

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Hareket ve Antrenman Bilimleri Anabilim Dalı**

**ANTRENMANIN SIÇANLARDA YÜKLENME ve
TOPARLANMA DÖNEMİNDEKİ IL-6 DÜZEYİNE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Mehmet KILIÇ

Yüksek Lisans Tezi

Antalya, 2009

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Hareket ve Antrenman Bilimleri Anabilim Dalı

**ANTRENMANIN SIÇANLARDA YÜKLENME ve
TOPARLANMA DÖNEMİNDEKİ IL-6 DÜZEYİNE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Mehmet KILIÇ

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Y. Gül ÖZKAYA

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2008020122001)

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

Antalya, 2009

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma, jürimiz tarafından, Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu Hareket ve Antrenman Bilimleri Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 17.06.2009

Tez Danışmanı : Doç.Dr.Y.Gül ÖZKAYA
Akdeniz Üniversitesi
Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu

Üye : Prof.Dr.Ümit Kemal ŞENTÜRK
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç.Dr.Filiz GÜNDÜZ
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye : Yrd.Doç.Dr.K.Alparslan ERMAN
Akdeniz Üniversitesi
Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu

Üye : Yrd.Doç.Dr.Alpay GÜVENÇ
Akdeniz Üniversitesi
Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunun / / tarih ve / sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof.Dr.İsmail ÜSTÜNEL

Enstitü Müdürü

ANTRENMANIN SIÇANLARDA YÜKLENME ve TOPARLANMA DÖNEMİNDEKİ IL-6 DÜZEYİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Bu çalışmada, iki farklı yoğunlukta uygulanan egzersiz antrenmanının, akut tüketici egzersizden sonraki toparlanma döneminde beyin IL 6 düzeyleri üzerine olan etkisi değerlendirilmiştir. Bu amaçla 90 adet erkek Wistar sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar; her bir grupta 30 hayvan olmak üzere sedanter kontrol grubu (K) , düşük yoğunlukta antrene olan grup (DYA) ve yüksek yoğunlukta antrene olan grup (YYA) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. DYA grubu hayvanlara 1 saat/hafta, 5 gün/hafta olacak şekilde, 8 hafta boyunca yüzme antrenmanı uygulanmıştır. YYA grubuna uygulanan antrenman programında ise 1 saat/gün olarak başlayarak, haftada 30 dk artışla, 4. hafta 2,5 saat/gün e ulaşılmış, 8. haftaya kadar 2,5 saat /gün 5 gün/hafta olarak devam edilmiştir. Bu sürenin sonunda tüm hayvanlara akut tüketici egzersiz uygulanmış ve dayanıklılık performansını belirlemek üzere tükenme süreleri kaydedilmiştir. Akut tüketici egzersiz uygulandıktan sonra her bir gruptaki hayvanlar 3 ayrı gruba ayrılmış (n=10), gruplardan biri akut tüketici egzersizden hemen, diğeri 24, ve sonuncu grup 48 saat sonra dokuları çıkarılmak üzere deneye son verilmiştir. Alınan dokulardan kas sitrat sentaz aktivitesi, plazma ve serebral korteks IL 6 düzeyi ve BOS IL 6 düzeyi tayin edilmiştir. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmada tek yönlü varyans analizi kullanılmış, sonuçlar \pm SS olarak sunulmuş, $p<0.05$ 'in altındaki değerler istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir. Gruplar arası tükenme süreleri ve kas sitrat sentaz aktiviteleri, $K<DYA<YYA$ şeklinde saptanmıştır. Plazma IL 6 düzeyleri bakımından gruplar, ve 3 farklı zamanda elde edilen ölçümler arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Beyin dokusunda 3 grup ve 3 farklı zamanda alınan ölçümler arasında IL 6 artışı saptanmamıştır. BOS IL 6 düzeyinin, sadece YYA grubunun 24 saatlik ölçümünde yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Buna göre, akut tüketici egzersizden sonra BOS IL 6 düzeylerinin, antrenman yoğunluğu ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Antrenman yoğunluğu, IL 6, sıçan

