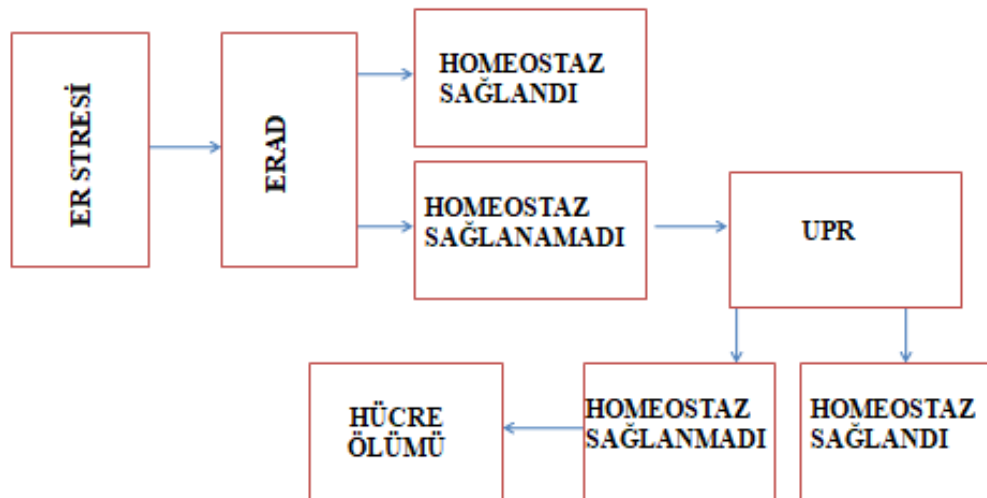
Bir hücrede, salgı proteinlerinin fazla sentezlenmesi, hatalı katlanmış proteinlerin birikmesi, katlanma işlevinin gerçekleştirilmesinde görevli proteinlerdeki mutasyonlar, ER'deki Ca^{2+} seviyesindeki anormal değişimler gibi sebepler ile ER fonksiyon kapasitesi aşılabilir (55). Bunlar gibi ER fonksiyon kapasitesinin aşılmasına yol açan bazı fizyolojik veya patolojik durumlarda ER lümeninde katlanmamış veya yanlış katlanmış protein birikmesi olabilir. Bunun sonucunda ER protein yükü artar ve ER stresi meydana gelir. Bir diğer deyişle ER'de katlanmamış proteinlerin yükü ile bu yükü idare eden hücresel mekanizmanın kapasitesi arasında bir dengesizlik olduğunda ER stresi oluşur. ER stresi zararlı bir şekilde hücre homeostazını etkileyebilir. ER'de protein birikimini tetikleyen faktörler; salgı proteinlerinin yüksek miktarda sentezlenmesi, hatalı katlanmış proteinlerin birikmesi, katlanma işlevinin gerçekleştirilmesinde görevli proteinlerdeki mutasyonlar, besin kıtlığı, ER'deki Ca^{2+} seviyesindeki anormal değişimler, viral enfeksiyonlar olabilir (55-58). ER stresine yol açan proteinlerin birikiminin hücreler üzerinde de toksik etkisi vardır. Aynı zamanda hücreye zarar vermektedir. Tip 2 diyabet ve obezite gibi metabolik hastalıklar, Parkinson, Alzheimer, serebral iskemi, uyku apnesi, multiple sklerozis gibi nörodejeneratif hastalıklar ER stresi ile ilişkilendirilmiş çeşitli patofizyolojik hastalıklar olarak bilinmektedir (59, 60).

2.4. Hücrenin ER Stresinden Korunma Mekanizmaları

Hücrede ER stresi olduğu zaman katlanmamış proteinler veya yanlış katlanmış proteinler ilk olarak Endoplazmik Retikulum İlişkili Yıkım (ERAD) aracılığı ile uzaklaştırılır. ERAD mekanizmasının stresin üstesinden gelemediği durumlarda ise proteozom inhibitörleri ERAD yolağını bloke eder ve sonuç olarak UPR olarak isimlendirilen sinyal yolağı uyarılır (61, 62). UPR, protein katlanmasında hem ER'nin boyut, şekil ve bileşenlerini hem de farklı fizyolojik ve patolojik koşulların iyileştirilmesinde diğer ER fonksiyonlarını düzenler (63). Yine de hücre homeostazı sağlanmazsa çevre dokuların korunması için hücre ölümü (apoptoz) gerçekleşir (12).

2.4.1. Endoplazmik Retikulum İlişkili Yıkım (ERAD)

ER stresi durumunda bozulan hücre homeostazını yeniden sağlamak için çeşitli koruyucu/düzeltilici mekanizmalar devreye girer. İlk olarak ER stresini engellemek için katlanmamış proteinler sitoplazmada proteozomlar tarafından yıkılmaya çalışılır. Bu mekanizmaya endoplazmik retikulum ilişkili protein bozulması (ERAD) mekanizması denilmektedir (9, 64, 65). Katlanmamış proteinlerin katlanmasını teşvik etmek ve birikmesini önlemek için, bir dizi şaperon ve enzim, ERAD aracılığıyla iş yükünü sınırlamaya çalışır. ER protein katlama mekanizmasındaki en iyi karakterize edilmiş ve en bol miktarda bulunan şaperonlardan biri, yanlış katlanmış proteinleri ERAD'a yönlendiren glikoz düzenleyici protein78 (BIP / GRP78)' dir (66).

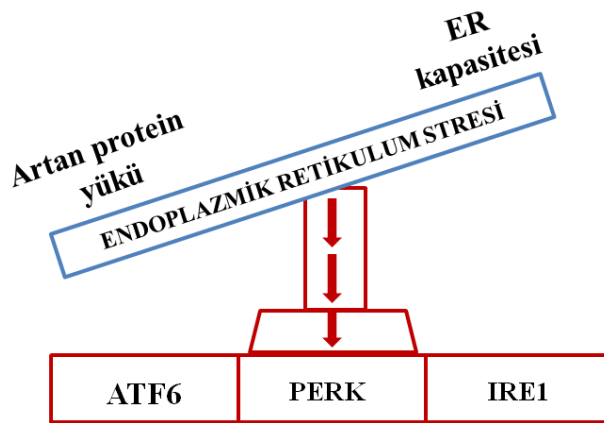


Şekil 2. 1. ER stresıyla karşılaştığında oluşan hücre cevabı.

2.4.2. Glikoz İle Regüle Protein 78 kDA (GRP78/BIP) ile Aktifleşen Katlanmamış Protein Yanıtı (UPR)

Glikoz ile regüle protein 78 (GRP78), 78 kDa'dur. GRP78'in monomerik ve dimerik formları bulunur. Monomerik formu şaperon olarak görev alır. Grp78, ER organeli dışında çekirdek ve mitokondride de vardır. ER'de stres durumlarında hücre yaşamının devamının sağlanmasında Grp78 önemli bir kurtarıcı rol oynamaktadır (67, 68). Proteinin, ER'ye translokasyonunun düzenlenmesi, proteinin doğru bir şekilde katlanmasının sağlanması, apoptozisin düzenlenmesi, sensör yanıtının düzenlenmesi, protein kalite kontrolünün sağlanması ve protein yıkımının düzenlenmesi Grp78'in başlıca görevlerindedir (69). Bunun yanında Grp78, ER'deki en fazla Ca^{+2} bağlayan şaperonlardan biridir. Dolayısıyla sarkoplazmik retikulumda Ca^{+2} düzenlemesinden sorumlu ana şaperon olarak kas kasılmasında da önemli role sahiptir (70). Bir şaperon proteini olan GRP78, proteinlerin doğru katlanmasının yanı sıra katlanmamış proteinlerden kaynaklı ortaya çıkan ER stresinin düzeltilmesinde de görev alır. Hücrede

ER stresi yokken GRP78, Protein Kinaz RNA (PKR) Benzeri ER Kinaz (PERK), İnozitol Gerektiren Kinaz 1 (IRE1) ve Aktive Edici Transkripsiyon Faktör 6(ATF6) transmembran proteinlerine bağlı olarak, o proteinleri inaktif halde tutmaktadır (71). Biriken yanlış katlanmış proteinlerle veya ER stresine sebep olacak herhangi bir durumla karşılaştıklarında ERAD mekanizması ile homeostaz sağlanamazsa GRP78, UPR indüklenir ve tekrar homeostazisi sağlamaya çalışırlar (72). ER'de oluşan stres durumunda GRP78, bağlı olduğu ATF6, IRE1 ve PERK transmembran proteinlerinden ayrılarak lümene gider ve aktifleşen transmembran proteinleri de UPR yolağını indükler. Ve böylece protein katlanması düzenlenerek hücre hayatta kalabilir (73).

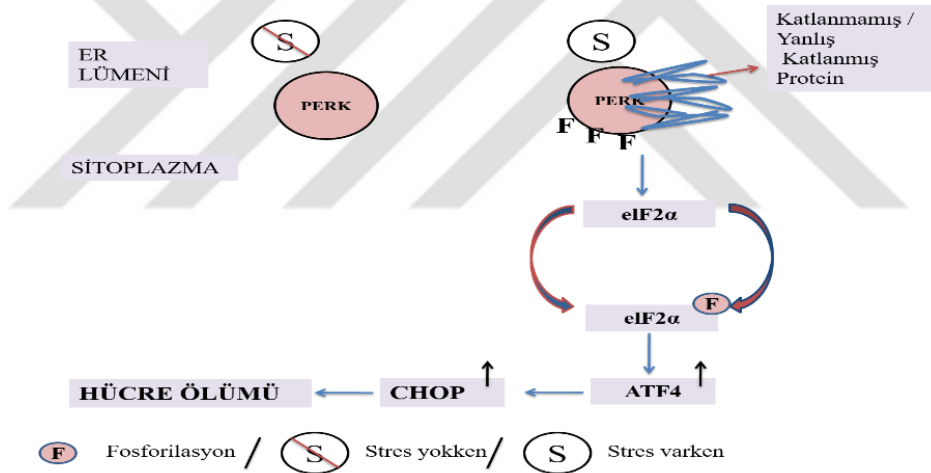


Şekil 2. 2. Artan protein yüküne karşılık ER kapasitesinin yetersiz kalması.

UPR de ER stresi durumunda homeostazisi yeniden sağlayan oldukça önemli bir sinyal mekanizmasıdır. UPR'nin aktifleşmesiyle hücre normal durumuna geri dönebilir. Ama stres baş edilebilecek düzeyden yüksek ise hücre ölümü gerçekleşir (74).

2.4.3. Protein Kinaz RNA (PKR) Benzeri ER Kinaz (PERK) Sinyal Yolu

PERK, ER membranında bulunan tip 1 transmembran proteindir. Aynı zamanda ER stres sinyalizasyonunda önemli bir role sahiptir. PERK vasıtasıyla UPR cevap genlerinin upregulasyonu sağlanarak hatalı proteinlerin birikimi ve protein translasyonu azaltılır. Normal koşullarda PERK daha önce de bahsedildiği gibi Grp78 ile birlikte inaktif durumda bulunur (39, 75, 76). Hücrede ER stresi olduğu durumlarda ise beraber bulunduğu Grp78 ayrılarak lümene gider, PERK ise fosforillenir.