THE EFFECT OF EXERCISE TRAINING ON IL 6 LEVELS DURING EXHAUSTION AND RECOVERY PERIOD IN RATS

ABSTRACT

The purpose of this study is to investigate the possible role of moderate and strenuous swimming training on plasma, brain and cerebrospinal fluid IL 6 levels during recovery from exhaustive exercise in rats. Ninety male Wistar rats were divided into three groups: Sedentary control (C), moderate trained (MT) and strenuous trained (ST) groups. MT rats were applied swimming exercise one hour/day and 5 days/week for 8 weeks. ST group was trained by swimming with a progressive exercise programme. Animals in ST group began swimming at 1 h/day, swimming duration was progressively increased 30 min/wk, reached 2.5 h/day by week 4 and stayed constant for additional 4 weeks. Afterwards, all animals were applied acute exhaustive swimming exercise and measured endurance capacity. After acute bouts of exhaustive exercise, all animals were divided into 3 groups, in 10 animals each, and decapitated immediately, 24 and 48 hours after exhaustion to obtain tissue samples. Muscle citrate synthase activity, plasma and cerebrospinal fluid IL 6 and cerebral cortex IL 6 levels were determined. Data analyzed using one way ANOVA and expressed as \pm SD, statistical significance was considered at the $p < 0.05$ level. The endurance capacity and skeletal muscle citrate synthase activity of the three groups were found higher in MT and ST groups compared with the C group. Although plasma and brain IL 6 levels were found unaltered among all groups and different time measurements, cerebrospinal IL 6 concentration was found to be increased 24 hours after exhaustive exercise session of ST group. We concluded that exercise training intensity is an important factor determining cerebrospinal IL 6 concentration after exhaustive exercise.

Keywords: Training intensity, IL 6, exercise, rats

TEŞEKKÜRLER

Yazar, bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı, aşağıda geçen kişi ve kuruluşlara içtenlikle teşekkür eder.

Sayın Erol Nizamoğlu tez çalışmasının gerçekleşmesi için gerekli teknik desteği sağlamıştır.

Sayın İbrahim Çalışkan tez çalışmasının gerçekleşmesi için gerekli teknik desteği sağlamıştır.

Sayın Duygu Yaşar Şirin western-blot yönteminin gerçekleşmesinde katkı sağlamıştır.

Sayın Selma Cırrık sitrat sentaz yönteminin gerçekleşmesinde katkı sağlamıştır.

Sayın Özkan Ulusoy eliza testinin gerçekleşmesinde katkı sağlamıştır.

Sayın Deniz Şirin tez çalışmasının istatistiksel olarak planlanmasını yapmıştır.

Sayın Ayla Ağduk Kılıç tez çalışmasının gerçekleşmesi için gerekli manevi desteği sağlamıştır.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Egzersiz Üzerine Bilimsel Araştırmalar	3
2.2. Egzersiz ve İmmün Sistem	3
2.3. İnterlökin ve İnterlökin-6	4
2.4. Egzersiz ve İnterlökin-6	5
2.5. IL-6 Antrenman Adaptasyonu	8
2.6. İnterlökin Ve Beyin	9
2.7. Egzersiz ve Sitrat Sentaz Aktivitesi	10
2.8. Egzersiz ve Daynıklılık	10
GEREÇ VE YÖNTEM	12
3.1. Sitrat Sentaz Aktivitesinin Ölçümü	13
3.1.1. Kullanılan Solüsyonlar	13
3.1.2. Doku Örneklerinin Hazırlanması	13
3.1.3. İşlemler	13
3.2. Western-Blot Yöntemi ile IL-6 Proteinin Ekspresyonu Tayini	13
3.2.1. Beyin Korteks Örneğinin Western-Blot Yöntemi İçin Hazırlanışı	13
3.2.1.1. Kullanılan Solüsyonlar	13
3.2.1.2. İşlemler	15
3.2.2. DYA ve YYA Materyalinde Protein Miktar Tayini ve Standart Grafik Hazırlanışı	15