Şekil 2. 3. ER stresi durumunda PERK transmembran proteininin fosforile olması ile başlayan hücre koruyucu mekanizma.

Grp78 lümene protein katlanmasını düzenlerken, aktifleşen PERK şekil 2.3'te de gösterildiği gibi ökaryotik başlama faktörünü (eIF2α) fosforile eder. Fosforillenen eIF2α, genel translasyonu hücre içinde durdurur. Bu aşamadan sonra eIF2α ile genel translasyon durdurulmuş olsa da ATF4 translasyonu devam eder. ATF4'ün amino asit metabolizması, stres yanıtı ve protein salgılanmasında rol alan genleri indükleyerek hücre sağkalımını arttırdığı daha önceden rapor edilmiştir. Ancak bunun yanında ATF4'ün translasyonu ile C/EBP homolog proteini (CHOP) de uyarılabilir (41, 77-79). CHOP, apoptozu idare eden proapoptotik transkripsiyon faktörüdür. CHOP'un güçlü uyarılması hücrenin

büyümesinde duraklamaya ve apoptozise sebep olmaktadır. Bundan dolayı CHOP, ER stresinde apoptozisin aktifleşmesinde önemli rol oynar (80, 81).

Dolayısıyla ER stresi sonucu tetiklenmiş olan apoptoz, doğrudan ER membranında yerleşik olan transmembran proteinleri tarafından değil, bunlar tarafından aktive edilmiş alt bileşenlerle uyarılır. ER stresi tarafından uyarılmış apoptoz için 3 temel yolak aydınlatılmıştır. Bunlardan biri; PERK/eIF2 α tarafından uyarılan ATF4 aracılığı ile aktive edilen CHOP'u içeren yolaktır. Diğerleri ise IRE1 aracılığıyla aktive edilen ASK1 (apoptoz sinyal kinaz 1) / JNK (c-Jun NH2-terminal kinaz) yolağının ve ER'de lokalize olan kaspaz 12'nin aktivasyonudur (74, 82, 83).

2.4.4. ATF4 (Aktive Edici Transkripsiyon Faktör 4)

ATF4 Lösin Fermuar Aktifleyici Faktör (bZIP) ailesinin bir üyesidir (84). Luo ve arkadaşları ATF4'ün ER'de hücrenin hayatta kalmasına katkıda bulunabilecek büyük bir şaperon proteininin transkripsiyonel aktivasyonunu temsil ettiğini söylemişlerdir (85). Ancak yapılan bir başka çalışmada GRP78 eksikliğinde ATF4'ün uyarılmasıyla UPR'nin aktive edildiği bulunmuştur (86). ATF4'ün translasyonu ise eIF2 α 'nın fosforile olduğu durumlarda fark edilir bir avantaj sağlamaktadır. Ayrıca hücrenin devamlılığında eIF2 α sinyali merkezi rol oynamaktadır (87). Fosforile edilen eIF2 α , mRNA'da translasyonel aktivitede azalmaya yol açarak ribozomal başlama komplekslerinin oluşumunu engeller (88). Fosforile edilen eIF2 α , translasyonu hücre içinde durdururken, PERK yolağında da ATF4 uyarılır. translasyonel indüksiyonuyla CHOP'u uyarılabilir. Ancak CHOP, apoptozu idare eden, proapoptotik transkripsiyon faktörüdür. CHOP'un güçlü uyarılması hücrenin büyümesinde duraklamaya ve apoptozise sebep olmaktadır. Bu sebeple, CHOP, ER stresinde hücrede apoptozisin aktive olmasında önemli rol oynar (77, 80).

2.4.5. İnozitol Gerektiren Kinaz 1 (IRE1)

Transmembran proteini olan İnozitol Gerektiren Kinaz 1 (IRE1), UPR dalının en fazla korunan eksenidir. Normal fizyolojik koşullarda GRP78'e bağlı olarak bulunan IRE1 ER stres sırasında Grp78'in ayrılmasıyla dimerize olur ve otofosforile olur (89). Aktive edilmiş IRE1, X-Box Bağlayıcı Protein 1 (XBP1)'in mRNA'sından 26 nükleotidli bir bölümün eklenmesini uyarır. Eklenmiş mRNA'dan dönüştürülen XBP1 sonunda

nükleusa geçerek ER homeostazını düzeltmek için protein katlanmasını ve ERAD'da rol alan genlerin transkripsiyonunu arttırarak ER stresinin azaltılmasını sağlar (1, 90).

2.4.6. Aktive Edici Transkripsiyon Faktör 6 (ATF6)

ER stres sinyalinin bir diğer sinyal düzenleyicisi olan ATF6 tip 2 ER transmembran proteindir. ATF6, bir lüminal C-terminaline, bir transmembrana ve bir sitoplazmik N-terminal alanı olmak üzere 3 yapısal alana sahiptir (91, 92). ATF6, merkezi bir transmembran alanı içermesi ve ER membranlarına lokalize olması nedeniyle bir bZIP'dir. Bu sayede ATF6, bZIP transkripsiyon faktörü oluşturarak golgi aygıtına geçer. ATF6 normalde ER membranında Grp78 ile birlikte inaktif formdadır. ER stresi durumunda Grp78 lümeneye katlanmaya yardımcı olmak için ayrılır. GRP78'in ayrılmasıyla birlikte, ATF6 golgi organına gider ve orada site 1 ve site 2 proteazlarla kesilerek aktif forma dönüşür. (82, 93, 94). Aktifleşen ATF6, çekirdeğe aktarılarak alt yolaklarında bulunan genlerin aktivasyonunun gerçekleşmesini sağlar (95). Böylece ER stresi ile başa çıkmak için gerekli olan pek çok gen ekspresyonu indüklenir (96).

2.4.7. Egzersiz ve ER Stresi Arasındaki İlişki

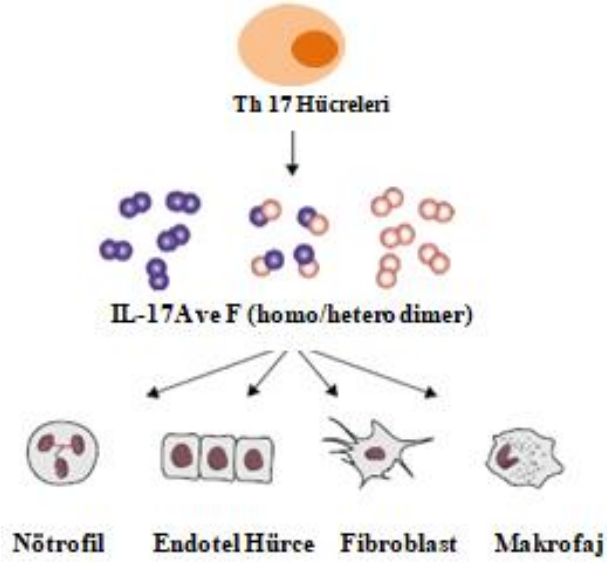
Egzersiz son zamanlarda kas hasarına yol açıp açmadığı konularda araştırılma konusu olarak görülmeye başlanmıştır. Obez sıçanlarla yapılan bir çalışmada egzersizin ER stresini azalttığını bulmuşlardır (4). Başka bir çalışmada egzersizin enerji harcamasını arttırarak, ER stres yolunun aktivitesini önleyeceğini öngörerek yapıldığı halde tam tersine çalışmada egzersizin, ER stres yollarının aktive ettiğine dair bulgular elde etmişlerdir (97). Egzersizin türü, şiddeti, süresinin önemli olduğu kadar hormonal değişikliklerin de egzersizi etkileyeceği düşünülmüş olmalı ki premenopozal dönemdeki kadınların katıldığı 8 haftalık orta şiddetli tempolu yürüme egzersizi sonrasında tempolu yürüyüşün ER stresi üzerine olumlu etkileri bulunmuştur. Ve bu çalışma neticesinde ER stresindeki azalmanın ileri dönemde oluşabilecek metabolik hastalıkları önlemek için etkili olabileceği düşünülmüştür (98). Egzersiz çalışmalarında çeşitli sonuçlar elde edilmesi dolayısıyla literatürde hala araştırılması gereken bir konu olduğu düşünülmektedir.

2.5. İnterlökinler

İnterlökinler, bağışıklık sisteminde, çeşitli hücreler arasındaki sinyalleri ileten, daha kapsamlı bir polipeptit sınıfı olan sitokinlerin önemli bir bölümüdür (99). Çeşitli hücreler tarafından üretilen veya salgılanan sitokinler, inflamasyon, hücre büyümesi, iyileşmesi ile yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve inflamatuvar durumları düzenleyen hormon benzeri peptidlerdir (100). Sitokinler lenfositler, nötrofiller, monositler ve diğer hücrelerin aktivasyonuna olanak tanımakta ve bu hücreler dokunun antijenlerden temizlenmesinde ve iyileşmesinde rol oynamaktadır (101).

2.5.1. İnterlökin-17 (IL-17)

İnterlökin-17(IL - 17), 1993 yılında yardımcı T lenfositleri (Th 17) tarafından üretilen bir sitokin olarak keşfedilmiştir (102). IL-17, en az 6 alt tipi olan (A-F) bir sitokin ailesidir. Özellikle IL-17A ve IL-17F, IL-17 ailesinin en iyi karakterize edilen sitokinleridir. Bunlar Th17 hücreleri tarafından üretilir ve indüklenir. IL-17'nin dolaşım içine salınması yoluyla Th17 lenfositleri, proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu düzenleyen bir protein kompleksi oluşturarak inflamatuvar bir tepki oluşturabilir (103). IL-17, Th17 hücreleri tarafından üretilmesine rağmen bunun dışında doğal öldürücü hücreler, makrofajlar, dendritik hücreler, sinovyal hücreler, endotel hücreleri, çeşitli proinflamatuvar sitokinler, kemokinler, eozinofiller ve nötrofillerin de dahil olduğu bir çok hücre tipinin oluşturduğu bir hücre tarafından da üretilmektedir (104, 105). Bunun yanında Kono ve arkadaşlarının şekil 2.4.'te de gösterdiği gibi IL-17 diğer inflamatuvar sitokinlerin üretilmesinde görev alan nötrofil, endotel, fibroblast ve makrofaj hücreleri uyarır (106).



Şekil 2. 4. IL-17'nin diğer inflamatuvar sitokinleri üreten hücreleri uyarması

Bazı kronik hastalıklarda IL-17 seviyelerinde anlamlı derecede arttığı bulunmuştur (107). Aynı şekilde yapılan deney hayvanları ve insan çalışmalarında, IL-17 ve TH17 hücrelerinin, iltihaplanma ve otoimmünite patogenezinde kilit bir rol oynadığını bulunmuştur. Bu gözlemlere dayanarak, IL17 ve Th17 hücrelerinin çeşitli hastalıkların tedavisi için potansiyel hedefler olduğu düşünülmektedir (108).

2.5.2. İnterlökin-23 (IL-23)

İnterlökin -23 (IL-23) , IL-12 ailesine ait bir heterodimerik sitokindir (109). IL-23, organa özgü inflamatuvar otoimmün hastalıkların oluşumunda önemli bir rol oynar (110). IL23'ün, aktive edilmiş fare ve insan monositlerinden, makrofajlarından, dendritik hücrelerinden, T ve B hücrelerinden, endotel hücrelerinden salgılandığı bulunmuştur (111).

Aktif T hücrelerinin IL-17 üretimini, IL-23 desteklemektedir. Bu nedenle IL-23 ve Th17 hücreleri arasında güçlü bir bağlantı kurulmuştur (112). Ayrıca IL-23, sayısız immün patolojinin gelişimine neden olan Th17 hücrelerinin gelişimini ve genişlemesini de sağlamaktadır (113, 114). Hatta T hücrelerinden IL-17 üretimini hızlı bir şekilde indüklemeye kabiliyetine sahip olan IL-23 bu sayede patojenlere karşı etkili, acil, doğal bir bağışıklık tepkisi sağlar (115). Bundan dolayı IL-23'ün, patojenlere erken immün yanıtta önemli bir itici gücü olduğunu ileri sürmüşlerdir (116).

2.5.3. Egzersizin ile IL-23 ve IL-17 Düzeylerinin İlişkisi

Birer proinflamatuvar sitokin olan IL-17 ve onu indükleyen IL-23 ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında çeşitli sonuçlar elde edilmiştir. Düzova ve arkadaşları 2009 yılında yaptıkları zorlu egzersiz sıçan modelinde IL-17 düzeyinin arttığını göstermişlerdir (2). 2012 yılında Sugama ve arkadaşları tarafından triatlon yarışmasına katılan erkek sporcularda yapılan çalışmada uzun süreli dayanıklılık egzersizi sonrasında IL-17 düzeyinin arttığı gözlemlenmiştir (117). Tofighee ve arkadaşları ise 40 profesyonel atletin katıldığı bir çalışmada kısa anaerobik egzersizin IL-17 düzeylerine bir etkisi olmadığını bulmuşlardır (118). 6 ay boyunca ilerleyici dirençli egzersiz yaptırılan multiple sklerozlu hastalarda proinflamatuvar sürecin göstergesi olan IL-17 ve IL-23 salgılanmasının azaldığını gözlemlenmiştir (119). Yukarıdaki çalışmalarda da gösterildiği gibi IL-17'nin sadece zorlu egzersizlerde yükseldiği gösterilmiştir (2). Ancak IL-23'ün yüksek yoğunluklu egzersizden veya zorlu egzersizden nasıl etkilendiği konusunda literatürde bir bilgiye rastlanılmamıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları ve Deney Planının Oluşturulması

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınan onay (2019/A-09) ile İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi, Tıp Fakültesi Fizyoloji ve Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmadaki bütün uygulamalar etik kurul protokolünde belirtildiği şekilde yapıldı. Deney süresi boyunca kafeslerin bulunduğu ortam 20-22°C sıcaklık aralığında ve 12 saat ışık/karanlık periyodu olacak şekilde düzenlendi. Hayvanlar normal musluk suyu ve standart sıçan yemi ile *ad libitum* olarak beslendi.

Bu çalışmada etik kurul onayı alındıktan sonra 8 haftalık Sprague Dawley cinsi toplam 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Egzersiz yaptırılacak olan sıçanlarda egzersiz kapasitesi ve kas yapısı daha uygun olduğu için aynı zamanda hormonal aktiviteden etkilenme olmaması açısından erkek sıçanlarda yapılması tercih edildi.

3.1.1. Deney Gruplarındaki Hayvanlarının Sayısının Belirlenmesi

Her gruptaki hayvan sayısının saptanması güç analizine göre yapıldı. Daha önce yapılmış olan çalışmalar örnek alınarak Grp78 düzeylerindeki değişimin anlamlı çıkabilmesi için %95 güven düzeyinde ($\alpha=0,05$) ve %80 güç ($\beta=0,20$) ile karşılaştırılması için etki büyüklüğü 0,6849 olarak öngörüldüğünde grup başına alınması gereken minimum hayvan sayısı 8 (sekiz) olarak hesaplandı. Hayvanlar rastgele atama yöntemine göre 3 gruba ayrılmıştır. Egzersiz protokolüne uymama ve hayvan kaybı olabileceği göz önünde bulundurularak grup başına 10 toplamda 30 tane hayvan alındı.

3.1.2. Deney Grupları

Gruplar oluşturulurken sıçanlar tartılarak ağırlık ortalamaları birbirlerine en yakın olacak şekilde rastgele 3 gruba ayrıldı.

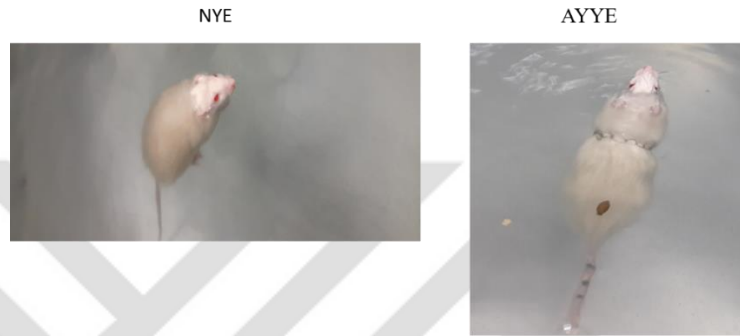
1.Grup: Kontrol grubu (n=10)

2.Grup: Normal yüzme egzersizi yaptırılan gruptur. (n=10)

3.Grup: Ağırlık yüklü yüzme egzersizi yaptırılan gruptur. (n=10)

3.1.3. Deney Süreci

Hayvanlar, çalışmaya alınırken ve her haftanın başında tartıldı. Egzersize başlamadan önce sıçanlar 1 hafta boyunca yüzmeye adapte edildi. Adaptasyon normal yüzme egzersizi yapan ve ağırlık yüklü yüzme egzersizi yapan gruplardaki sıçanları 10 dakika olmak üzere günde 1 defa, 5 gün boyunca, 31(±1)°C sıcaklıkta suda yüzdürerek sağlanmıştır. Kontrol grubundaki (grup 1) sıçanlar yüzme egzersizi yaptırılan sıçanlarla aynı ortamda tutuldu.



Şekil 3.1.3. Sıçanlara uygulanan yüzme egzersizi

Egzersiz yaptırılan sıçanlara (2 ve 3.gruplar), 10 hafta boyunca aşağıda verilen tablo 3.1.3'teki protokole uygun olarak egzersiz yaptırıldı. Her iki grupta da egzersiz süresi 2 haftada bir 10 dakika artırılarak devam etmiştir. Ayrıca 3. Grupta süre artışının yanı sıra her bir sıçanın vücut ağırlığının yüzde 5'i ağırlığında yük bağlanarak egzersize başlanıp ve 2 haftada bir vücut ağırlığının %1'i oranında artırılarak sırasıyla %6, %7, %8, %9 ve son olarak %10 şeklinde yük bağlanarak yüzme egzersiz tamamlandı (120, 121).

Tablo 3.1.3. Yüzme protokülü (Speretta ve Gobatto'nun deneyleri örnek alındı.)

	Kontrol Grubu	NYE Grubu (Süre ve Ağırlık Yük Değerleri)	AYYE Grubu (Süre ve Bağlanan Yük Değerleri (Yük= Vücut Ağırlığının Yüzdesi))
Uyum Haftası	-	10 dk	10 dk % 5
1-2 Hafta	-	20 dk	20 dk % 6
3-4 Hafta	-	30 dk	30 dk % 7
5-6 Hafta	-	40 dk	40 dk % 8
7-8 Hafta	-	50 dk	50 dk % 9
9-10 Hafta	-	60 dk	60 dk % 10

3.2. Dokuların Alınması ve Analizleri

Kontrol grubundan bir sıçan, normal yüzme egzersizi yapan grupta 2 hayvan ve ağır yüzme egzersizi yapan grupta 1 hayvan deney süresi tamamlanmadan ölmüştür. Tablo 3.1.3'teki protokole göre egzersiz yaptırılmış sıçan grupları ve kontrol grupları, akut egzersiz stresinin olası etkilerini dışlamak için son egzersiz seansından 2 gün sonra hayvanlara intraperitoneal olarak 5 mg/kg ksilazin ve 45 mg/kg ketamin ile anestezi altında kalplerinden kan alınarak feda edildi. Alınan kan örnekleri vakit kaybetmeden 4000 Rpm hız ile 10 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra elde edilen serum örnekleri ependorf tüplere transfer edilerek -80°C'ye saklandı. Bu işlemlerin yanı sıra her bir sıçanın aynı çizgili kasından doku örnekleri alınmıştır. Alınan dokular analizler yapılana kadar -80°C derecede saklandı.

3.2.1. Hayvanların Ağırlıklarının Ölçümleri

Deneyin başlangıcından itibaren her hafta başında bütün gruptaki hayvanlar içindeki buldukları kabın darası alınarak tartıldı. Elde edilen veriler not edilerek Excel'e aktarıldı.

3.2.2. ELISA Testi İle Serum IL-23 ve IL-17 Düzeyinin Ölçülmesi

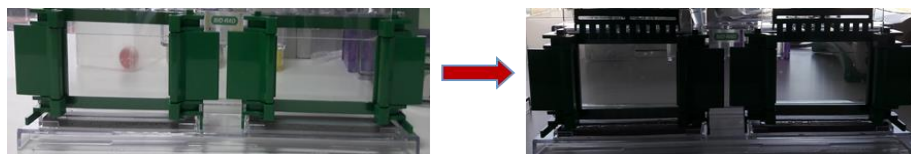
-80°C'de saklanan serum örnekleri analiz gününden 1 gün önce +4°C derecede buzdolabında bekletildi (122). ELISA kiti oda sıcaklığına getirildi ve serumlar çözününceye kadar bekletildi. Serumların çözüldükten sonra ilk olarak standartlar hazırlandı. Standard çözeltiler seri dilüsyonla seyreltildi. Plate, paketinden çıkarıldı. Kuyucukların en üst ve en alt kısmı numaralandırıldı. İlk iki sütun standart kuyucuklar için diğer numara verilen sütunlar serum kuyucukları için hazırlandı. Standard tüplerinden, 50 µl standart çözeltisi alınıp plate üzerindeki standart kuyucuklarına sırayla eklendi. Her serum tüpünden, 40 µl serum alınıp plate üzerindeki numaralandırılan çift tekrarlı kuyucuklara serumlar ilave edildi. Yalnız serum kuyucuklarının üzerine ayrı ayrı 10µl (anti IL-23 (SunRed,201-11-0126) ve IL-17 (SunRed,201-11-0116)) antibody eklendi. Standart çözeltilere biyotin ile antikor içerdiğinden standart eklenmedi. Plate üzerindeki her kuyucuğa 50 µl streptavidin-HRP eklendi. (Not: std7- BLK hariç) Platein şeffaf film ile kapatıldı. 60 dk boyunca 37°C de etüvde inkübe edildi. Yıkama evresine

geçildi. Öncelikler Wash Buffer hazırlandı. Daha sonra etüvden çıkarılan plate içindekiler döküldü. Her bir kuyucuğa 350 µl wash buffer eklendi. 30 saniye süre geçtikten sonra yavaşça çalkalanarak lavoboya döküldü. Toplamda 5 kez aynı işlem tekrarlandı. Yıkama işlemi bittikten sonra, kuyucuklara önce 50 µl substrate solution A sonra 50 µl substrate solution B çözeltileri eklendi. Plate tekrar şeffaf film ile kapatılıp 10 dk 37°C’de etüvde inkübe edildi. Etüvden çıkan plate içindekiler dökülmeden her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi. Bu işlemle birlikte mavi renkteki kuyucuklar hızla sarı renge döndü. Plate 10 dk içerisinde ELISA cihazına (Bio-Rad,CODA) yerleştirildi ve 450 nm’de okutuldu. Veriler optik yoğunluk&konsantrasyon grafiği çizilerek en uygun eğri çizildi. Bu hesaplamalar en iyi bilgisayar tabanlı eğri uydurma yazılımı ile yapılabilmektedir. En iyi uyuma çizgisi regresyon analizi ile belirlendi.