3.2.3.	Protein Elektroforezi	15
3.2.3.1.	Kullanılan Solüsyonlar	15
3.2.3.2.	Jellerin Hazırlanışı	16
3.2.4.	Örneklerin Yükleme İçin Hazırlanışı	17
3.2.4.1.	İşlemler	18
3.2.5.	Membrana Transfer (Islak Transfer)	18
3.2.5.1.	Kullanılan Solüsyonlar	18
3.2.5.2.	İşlemler	19
3.2.6.	Membranların Blotlanması (Antikorlarla İşaretleme)	19
3.2.6.1.	Kullanılan Solüsyonlar	19
3.2.6.2.	İşlemler	20
3.3.	BOS IL-6 Tayini	20
3.4.	İstatistik	21
BULGULAR		22
4.1.	Tükenme Sürelerine Ait Bulgular	22
4.2.	ELISA Testi ile Elde Edilen IL-6 Aktivitesinin BOS ve Plazma Bulguları	23
4.3.	Sitrat Sentaz Aktivitesine Bağlı Bulgular	25
4.4.	Western-Blot Yöntemi ile IL-6 Proteinin Ekspresyonuna Ait Bulgular	27
TARTIŞMA ve SONUÇ		29
KAYNAKLAR		34
ÖZGEÇMİŞ		45

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	:	Santigrat derece
µg	:	Mikrogram
M	:	Molar
Mg	:	Miligram
ml	:	Mililitre
mM	:	Milimolar
µl	:	Mikrolitre
ng	:	Nanogram
pg	:	Pikogram
Km	:	Kilometre
kDa	:	Kilodalton
dk	:	Dakika
L	:	Litre
NaF	:	Sodyumflorid
Hepes	:	N-(2-hidroksietil)piperazin-N-(2-etan-sulfonikasıit))
NaCl	:	Sodyumklorür
MgCl₂	:	Magnezyumklorid
EGTA	:	Etilenbis(oksietilennitrilo)tetraasetikasit
GAPDH:		Gliseraldehitfosfatdehidrogenaz
HRP	:	Horseradishperoxydase
PMSF	:	Fenilmetansulfonilflorid
APS	:	Amonyumpersulfat
HCl	:	Hidrojen klorür
NaOH	:	Sodyum Hidroksit
PBS	:	Polioksietilen-sorbitanmonolaurat
CRP	:	C-reaktif protein

TNF	:	Tumor necrosis factor
NK	:	Doğal katil hücreler
K	:	Sedanter kontrol grubu
DYA	:	Düşük yoğunlukta antrene grup
YYA	:	Yüksek yoğunlukta antrene grup
HPA	:	Hypothalamic-pituitary-adrenal
HSPs	:	Heat shock proteinlerini
BOS	:	Beyin omurilik sıvısı
IL	:	İnterlökin
DTNB	:	5,5'-dithio-bis 2-nitrobenzoic acid
CS	:	Sitrat sentetaz
HSL	:	Hormon-duyarlı lipaz
HKII	:	Hekzokinaz II
HAD	:	3-hidroksiasil-CoA hidrogenaz
PGC-1	:	Peroksizom proliferator-activated receptor-coactivator-1
ECL	:	Thermo Scientific-Super Signal West Pico Chemiluminescent Substrate
STAT	:	Signal transducers and activators of transcription
MAPK	:	Mitogen activated protein kinases
ROS	:	Reaktif oksijen ürünleri
CK	:	Kreatin kinaz
LPS	:	Lipopolisakkarid
DOMS	:	Delayed onset muscle soreness (gecikmiş kas ağrısından)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa No
4.1.	Gruplara Ait Tükenme Süreleri (dk)	23
4.2.	Akut Tüketici Egzersizden Sonraki 0, 24 ve 48. Saatlerde Elde Edilen Plazma IL 6 Konsantrasyonları (pg/ml)	24
4.3.	Akut Tüketici Egzersizden Sonraki 0, 24 ve 48. Saatlerde Elde Edilen BOS IL 6 Konsantrasyonları (pg/ml)	25
4.4.	Soleus kasından elde edilen sitrat sentaz aktivitesi değerleri (g yaş kas/dk)	26
4.5.	Western-blot yöntemi ile gaPDH membran görüntüsü	27
4.6.	Western-blot yöntemi ile aktin IL6 membran görüntüsü	27
4.7.	Western-blot yöntemi ile IL6 membran görüntüsü	28