3.3. Western Blot Yöntemiyle GRP78 VE ATF4 Proteinlerinin Analizi

3.3.1. Proteinlerin Yürütüleceği Jelin Hazırlanması

Öncelikle proteinlerin yürütülmesi için ihtiyacımız olan poliakrilamid jel hazırlanmaya başlandı. Bunun için önce %10 Separating (Lower) jel hazırlandı. Her bir jel için 15 ml’lik tüplerinde hazırlanan jelin içine 2 ml saf su, 1.67 ml %30 Acrylamide/Bis-acrylamide, 1,25 1.5M Tris (pH=8.8), 25µL %20 SDS, 25µL %10 Amonyum Persülfat (APS) ve en son 2.5 µL Temed konularak hazırlandı. Biri ince diğeri daha kalın olan 2 cam (Bio-rad, Mini-PROTEAN) arasına döktükten sonra üzerindeki köpükleri gidermek için izopropil alkol eklenmiştir. Separating jel donduktan sonra camların arasındaki izopropil alkol döküldü. Daha sonra 2. jel olan Stacking Jeli (%5) hazırlanmaya başlandı. Stacking jel hazırlanırken başka bir 15 ml’lik bir tüpü alınarak içerisine; 2.088 ml saf su, 0.506 ml %30 acrylamide/BIS, 0.375 ml 1M Tris (pH=6.8), 15µL %20 SDS, 15µL %10 APS ve en sonunda 1.5 µL Temed eklenerek hazırlandı. Separating jel 2 cam arasına (Bio-rad, Mini-PROTEAN) döktükten hemen sonra üzerine taraklar yerleştirildi. Ve jelin donması beklendi.



Şekil 3. 3.1. Proteinlerin yürütülmesi için gerekli jelin hazırlanması

3.3.2. Dokuların Homojenizasyonu ve Protein Miktarlarının Belirlenmesi

Gastroknemius ve sol ventrikülden alınan doku örnekleri -80°C 'den çıkarılıp buz üzerinde protein ekstraksiyon kiti (GeneAll,701-001) ve (Serva,39102.01) proteaz inhibitör kokteyl eklenerek 16.000 devir/dk hızda 3 dk homojenize edildi. Daha sonra 10 dk $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 4000 RPM hız ile santrifüj edildi (IKA, Germany). Daha sonra protein ölçümü yapıldı (DeNovix,DS-11). Böylece kuyucuklara yüklenecek proteinler arasında eşitlik sağlanabildi.

3.3.3. Yürütülecek Örneklerin Hazırlanması

1.5 ml'lik ependorf tüplere 3 birim hacim homojenat 1 birim hacim 4x yükleme tamponu ile karıştırıldıktan sonra cam behere konularak suyun içinde ependorf tüplerin içindeki karışım 5 dk boyunca kaynatıldı (Daihan,MSH-20A). Ardından kaynamış olan karışım oda sıcaklığında 1 dk 4000 RPM devirde santrifüj edilmiştir (IKA, Germany).

3.3.4. Elektroforetik Yürütme Sisteminin Kurulması

Yürütme tankının hazırlanması aşamasında ilk olarak jeller taraklı kısmı iç tarafa bakacak şekilde düzeneğin içine yerleştirildi. Jellerin arası ve kap dolacak şekilde 1X Runnig Buffer ile dolduruldu. Örnekler jel kuyucuklarına yüklendi ve yürütme işlemi 80 V ile sürdürüldü (Bio-Rad, Powerpac Basic). Yaklaşık 3 saatin sonunda proteinlerin yürütmesi tamamlandı.



Şekil 3. 3.4. Elektroforez yöntemiyle yüklenen örneklerin yürütülmesi.

3.3.5. Jeli Commassie Blue ile Boyama

Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra her membran için hesaplama yapmak üzere aynı anda yürütülmüş jellerden biri commassie blue ile boyandı. Boyama 30 dk sürdürüldü. Daha sonra 2 defa 15'er dk Destaining Solüsyonu (%10 asetik asit,%50 Methanol) ile yıkandı.

3.3.6. Proteinlerin Jelden Membrana Geçirilmesi ve Antikor Muamelesi

Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra proteinleri jelden membrana(Bio-Rad, PVDF Membran) transfer işlemi için sandviç yöntemi yapıldı (Thermo Scientific, Pierce Power Blotter). Membran steril bir şekilde cımbızla alınarak 50 ml'lik tüpe yerleştirildikten sonra 1 saat boyunca membran oda ısında 1X (tris buffered saline) TBS-T ile hazırlanan % 5'lik yağsız süt tozu ile birlikte çalkalandı (Blood Tube Roller Mixer). Daha sonra GRP78 (GRP 78 Antibody, (76-E6): sc-13539) ve ATF4 (CREB-2, Antibody (B-3): sc-390063) antikorları 1/200 oranında süt tozuna eklenerek gece boyunca +4°C'de çalkalanmaya devam etti. Ertesi gün yıkama solüsyonu hazırlanarak (50ml PBS 1X ph: 7.4 ve 50 µLTween) 3 kere 10 dakika boyunca oda sıcaklığında yıkama yapıldı. Yıkama işleminden sonra primer antikorlarla uyumlu olan anti rat IgG HRP (Abcam, ab97057) sekonder antikor ve (BT LAB,BT-AS00006) anti Mouse IgG HRP sekonder antikor 1/5000 oranında süt tozu içinde hazırlanarak membranla birlikte 1 saat oda sıcaklığında çalkalama işlemi yapıldı. Devamında tekrar 3 defa 10 dakika boyunca oda sıcaklığında yıkama yapıldı.

3.3.7. Membrandaki Proteinlerin Görüntülenmesi

Enhanced Chemi Luminescence (ECL) solüsyonu membranın üzerine karanlık bir ortamda döküldü. Ardından görüntüleme yapıldı. Veriler bilgisayara kaydedildi. İşlem her protein için tekrarlandı.

3.3.8. Protein Yoğunluklarını Hesaplanması

Aynı anda yürütülmüş jellerden birisi boyama yapılarak protein miktarları (GeneSys) hesaplandı. Daha sonra membrandaki protein miktarları da (GeneSys)

hesaplandı. Membrandaki her bir protein miktarını boyama yapılan jeldeki aynı kuyucuktaki protein miktarına oranlayarak elde edilen veriler kaydedildi.

3.3.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler bilgisayar IBM SPSS 22.0 paket programı ile yapıldı (123). Nicel veriler ortalama ve min-max şeklinde ifade edildi. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi arasındaki farkların belirlenmesinde Kruskal Wallis testi yapıldı ve 3 grup arasındaki fark anlamlı çıktığı durumlarda grupların birbiriyle kıyaslanabilmesi için göreceli Benforroni Mann Whitney U testi kullanıldı.



4. BULGULAR

4.1. Hayvanların Haftalık Kilolarının Ölçüm Sonuçları

Deney başlangıç ve bitiş haftalarında yapılan kilo ölçümleri sonuçlarına göre her 3 grupta da anlamlı olarak kilo artışı olduğu görüldü.

Tablo 4. 1. Başlangıç ve Bitiş Haftalarında Hayvanların Kilo Değişimleri (Veriler median, min-max şeklinde sunulmuştur.)

	Başlangıç (gr)	Bitiş (gr)	P değeri
Kontrol Grubu	393 (301-444)	436 (342-471)	0.008
NYE Grubu	398 (313-468)	453 (334-551)	0.012
AYYE Grubu	364 (330-411)	401 (368-441)	0.008

Gruplar arasında kilo artışı farkları arasında ise anlamlı bir fark görülmedi.

4.2. Kan Serum IL-17 ve IL-23 Düzeylerinin Analizi

Çalışmamızda, farklı egzersiz gruplarının kontrol gruplarındaki kan serumlarında bulunan IL 17 seviyeleri analiz edilmiştir. ELISA cihazında 450 nm de okunması ile elde edilen sonuçların matematiksel değerleri ve ortalama değerleri veri dökümleri tablo 4.2.'de verilmiştir.

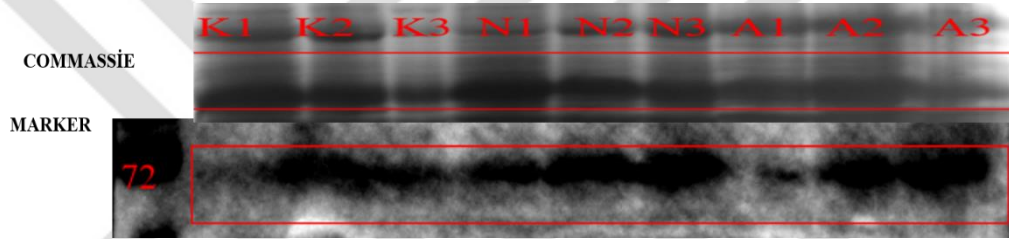
Tablo 4. 2. Serum IL-17 ve IL-23 analizlerinin sonuçları (Veriler median, min-max şeklinde sunulmuştur.)

	Kontrol Grubu n=9	NYE Grubu n=8	AYYE Grubu n=9	P değeri
IL-17 (pg/ml)	54.4 (42,6-271,5)	64.7 (54.35-72.42)	58.7 (39.6-166.8)	0.541
IL-23 (pg/ml)	4.67 (4.1-5.6)	5.02 (4.45-5.47)	4.57 (4.04-6.01)	0.434

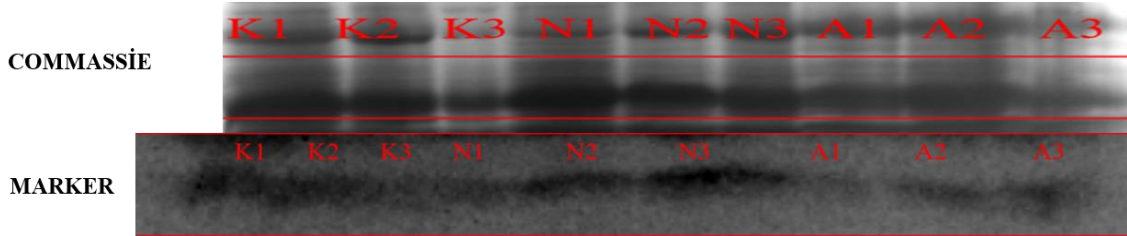
Yapılan Kruskal-Wallis testi sonucunda medyana göre yapılan hesaplamada IL-17 ve IL-23 değerlerin grupları arasında ($P>0.05$) değerler arasında anlamlı bir fark görülmedi.