TABLULAR DİZİNİ

Tablo		Sayfa No
4.1.	Gruplara Ait Tükenme Süreleri (dk)	22
4.2.	Akut Tüketici Egzersizden Sonraki 0, 24 ve 48. Saatlerde Elde Edilen Plazma IL 6 Konsantrasyonları (pg/ml)	24
4.3.	Akut Tüketici Egzersizden Sonraki 0, 24 ve 48. Saatlerde Elde Edilen BOS IL 6 Konsantrasyonları (pg/ml)	25
4.4.	Soleus kasından elde edilen sitrat sentaz aktivitesi değerleri (g yaş kas/dk)	26

GİRİŞ

Egzersizden sonraki toparlanma döneminde performansın geri kazanılması, sporcular için önem taşımaktadır. Egzersiz sonrası dönemde damar çeperindeki lökositlerin dolaşıma katılmasının yanı sıra, doğal katil hücreler (NK hücreleri) ve T lenfositleri de dolaşımda artmaktadır Pedersen and Hoffman-Goetz(1). Öte yandan egzersiz, sadece lökositlerin değil, kas hücrelerinin de doğal bir uyarandır ve egzersizden sonra kas hücresinden dolaşıma salınan çeşitli immün modülatörler bildirilmiştir. Bunlardan biri, T lenfositleri, fibroblastlar ve makrofajlarca da sekrete edilen IL 6'dır Yamada et al.(2) Suzuki et al.(3), Pedersen and Febbraio(4), Pedersen et al.(5), Steensberg et al.(6) Tomiya et al.(7). IL 6'nın, iskelet kasının kasılması ve kas içi glikojen düzeylerinin azalmasıyla birlikte kasta dolaşıma verildiği ve karaciğerden glukoz çıkışını arttırarak, bir metabolik sensör olarak işlev gördüğü gösterilmiştir Fischer(8), Helge et al.(9).

Egzersiz sırasında artan IL 6 salınımının, uygulanan egzersizin süresiyle ilişkili olduğu ve maraton gibi uzun süren egzersizde yaklaşık 100 kata kadar ulaştığı bildirilmiştir Fischer(8). Antrene (antrenman yapmış) bireylerde plazma IL 6 düzeyi daha geç pik yapmakta, ancak oluşan pik daha yüksek düzeyde ortaya çıkmaktadır Fischer et al.(10).

Öte yandan literatürde, egzersizden sonra artan plazma IL 6 düzeyi ile antrenman düzeyi arasındaki ilişkiyi ortaya koyan çalışmalar görece azdır. IL 6 eksikliği olan farelerde dayanıklılık performansının ve enerji kullanımının azaldığı ortaya konmuştur Faldt et al.(11). Robson-Ansley et al.(12,13), düşük doz rIL 6 verilen sporcularda, 10 km koşu performansının bozulduğunu göstermiştir.

Bazal koşullarda düşük düzeyde IL 6, beyin dokusunda bulunan glia hücreleri ve daha az oranda nöronlar tarafından da salınmakta ve beyin parankimine verilmektedir Carlson et al.(14). Hipoksi, enfeksiyon, inme gibi patolojik durumlar ve egzersiz Van Wagoner and Benveniste(15), Nybo et al.(16), beyin dokusundan salınan IL 6 düzeylerinde önemli ölçüde artışa yol açmaktadır.