4.3. Çizgili Kas Dokusundaki GRP78 ve ATF4 Proteinlerinin Analizi

Yaptığımız çalışma sonucunda dokulardan elde edilen proteinlere hem commassie boyama yapılmış ve hem de membrana transferi sağlandı. Ölçülen protein yoğunlukları (Syngene, GBox) cihazının programında hesaplandıktan sonra Excel'e aktarıldı. 3 grubunda çizgili kas dokusundaki proteinlerin boyama yapılan jel ve membrandaki protein yoğunlukları oranlanarak karşılaştırıldı.



Şekil 4. 1. Çizgili kas dokusu boyama yapılan jel ve membrandaki GRP78 proteini



Şekil 4. 2. Çizgili kas dokusu boyama yapılan jel ve membrandaki ATF4 proteini
Yapılan Kruskal Wallis testine göre veriler istatistiksel olarak hesaplandı ve anlamlı olarak görüldü.

Tablo 4. 3. Çizgili kas dokusundan elde edilen GRP78 ve ATF4 protein düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması (Veriler median, min-max şeklinde sunulmuştur.)

	Kontrol Grubu	NYE Grubu	AYYE Grubu	P değeri
GRP78 (Karşılaştırılmış Orantı)	0.007 (0.01-0.02)	0.041(0.00-0.01)	0.102(0.01-0.01)	0.005
ATF4 (Karşılaştırılmış Orantı)	0.0136(0.01-0.02)	0.0159(0.01-0.03)	0.0187(0.01-0.03)	0.005

Benforroni düzeltilmeli Mann Whitney U testine göre gruplar arasındaki farklılık hesaplandı.

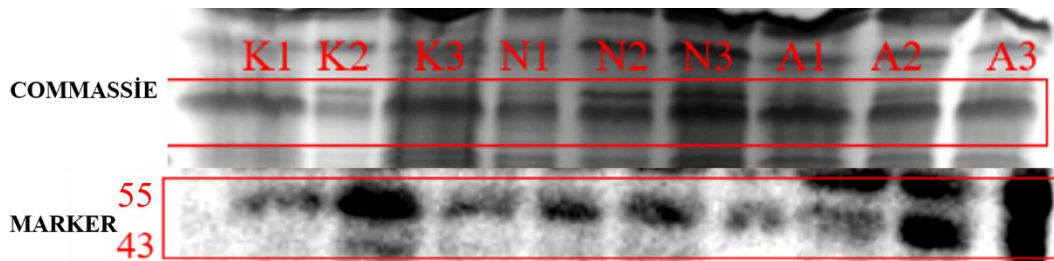
4.4. Kalp Kası Dokusundaki ATF4 Proteinlerinin Analizi

Yapılan Kruskal Wallis testine göre veriler istatistiksel olarak hesaplandı ve anlamlı olarak görüldü.

Tablo 4. 4. Kalp kası dokusundan elde edilen ATF4 protein düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması (Veriler median, min-max şeklinde sunulmuştur.)

	Kontrol Grubu	NYE Grubu	AYYE Grubu	P değeri
ATF4 (Karşılaştırılmış Orantı)	0.55(0.21-0.70)	0.97 (0.50 - 3.51)	0.31(0.15-0.35)	0.001

Benforroni düzeltilmeli Mann Whitney U testine göre gruplar arasındaki farklılık hesaplandı.



Şekil 4.3. Kalp kası dokusunda boyama yapılan jel ve membrandaki ATF4 proteini

5. TARTIŞMA

5.1. Yüksek Yoğunluklu Egzersizin IL-17 ve IL-23 Düzeylerine Etkileri

Egzersizin yoğunluğu, süresi ve fiziksel aktivitenin türü, bağışıklıkla bağlantılı olan sitokin profilini etkileyebilir (31, 124). Birer proinflamatuvar sitokin olan IL-17 ve onu indükleyen IL-23 ile ilgili yapılan egzersiz çalışmalarına bakıldığında çeşitli sonuçlar elde edilmiştir (2, 125). Egzersizden sonra oluşan inflamatuvar yanıt, immün hücreler ve etkilenen doku içerisinde proinflamatuvar ve hücre ölüm yanıtlarını başlatabilir, ancak bu büyük ölçüde egzersizin modalitesine ve yoğunluğuna bağlıdır (126). Böyle bir yanıtın bir örneği, yoğun bir dayanıklılık egzersizinden sonra dolaşımda çeşitli dokular üzerinde birçok inflamatuvar etkiye neden olabilen IL-17 ve IL-23 düzeylerindeki artışla gösterilmiştir (127).

Bu tez çalışmasında AYYE grubundaki sıçanlara yaptırılan yüksek yoğunluklu egzersizin, NYE ve kontrol grubundaki sıçanlara kıyaslandığında anlamlı bir değişiklik olmadığı bulundu. Yapılan bir çalışmada sıçanlar hafta içi 5 gün/10 hafta boyunca bir grubu 30dk koştururken diğer grubu 60 dk koşturmuşlardır. Egzersiz bitirildiği gün sıçanlar feda edilerek egzersizin akut etkilerine bakılmış olup 60 dk koşturulan sıçanlarda IL-17 seviyelerinin arttığı bulunmuştur (2). Bir başka çalışmada ise 5 haftalık orta şiddetli aerobik egzersiz ile diyetle obez yapılmış farelerdeki artmış IL-17 ve IL-23 seviyelerinin azaldığını rapor etmişlerdir (128). Sugama ve arkadaşları 40 kadın atlete yaptırdıkları 5 km koşu, 40 km bisiklet ve 5 km koşudan oluşan dayanıklılık egzersizinin IL-17 düzeyini arttırdığını rapor etmişlerdir (117). Ancak bir araştırmada kısa süreli yüksek yoğunluklu oryantiring (Yüksek yoğunluklu bir egzersiz olan, fiziksel ve bilişsel aktiviteyi birleştiren ve sporcunun bilinmeyen arazide mümkün olan en kısa sürede dağıtılan birkaç noktaya ulaşması gereken bir yüksek yoğunluklu egzersizdir) egzersizinin IL-17 düzeylerini değiştirmedini bulmuşlardır (129). Tofighee ve arkadaşlarının 40 profesyonel atlete kısa süreli anaerobik egzersiz yaptırdıktan sonra atletlerin IL-17 düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir (118). 3 günlük kesintili egzersiz programına tabii tutulan yarışmacılarda 1. gün yüzme 2. ve 3. gün koşu egzersizi yaptırılmıştır. Yarıştan önce ve sonra alınan kan örneklerinde IL-17 ve IL-23 düzeylerinde anlamlı bir farka bulunamamıştır (125). Multiple sklerozlu hastalarda yapılan bir çalışma ise egzersize başlamadan önceki IL-17 düzeyinin uygulanan ilerleyici dirençli egzersiz sonucunda azaldığını bulunmuştur (119).

IL-17 ve IL-23 sitokinlerinin gruplar arasında anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı gözlemlendi. Kademeli ağırlık yüklü egzersizin IL-17 ve 23 serum düzeyini artırmaması; egzersiz türüne, doku örneğini alınış zamanına, çalışılan doku türüne ve yöntem ile ilgili olabilir. Ayrıca, sağlıklı sıçanlarda kademeli olarak arttırılan yüksek yoğunluklu egzersizin canlıda sitokin yanıtına karşı adapte olabileceğini gösterdi.

5.2. Yüksek Yoğunluklu Egzersizin Endoplazmik Retikulum Stresi Üzerine Etkileri

ER stresine giren hücre kendini savunamazsa diğer dokular hasar görmesin diye ER stresi ile ilgili düzenlemeler yapar ya da bu düzenleme yetersiz kalırsa hücre ölümü gerçekleşir. Hücre ölümüne yol açan ER stresi pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (59, 60). Egzersizin ise ER stresi üzerindeki etkisi araştırıldığında yorucu egzersizin aşırı düzeyde kas hasarı ve hücre ölümüne yol açabileceği rapor edilmiştir (32).

Bu çalışmada normal yüzme egzersizi yapan sıçanların (NYE) çizgili kas dokusundaki GRP78 protein düzeyinin kontrol ve ağırlık yüklü yüzme egzersizi yapan gruba göre azaldığı görülürken ATF4 düzeyinin kontrol ve AYYE grubuna kıyasla arttığı görüldü. González ve arkadaşlarının (2000) yaptıkları çalışmada sıçanlarda 3 aylık koşu bandı egzersizinin kas dokusunda GRP78 sentezini arttırdığını bulmuşlardır (130). Pereira ve arkadaşlarının 2016 yılında farelerde yaptıkları çalışmada eksentirik egzersiz çalışmasında, 8 hafta boyunca 15 dk ile başlanıp 60 dakikaya tamamlayacak şekilde sürdürülen çalışmada deney sonunda eksentirik egzersiz yapan gruptaki farelerin kas dokusundaki GRP78 değerlerinin diğer gruplara göre arttığını görmüşlerdir (131). Kim ve arkadaşları tarafından 2014 yılında sıçanlara yüksek ve düşük şiddetli aerobik egzersiz yaptırılmıştır. Yüksek yoğunluklu egzersiz grubundakilerin iskelet kası dokusunda kontrol grubuna kıyasla GRP78 düzeylerinin anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. İskelet kası dokusunda yüksek yoğunluklu aerobik egzersiz yapan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, ATF4 düzeyinin kontrol grubuna kıyasla azaldığı görülürken, kontrol grubu ve düşük şiddetli egzersiz grubu arasında fark bulunmamıştır (132). De Moraes ve arkadaşları kısmi nefrektomi yaptıkları sıçanlarda 8 hafta 5 gün boyunca 20° eğim verilerek koşu bandı egzersizi yaptırılan sıçanlarda, UPR aktivasyonunu önlediğini görmüşlerdir. Kronik böbrek hasarı oluşturulan sıçanlarda orta yoğunluklu aerobik egzersizin, çizgili kastaki GRP78 düzeyini hem sedanter nefrektomi yapılmış sıçanlarda

hem de egzersiz yaptırılan nefrektomi yapılmış sıçanlarda daha çok arttırdığını görmüşlerdir (133)

Khadir ve arkadaşlarının obezlerde GRP78 düzeylerinin zayıf insanlara kıyasladıklarında daha yüksek düzeyde bulmuşlardır. Haftada 3 gün olacak şekilde 3 aylık orta şiddette aerobik egzersiz ile direnç egzersizinin kombine ederek yaptırıldıkları fiziksel egzersizle GRP78 düzeyinin sonucunda azaldığı görülmüştür (134). Luz ve arkadaşları obez sıçanlara vücut ağırlığının % 5'ine karşılık gelen bir ağırlık bağlanarak, 32 ° C'de suda günlük 1 saatlik yüzme egzersizi yaptırıldı. Eğitim 8 hafta boyunca haftada 5 gün gerçekleştirilmiştir. Çalışmada uygulanan egzersizin PERK ve eIF2a fosforilasyonunu azaltarak ER stresinde azalmaya yol açtığı rapor edilmiştir (4). Bu çalışmanın bizim çalışmadan farklı olmasından dolayı ER stres belirteçlerinde azalma görülmüş olabilir.

Yapılan bir diğer çalışmada, premenopozal dönemdeki kadınların katıldığı 8 haftalık orta şiddetli ve tempolu yürüme egzersizi sonucunda ER stresin azaldığını bulmuşlardır. ER stresindeki azalmanın ileri dönemde oluşabilecek metabolik hastalıkları önlemek için etkili olabileceği sonucuna varmışlardır (98). Egzersizle beraber ER stresinin azabileceği yönündeki bu çalışmaların aksine sonuçlar da bulunmuştur. Egzersizin enerji harcamasını arttırarak, ER stres yolunun aktivitesini önleyeceğini öngörerek yaptıkları çalışmada Kim ve arkadaşları tam tersine egzersizin, ER stres yollarını aktive ettiğine dair bulgular elde etmişlerdir (97).

Çalışmadan elde ettiğimiz veriler neticesinde normal aerobik egzersizin çizgili kas üzerinde fark yaratarak olumlu etkileri olabileceği fikrini verdi. NYE grubundaki sıçanların çizgili kas dokularında ATF4 düzeyinin artmasını daha önce yapılan bir çalışmada GRP78 protein düzeyinin eksikliğinde ATF4 ekspresyonunun artışına benzer bir etkiden kaynaklandığını söyleyebiliriz (86). Aynı zamanda ATF4'ün amino asit metabolizması, stres yanıtı ve protein salgılanmasında rol alan genleri indükleyerek hücre sağkalımını arttırırdığı daha önceden rapor edilmiştir (79). ATF4 düzeyinin normal yoğunluktaki yüzme egzersiziyle artması protein metabolizmasının düzenlenerek ER stres faktörlerinin önlenmesine yardımcı olduğunun göstergesi kabul edilebilir.

AYYE grubundaki sıçanların kalp dokularındaki ATF4 düzeyinin NYE grubuna kıyasla azaldığı bulundu. NYE ve AYYE gruplarındaki sıçanların kalp dokularındaki ATF4 düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak değişmedi. Literatürde yaptığımız taramada egzersizle kalp dokusunda ATF4 düzeyi ile ilgili çalışmaya rastlayamadığımız için karşılaştırma imkânı bulamadık. Ancak ER stresiyile kalp dokusu arasındaki ilişki ile

ilgili olarak başka çalışmalar bulundu. Sağlıklı sıçanlarda 13 hafta boyunca yaptırılan orta ve yüksek yoğunluklu egzersizin kalp fonksiyonlarını iyileştirmede eşit derecede etkili olduğunu ve yüksek yoğunluklu egzersizin kalpte gelişmiş kılcal damar yoğunluğuna sebep olmasından dolayı daha faydalı olduğunu söylemişlerdir (135). Ancak ATF4 proteinin, ER stresini önleyerek hücre sağ kalımını güçlendirdiği de bilinmektedir (79). Buradan yola çıkarak kalp dokusunda bulduğumuz sonuçlara göre ER stresi normal yoğunluklu egzersiz ile hücreyi koruyabileceği; ancak yüksek yoğunluklu egzersizde hücre hasarına yol açabileceği görüşüne varılabilir. Tip 2 diyabet modeli yapılmış sıçanlar 2 gruba ayrılarak 12 hafta boyunca düşük ve yüksek yoğunluklu egzersiz yaptırıldıktan sonra özellikle yüksek yoğunluklu egzersizin ER stres ile indüklenen GRP78 ve CHOP düzeyini azaltarak apoptozise yol açan diyabetik kardiyomyopatiyi iyileştirdiğini göstermişlerdir (136). Tip 2 diyabetli adolesanların bir kısmına düşük yoğunluklu bir kısma ise yüksek yoğunluklu egzersiz 12 hafta süreyle yaptırmışlardır. Çalışma bittiğinde iki grup, GRP78 düzeylerinde iyileşme gösterdi ancak gruplar arası etkinin boyutu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (137). Bozi ve arkadaşları sıçanların deneysel olarak kalp krizi geçirmelerini sağladıkları çalışmada GRP78 protein seviyesinin ve yanlış katlanmış proteinlerinin sayısının arttığını gözlemlemişlerdir. Kalp krizinden 4 hafta sonra sıçanlara 8 hafta aerobik egzersiz yaptırmışlardır. Deney sonucunda, aerobik egzersizin UPR protein seviyelerini ve yanlış katlanmış proteinlerden kaynaklanan GRP78 düzeyini azalttığını bulmuşlardır (138). Bir başka çalışmada 12 hafta boyunca bir gruptaki sıçanlara aerobik egzersiz diğer gruptaki sıçanlara dirençli egzersiz yaptırmışlardır. Çalışma sonunda kalp kasında ER stres belirteci olan GRP78 seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmadığını söylemişlerdir (139).

Normal yüzme egzersizin her iki türünde de IL-17 ve IL-23 düzeylerini değişmedi. Normal yüzme egzersizin çizgili kas dokusunda ATF4 protein miktarı artarken GRP78 düzeyinde azalma görüldü. Buna karşın ağırlık yüklü yüzme egzersizi yapan sıçanlarda çizgili kas dokusunda ATF4 ve GRP78 proteinlerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi. Normal yoğunlukta egzersizin ER stresinde baş etmede kullanılan protein yanıtını güçlendirerek, yanlış katlanmış proteinlerin birikmesini önler. Yoğun egzersizin bunları azalttığı böylece çizgili kas ve kalp kasında myopati gelişim için bir yolak olabileceği konusunda bize ipuçları verebilir. Ayrıca bazal ER stres proteinlerin seviyelerini geri kazandı ve egzersiz toleransını arttırdı. Bu nedenle, bulgularımız protein katlanmasını korumak ve ağır egzersizin koruyucu mekanizmada yetersiz kalabileceği söylenebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Daha önce yaptırılan zorlu egzersizin IL-17 düzeylerini arttığı rapor edilmiş olmasına rağmen, sağlıklı sıçanlara farklı yoğunlukta yaptırılan egzersizin sonucu olarak serum IL-17 ve IL-23 seviyelerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmedi. Bunun, uyguladığımız yüzme egzersizi, doku örneklerinin alınma sürelerinin diğer çalışmalardan farklı olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Ayrıca egzersizin yoğunluğunun ve süresinin kademeli olarak artırılmasının canlıların sitokin fizyolojisini adapte edebilmiş olabilir.
2. Yüksek yoğunluklu egzersizin kalp dokusunda normal egzersize kıyasla ER stresi belirteçlerinden ATF4 düzeyini azaltırken düzenli yapılan normal yüzme egzersizinin ER stresinde hücre ATF4 düzeyini arttırdığını gözlemlendi. Ağır yükü yüzme egzersizi ise ATF4 düzeyini azalttı. Bu da normal yüzme egzersizinin ER stresine karşı koruyuculuğu güçlendirdiğini; ancak ağır egzersizin bu yolağı tüketerek hücre hasarına karşı hücreyi duyarlı hale getirebildiği sonucuna ulaşıldı.
3. Normal yoğunluktaki aerobik egzersizin sıçanların çizgili kasındaki GRP78 düzeyinin yüksek yoğunluklu egzersiz grubuna kıyasla azaldığı bulundu. Böylece normal yoğunluktaki aerobik egzersizin çizgili kas dokusundaki GRP78 düzeyinin azalmasını sağlayarak ER stresini önleyebileceği sonucunda varıldı.
4. Normal yoğunlukta yapılan egzersizin yüksek yoğunluktaki egzersize kıyasla çizgili kas dokusunda ER stresine karşı koruyucu mekanizmaları güçlendirdiği görüldü. Buradaki farklılık ER stres yolaklarının aktifleştiren başka uyarı ağı olabileceği ve egzersiz çalışmalarının daha kapsamlı bir şekilde sürdürülüp bir sonraki aşamanın takip edilmesi sonucuna ulaştırdı.

KAYNAKÇA

1. Acosta-Alvear D, Karagoz GE, Frohlich F, Li H, Walther TC, Walter P. The unfolded protein response and endoplasmic reticulum protein targeting machineries converge on the stress sensor IRE1. *Elife*. 2018,7.
2. 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):219-24.
3. Rowbottom DG, Green KJ. Acute exercise effects on the immune system. *Med Sci Sports Exerc*. 2000,32(7 Suppl):S396-405.
4. da Luz G, Frederico MJ, da Silva S, Vitto MF, Cesconetto PA, de Pinho RA, et al. Endurance exercise training ameliorates insulin resistance and reticulum stress in adipose and hepatic tissue in obese rats. *Eur J Appl Physiol*. 2011,111(9):2015-23.
5. Febbraio MA. Exercise and inflammation. American Physiological Society; 2007.
6. Cnop M, Foufelle F, Velloso LA. Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes. *Trends Mol Med*. 2012,18(1):59-68.
7. Flamment M, Hajduch E, Ferre P, Foufelle F. New insights into ER stress-induced insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab*. 2012,23(8):381-90.
8. Rasheva VI, Domingos PM. Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Apoptosis*. 2009,14(8):996-1007.
9. Nishikawa S, Brodsky JL, Nakatsukasa K. Roles of molecular chaperones in endoplasmic reticulum (ER) quality control and ER-associated degradation (ERAD). *J Biochem*. 2005,137(5):551-5.
10. Lindholm D, Wootz H, Korhonen L. ER stress and neurodegenerative diseases. *Cell Death Differ*. 2006,13(3):385-92.
11. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007,8(7):519-29.
12. Kaufman RJ. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. *J Clin Invest*. 2002,110(10):1389-98.
13. Hunter CA. New IL-12-family members: IL-23 and IL-27, cytokines with divergent functions. *Nat Rev Immunol*. 2005,5(7):521-31.
14. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol*. 2009,27:485-517.

15. Biddle S. Exercise motivation across the life span. *European perspectives on exercise sport psychology*. 1995:3-25.
16. Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public health reports*. 1985,100(2):126.
17. Lee I-M, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT, et al. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *The lancet*. 2012,380(9838):219-29.
18. Scott C. Misconceptions about aerobic and anaerobic energy expenditure. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2005,2(2):32.
19. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. *Essentials of exercise physiology*: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
20. Foss ML, Keteyian SJ. *Fox's physiological basis for exercise and sport*: William C. Brown; 1998.
21. Åstrand P-O, Rodahl K, Dahl HA, Strømme SB. *Textbook of work physiology: physiological bases of exercise*: Human Kinetics; 2003.
22. Guyton H. *Textbook Of Medical Physiology* (Çeviren, Hayrunnisa Çavuşoğlu) Tıbbi Fizyoloji, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd1996.
23. Hale T. History of developments in sport and exercise physiology: AV Hill, maximal oxygen uptake, and oxygen debt. *Journal of sports sciences*. 2008,26(4):365-400.
24. Ardiç F. Egzersiz reçetesi. *Türk fiz tıp rehab derg*. 2014,60:1-8.
25. Karacabey K. Egzersiz tiplerinin dihidroepiandrosteron-kortizol hormonları ve metabolik parametreler üzerine etkileri. 2000.
26. Thompson WR, Gordon NF, Pescatello LS. *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription*: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
27. Yıldız SA. Aerobik ve anaerobik kapasitenin anlamı nedir. *Solunum dergisi*. 2012,14(1):1-8.
28. Pescatello LS, Riebe D, Thompson PD. *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription*. Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
29. Kujala UM. Evidence on the effects of exercise therapy in the treatment of chronic disease. *British journal of sports medicine*. 2009,43(8):550-5.

30. 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 review*. 2013,2(1):56.
31. Pedersen BK, Jensen-Ustad M, biology c. Exercise and cytokines. *Immunology cell biology*. 2000,78(5):532-5.
32. Tang Y, Li J, Gao C, Xu Y, Li Y, Yu X, et al. Hepatoprotective Effect of Quercetin on Endoplasmic Reticulum Stress and Inflammation after Intense Exercise in Mice through Phosphoinositide 3-Kinase and Nuclear Factor-Kappa B. *Oxid Med Cell Longev*. 2016,2016:8696587.
33. Campisi J, Leem TH, Fleshner M. Stress-induced extracellular Hsp72 is a functionally significant danger signal to the immune system. *Cell stress chaperones*. 2003,8(3):272.
34. Krüger K, Reichel T, Zeilinger C. Role of heat shock proteins 70/90 in exercise physiology and exercise immunology and their diagnostic potential in sports. *Journal of Applied Physiology*. 2019,126(4):916-27.
35. Cannon JG. Inflammatory cytokines in nonpathological states. *Physiology*. 2000,15(6):298-303.
36. Nieman DC. Exercise, infection, and immunity. *International journal of sports medicine*. 1994,15(S 3):S131-S41.
37. 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. *The Journal of Strength Conditioning Research*. 2010,24(3):846-51.
38. Miles MP, Kraemer WJ, Grove DS, Leach SK, Dohi K, Bush JA, et al. Effects of resistance training on resting immune parameters in women. *European journal of applied physiology*. 2002,87(6):506-8.
39. Schroder M, Kaufman RJ. The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem*. 2005,74:739-89.
40. Pottekat A, Becker S, Spencer KR, Yates JR, 3rd, Manning G, Itkin-Ansari P, et al. Insulin biosynthetic interaction network component, TMEM24, facilitates insulin reserve pool release. *Cell Rep*. 2013,4(5):921-30.
41. Oakes SA, Papa FR. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annu Rev Pathol*. 2015,10:173-94.

42. Brodsky JL, Skach WR. Protein folding and quality control in the endoplasmic reticulum: Recent lessons from yeast and mammalian cell systems. *Current opinion in cell biology*. 2011,23(4):464-75.
43. Hartl FU, Bracher A, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature*. 2011,475(7356):324-32.
44. Wang M, Kaufman RJ. Protein misfolding in the endoplasmic reticulum as a conduit to human disease. *Nature*. 2016,529(7586):326-35.
45. Ellis RJ, van der Vies SM. Molecular chaperones. *Annu Rev Biochem*. 1991,60:321-47.
46. Deocaris CC, Kaul SC, Wadhwa R. On the brotherhood of the mitochondrial chaperones mortalin and heat shock protein 60. *Cell Stress Chaperones*. 2006,11(2):116-28.
47. Macario AJ, Conway de Macario E. Sick chaperones, cellular stress, and disease. *N Engl J Med*. 2005,353(14):1489-501.
48. Whitley D, Goldberg SP, Jordan WD. Heat shock proteins: a review of the molecular chaperones. *Journal of Vascular Surgery*. 1999,29(4):748-51.
49. Buck TM, Wright CM, Brodsky JL. The activities and function of molecular chaperones in the endoplasmic reticulum. *Semin Cell Dev Biol*. 2007,18(6):751-61.
50. Calabrese V, Scapagnini G, Colombrita C, Ravagna A, Pennisi G, Giuffrida Stella AM, et al. Redox regulation of heat shock protein expression in aging and neurodegenerative disorders associated with oxidative stress: a nutritional approach. *Amino Acids*. 2003,25(3-4):437-44.
51. Li WH, Li YX, Ren J. High altitude hypoxia on brain ultrastructure of rats and Hsp70 expression changes. *Br J Neurosurg*. 2019,33(2):192-5.
52. Pockley AG. Heat shock proteins in health and disease: therapeutic targets or therapeutic agents? *Expert Rev Mol Med*. 2001,3(23):1-21.
53. Henle KJ, Jethmalani SM, Nagle WA. Stress proteins and glycoproteins (Review). *Int J Mol Med*. 1998,1(1):25-32.
54. Oda A, Miyata M, Kodama E, Satoh H, Sato Y, Nishimaki T, et al. Antibodies to 65Kd heat-shock protein were elevated in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 1994,13(2):261-4.
55. Kincaid MM, Cooper AA. ERADicate ER stress or die trying. *Antioxid Redox Signal*. 2007,9(12):2373-87.

56. Rutkowski DT, Kaufman RJ. A trip to the ER: coping with stress. *Trends Cell Biol.* 2004,14(1):20-8.
57. Scriven P, Brown NJ, Pockley AG, Wyld L. The unfolded protein response and cancer: a brighter future unfolding? *J Mol Med (Berl).* 2007,85(4):331-41.
58. Zhang K, Kaufman RJ. Signaling the unfolded protein response from the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem.* 2004,279(25):25935-8.
59. Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell.* 2010,140(6):900-17.
60. Roussel BD, Kruppa AJ, Miranda E, Crowther DC, Lomas DA, Marciniak SJ. Endoplasmic reticulum dysfunction in neurological disease. *The Lancet Neurology.* 2013,12(1):105-18.
61. Wang W-A, Groenendyk J, Michalak M. Endoplasmic reticulum stress associated responses in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta -Molecular Cell Research.* 2014,1843(10):2143-9.
62. Schröder M, Kaufman RJ. The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem.* 2005,74:739-89.
63. Wang S, Kaufman RJ. The impact of the unfolded protein response on human disease. *J cell Biol.* 2012,197(7):857-67.
64. Hetz C, Chevet E, Oakes SA. Proteostasis control by the unfolded protein response. *Nat Cell Biol.* 2015,17(7):829-38.
65. Okuda-Shimizu Y, Hendershot LM. Characterization of an ERAD pathway for nonglycosylated BiP substrates, which require Herp. *Molecular cell.* 2007,28(4):544-54.
66. Araki K, Nagata K. Functional in vitro analysis of the ERO1 protein and protein-disulfide isomerase pathway. *J Biol Chem.* 2011,286(37):32705-12.
67. Little E, Ramakrishnan M, Roy B, Gazit G, Lee AS. The glucose-regulated proteins (GRP78 and GRP94): functions, gene regulation, and applications. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 1994,4(1):1-18.
68. Misra UK, Deedwania R, Pizzo SV. Activation and cross-talk between Akt, NF-kappaB, and unfolded protein response signaling in 1-LN prostate cancer cells consequent to ligation of cell surface-associated GRP78. *J Biol Chem.* 2006,281(19):13694-707.
69. Sarvani C, Sireesh D, Ramkumar KM. Unraveling the role of ER stress inhibitors in the context of metabolic diseases. *Pharmacol Res.* 2017,119:412-21.

70. Michalak M, Groenendyk J, Szabo E, Gold LI, Opas M. Calreticulin, a multi-process calcium-buffering chaperone of the endoplasmic reticulum. *Biochem J*. 2009,417(3):651-66.
71. Osowski CM, Urano F. Measuring ER stress and the unfolded protein response using mammalian tissue culture system. *Methods Enzymol*. 2011,490:71-92.
72. Inagi R. Endoplasmic reticulum stress as a progression factor for kidney injury. *Curr Opin Pharmacol*. 2010,10(2):156-65.
73. Wang M, Wey S, Zhang Y, Ye R, Lee AS. Role of the unfolded protein response regulator GRP78/BiP in development, cancer, and neurological disorders. *Antioxid Redox Signal*. 2009,11(9):2307-16.
74. van der Kallen CJ, van Greevenbroek MM, Stehouwer CD, Schalkwijk CG. Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in the development of diabetes: is there a role for adipose tissue and liver? *Apoptosis*. 2009,14(12):1424-34.
75. Colgan SM, Hashimi AA, Austin RC. Endoplasmic reticulum stress and lipid dysregulation. *Expert Rev Mol Med*. 2011,13:e4.
76. Liu L, Zhang Y, Wang Y, Peng W, Zhang N, Ye Y. Progesterone inhibited endoplasmic reticulum stress associated apoptosis induced by interleukin-1beta via the GRP78/PERK/CHOP pathway in BeWo cells. *J Obstet Gynaecol Res*. 2018,44(3):463-73.
77. Verfaillie T, Rubio N, Garg AD, Bultynck G, Rizzuto R, Decuyper JP, et al. PERK is required at the ER-mitochondrial contact sites to convey apoptosis after ROS-based ER stress. *Cell Death Differ*. 2012,19(11):1880-91.
78. Mcmanus LM, Mitchell RN. Pathobiology of human disease: a dynamic encyclopedia of disease mechanisms: Elsevier; 2014.
79. Harding HP, Zhang Y, Zeng H, Novoa I, Lu PD, Calton M, et al. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Molecular cell*. 2003,11(3):619-33.
80. Barone MV, Crozat A, Tabae A, Philipson L, Ron D. CHOP (GADD153) and its oncogenic variant, TLS-CHOP, have opposing effects on the induction of G1/S arrest. *Genes Dev*. 1994,8(4):453-64.
81. Scheuner D, Song B, McEwen E, Liu C, Laybutt R, Gillespie P, et al. Translational control is required for the unfolded protein response and in vivo glucose homeostasis. *Mol Cell*. 2001,7(6):1165-76.

82. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep.* 2006,7(9):880-5.
83. Kim I, Xu W, Reed JC. Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities. *Nature reviews Drug discovery.* 2008,7(12):1013.
84. Xu C, Bailly-Maitre B, Reed JC. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *The Journal of clinical investigation.* 2005,115(10):2656-64.
85. Luo S, Baumeister P, Yang S, Abcouwer SF, Lee AS. Induction of GRP78/BiP by translational block Activation of the Grp78 promoter by ATF4 through an upstream ATF/CRE site independent of the endoplasmic reticulum stress elements. *Journal of Biological Chemistry.* 2003,278(39):37375-85.
86. Kim JH, Lee E, Friedline RH, Suk S, Jung DY, Dagdeviren S, et al. Endoplasmic reticulum chaperone GRP78 regulates macrophage function and insulin resistance in diet-induced obesity. *The FASEB Journal.* 2018,32(4):2292-304.
87. Jiang HY, Wek RC. Phosphorylation of the alpha-subunit of the eukaryotic initiation factor-2 (eIF2alpha) reduces protein synthesis and enhances apoptosis in response to proteasome inhibition. *J Biol Chem.* 2005,280(14):14189-202.
88. Kaufman RJ, Scheuner D, Schroder M, Shen X, Lee K, Liu CY, et al. The unfolded protein response in nutrient sensing and differentiation. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002,3(6):411-21.
89. Liu CY, Schroder M, Kaufman RJ. Ligand-independent dimerization activates the stress response kinases IRE1 and PERK in the lumen of the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem.* 2000,275(32):24881-5.
90. Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, Okada T, Mori K. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell.* 2001,107(7):881-91.
91. Haze K, Yoshida H, Yanagi H, Yura T, Mori K. Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *Mol Biol Cell.* 1999,10(11):3787-99.
92. Therauf DJ, Morrison L, Glembotski CC. Opposing roles for ATF6alpha and ATF6beta in endoplasmic reticulum stress response gene induction. *J Biol Chem.* 2004,279(20):21078-84.
93. Shen X, Zhang K, Kaufman RJ. The unfolded protein response--a stress signaling pathway of the endoplasmic reticulum. *J Chem Neuroanat.* 2004,28(1-2):79-92.

94. Lin T, Lee JE, Kang JW, Shin HY, Lee JB, Jin DI. Endoplasmic Reticulum (ER) Stress and Unfolded Protein Response (UPR) in Mammalian Oocyte Maturation and Preimplantation Embryo Development. *Int J Mol Sci.* 2019,20(2).
95. Haze K, Yoshida H, Yanagi H, Yura T, Mori K. Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *Molecular biology of the cell.* 1999,10(11):3787-99.
96. Schonthal AH. Targeting endoplasmic reticulum stress for cancer therapy. *Frontiers in bioscience.* 2012,4:412-31.
97. Kim Y, Park M, Boghossian S, York DA. Three weeks voluntary running wheel exercise increases endoplasmic reticulum stress in the brain of mice. *Brain Res.* 2010,1317:13-23.
98. Doğru Y, Büyükyazı G, Ulman C, Taneli F, Tıkız H, Göral M, et al. Effects of two different eight-week walking programs on insulin resistance and ER stress-related markers in pre-menopausal women/Premenopozal kadınlarda 8 haftalık farklı şiddetteki yürüyüş antrenmanlarının insülin direnci ve ER stresine ilişkili markerler üzerine etkileri. *Turkish Journal of Biochemistry.* 2016,41(5):322-30.
99. Goebel MU, Mills PJ, Irwin MR, Ziegler MG. Interleukin-6 and tumor necrosis factor- α production after acute psychological stress, exercise, and infused isoproterenol: differential effects and pathways. *Psychosomatic Medicine.* 2000,62(4):591-8.
100. Noronha I, Niemir Z, Stein H, Waldherr R. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 1995,10(6):775-86.
101. Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *New England Journal of Medicine.* 1993,328(2):106-13.
102. Rouvier E, Luciani M, Mattei M, Denizot F, Golstein P. CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene. *The Journal of Immunology.* 1993,150(12):5445-56.
103. Nargis T, Chakrabarti P. Significance of circulatory DPP4 activity in metabolic diseases. *IUBMB life.* 2018,70(2):112-9.
104. Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, Nambu A, Ishigame H, Kakuta S, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *The Journal of Immunology.* 2006,177(1):566-73.
105. Turgay TM, Demir CY. Sistemik sklerozlu hastalarda interlökin-17 ve interlökin-23 seviyeleri ile hastalık aktivitesi, sistemik organ tutulumu ilişkisi: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı.

106. Kono T, Korenaga H, Sakai M. Genomics of fish IL-17 ligand and receptors: a review. *Fish shellfish immunology*. 2011,31(5):635-43.
107. Miossec P, Kolls JK. Targeting IL-17 and T H 17 cells in chronic inflammation. *Nature reviews Drug discovery*. 2012,11(10):763.
108. Miossec P, Kolls JK. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation. *Nat Rev Drug Discov*. 2012,11(10):763-76.
109. Kastelein RA, Hunter CA, Cua DJ. Discovery and biology of IL-23 and IL-27: related but functionally distinct regulators of inflammation. *Annu Rev Immunol*. 2007,25:221-42.
110. Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *Journal of Experimental Medicine*. 2005,201(2):233-40.
111. Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans JC, Xu Y, Hunte B, et al. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity*. 2000,13(5):715-25.
112. Aggarwal S, Ghilardi N, Xie M-H, de Sauvage FJ, Gurney AL. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. *Journal of Biological Chemistry*. 2003,278(3):1910-4.
113. Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, Murphy CA, Joyce B, Seymour B, et al. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature*. 2003,421(6924):744.
114. Liu HP, Cao AT, Feng T, Li Q, Zhang W, Yao S, et al. TGF- β converts Th1 cells into Th17 cells through stimulation of Runx1 expression. *European journal of immunology*. 2015,45(4):1010-8.
115. Goodall JC, Wu C, Zhang Y, McNeill L, Ellis L, Saudek V, et al. Endoplasmic reticulum stress-induced transcription factor, CHOP, is crucial for dendritic cell IL-23 expression. *Proceedings of the national academy of Sciences*. 2010,107(41):17698-703.
116. McKenzie BS, Kastelein RA, Cua DJ. Understanding the IL-23-IL-17 immune pathway. *Trends Immunol*. 2006,27(1):17-23.
117. Sugama K, Suzuki K, Yoshitani K, Shiraishi K, Kometani T. IL-17, neutrophil activation and muscle damage following endurance exercise. *Exercise immunology review*. 2012,18.

118. Tofighee A, Khazaei HA, Jalili A. Comparison of effect of one course of intense exercise (Wingate test) on serum levels of interleukin-17 in different groups of athletes. *Asian journal of sports medicine*. 2014,5(4).
119. Kjølhed T, Dalgas U, Gade AB, Bjerre M, Stenager E, Petersen T, et al. Acute and chronic cytokine responses to resistance exercise and training in people with multiple sclerosis. *Scandinavian journal of medicine science in sports*. 2016,26(7):824-34.
120. Speretta GFF, Rosante MC, Duarte FO, Leite RD, Lino ADdS, Andre RA, et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. *Clinics*. 2012,67(12):1469-77.
121. Gobatto CA, De Mello MAR, Sibuya CY, De Azevedo JRM, Dos Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comparative Biochemistry Physiology Part A: Molecular Integrative Physiology*. 2001,130(1):21-7.
122. Chen Y-C, Chen S-D, Miao L, Liu Z-G, Li W, Zhao Z-X, et al. Serum levels of interleukin (IL)-18, IL-23 and IL-17 in Chinese patients with multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology*. 2012,243(1-2):56-60.
123. SPSS MOD. SPSS (Statistical Package for the Social Sciens). 2015.
124. Freidenreich DJ, Volek JS. Immune responses to resistance exercise. *Exercise immunology review*. 2012,18.
125. Smith KA, Kisiolek JN, Willingham BD, Morrissey MC, Leyh SM, Saracino PG, et al. Ultra-endurance triathlon performance and markers of whole-body and gut-specific inflammation. *European Journal of Applied Physiology*. 2018:1-9.
126. Suzuki K, Yamada M, Kurakake S, Okamura N, Yamaya K, Liu Q, et al. Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans. *European journal of applied physiology*. 2000,81(4):281-7.
127. Allen J, Sun Y, Woods JA. Exercise and the regulation of inflammatory responses. *Progress in molecular biology and translational science*. 135: Elsevier; 2015. p. 337-54.
128. Aquino-Junior JCJ, MacKenzie B, Almeida-Oliveira AR, Martins AC, Oliveira-Junior MC, Britto AA, et al. Aerobic exercise inhibits obesity-induced respiratory phenotype. *Cytokine*. 2018,104:46-52.

129. Araujo NC, Neto AMM, Fujimori M, Bortolini MS, Justino AB, Honorio-França AC, et al. Immune and Hormonal Response to High-intensity Exercise During Orienteering. *International journal of sports medicine*. 2019,40(12):768-73.
130. González B, Hernando R, Manso R. Stress proteins of 70 kDa in chronically exercised skeletal muscle. *Pflügers Archiv*. 2000,440(1):42-9.
131. Pereira BC, da Rocha AL, Pinto AP, Pauli JR, de Souza CT, Cintra DE, et al. Excessive eccentric exercise-induced overtraining model leads to endoplasmic reticulum stress in mice skeletal muscles. *Life Sci*. 2016,145:144-51.
132. Kim K, Kim Y-H, Lee S-H, Jeon M-J, Park S-Y, Doh K-O. Effect of exercise intensity on unfolded protein response in skeletal muscle of rat. *The Korean Journal of Physiology Pharmacology*. 2014,18(3):211-6.
133. De Moraes WMAM, de Souza PRM, da Paixao NA, de Sousa LGO, Ribeiro DA, Marshall AG, et al. Aerobic exercise training rescues protein quality control disruption on white skeletal muscle induced by chronic kidney disease in rats. *Journal of cellular molecular medicine*. 2018,22(3):1452-63.
134. Khadir A, Kavalakatt S, Abubaker J, Cherian P, Madhu D, Al-Khairi I, et al. Physical exercise alleviates ER stress in obese humans through reduction in the expression and release of GRP78 chaperone. *Metabolism*. 2016,65(9):1409-20.
135. Verboven M, Cuypers A, Deluyker D, Lambrechts I, Eijnde BO, Hansen D, et al. High intensity training improves cardiac function in healthy rats. 2019,9(1):5612.
136. Chengji W, Xianjin F. Exercise protects against diabetic cardiomyopathy by the inhibition of the endoplasmic reticulum stress pathway in rats. *Journal of cellular physiology*. 2019,234(2):1682-8.
137. Lee SS, Yoo JH, So YS. Effect of the low-versus high-intensity exercise training on endoplasmic reticulum stress and GLP-1 in adolescents with type 2 diabetes mellitus. *Journal of physical therapy science*. 2015,27(10):3063-8.
138. Bozi LH, Jannig PR, Rolim N, Voltarelli VA, Dourado PM, Wisloff U, et al. Aerobic exercise training rescues cardiac protein quality control and blunts endoplasmic reticulum stress in heart failure rats. *J Cell Mol Med*. 2016,20(11):2208-12.
139. Kim K, Ahn N, Jung S. Comparison of endoplasmic reticulum stress and mitochondrial biogenesis responses after 12 weeks of treadmill running and ladder climbing exercises in the cardiac muscle of middle-aged obese rats. *Brazilian Journal of Medical Biological Research*. 2018,51(10).

EKLER

EK 1. Özgeçmiş

Ad

:Kübranur

Soyad

:KORKMAZ

Eğitim Durumu

Lisans

:İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Fakültesi Fizyoterapi ve Rehabilitasyon
Bölümü

Y. Lisans

:İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji A.D.

Y.Lisans Tezi

:Farklı Şiddetteki Aerobik Egzersizin
Endoplazmik Retikulum Stresine
Ve IL-23 Düzeyine Etkisi

Y.L Tez Danışmanı

:Prof. Dr. Halil DÜZOVA

EK 2. Etik Kurulu



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 25.03.2019
Toplantı Yeri : Tıp. Fak. Toplantı Salonu-Malatya
Araştırma Protokol no.su : 2019/A-09
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyu : *Sprague Dawley / Wistar Albino*
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 30 adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı: 8 haftalık

Prof. Dr. Halil DÜZOVA'nın yürütücüsü olduğu; "Farklı Şiddetteki Aerobik Egzersizin Endoplazmik Retikulum Stresine ve IL-23 Düzeyine Etkisi" isimli 2019/A-09 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmesi şartıyla çalışmanın yapılmasının uygun olduğuna; oy birliği ile karar verildi.

 Prof. Dr. Davut ÖZBAĞ Başkan	 Prof. Dr. Yayıfın GÜLDÜR Başkan Yardımcısı	 Prof. Dr. Metin ATAMBAY Üye
 Prof. Dr. M. Çağatay TAŞKAPAN Üye	 Prof. Dr. Başak KAYHAN Üye KATILMADI	 Doç. Dr. Şengül YÜKSEL Üye
 Vet.Hek. Engin KORKMAZ Üye	 Akın ÖZ Sivil Üye KATILMADI	 Av. M. Umut YALÇIN Sivil Üye KATILMADI