Merkezi sinir sistemi tarafından üretilen IL 6'nın nöroprotektif etkisinin yanı sıra Carlson et al.(14), Winter et al.(17) iştah, enerji kullanımı ve vücut bileşiminin düzenlenmesi üzerine olan etkileri gösterilmiştir. Wallenius et al.(18,19), IL 6 eksikliği olan farelerde obezite görüldüğünü, buna karşılık bu hayvanlara ventrikül içi verilen IL 6'nın oksijen tüketimini arttırarak, enerji kullanımında artışa yol açtığını ortaya koymuştur. Stenlof et al.(20), BOS (beyin omurilik sıvısı) IL 6 düzeyleri ile obezite arasında negatif korelasyon olduğunu ortaya koymuştur. Fakat egzersizle uyarılan beyin IL 6 salınımının fizyolojik etkileri henüz aydınlatılmış değildir.

Gleeson M et al.(21), egzersizden sonra kasta artan IL 6'nın beyin tarafından

alındığını ve bir negatif feed-back faktörü olarak santral yorgunluk gelişimine aracılık ettiği hipotezini geliştirmiştir. Bu hipotezi doğrulayacak deneysel veriler henüz yeterli olmamakla birlikte, egzersizden sonra artan IL 6 düzeylerinin metabolik etkilerini ortaya koyan çalışmaların sayısı giderek artmaktadır Keller et al.(22), Wang et al.(23), Goebel et al.(24).

Bu çalışmanın amacı egzersiz antrenmanının, sıçanlarda akut tüketici egzersizden sonraki toparlanma döneminde plazma, BOS ve beyin dokusundaki düzeylerini ortaya koymaktır.

GENEL BİLGİLER

2.1. Egzersiz Üzerine Bilimsel Araştırmalar

Geçtiğimiz 30 yıl boyunca, egzersizin akut ve kronik etkileri gibi “egzersiz bilimi” ile ilgili araştırmalar, çeşitli aşamalar boyunca sürekli olarak ilerlemiştir. 1960’ların sonları ve 70’lerin başında laboratuvar olanakları belirli bir seviyede olduğu için, egzersiz modelleri açısından araştırmaların odak noktası temel olarak organ düzeyinde bulunmaktaydı. Ancak, akut ve kronik egzersiz sırasında daha küçük hayvanları (kemirgenleri) etkin olarak inceleme olanağı ve kas biyopsini incelemek üzere geliştirilen tekniklerin ortaya çıkmasından beri, çalışmaların odak noktası hücre ve hücre altı düzeyine inebilmiştir. Bu ilerleme, geliştirilen çeşitli biyokimyasal teknikler, radyoizotop ve moleküler görüntüleme teknikleriyle organ ve hücre fonksiyonlarına dair araştırma ve çalışmaları desteklemiştir. 1970’lerin başlarından 80’lerin ortalarını kapsayan bu süreç, literatüre “egzersiz biyokimyası” dönemi olarak geçmiştir. Daha sonra, 80’lerin ortalarından günümüze dek, egzersiz araştırmaları şimdi adlandırıldığı şekilde “moleküler egzersiz araştırmaları” olarak dönüşüme uğramıştır Blair(25). Bu dönüşüm sonrasında, egzersiz bilimine katkıda bulunan çeşitli araştırma tekniklerinden bazıları gen-klonlama ve sekans analizi teknolojisi, antikör ve oligonükleotidlerin moleküler düzeyde incelenebilmesi, PCR teknolojisinin kullanımı ile transgenik ve knock-out hayvan modelleri gibi araçları içermektedir Baldwin(26).

2.2. Egzersiz ve İmmün Sistem

Geçtiğimiz onbeş yılda çok sayıda araştırmacının gösterdiği üzere egzersiz, immün sistem üzerinde dikkate değer ölçüde fizyolojik değişime sebep olmaktadır. Egzersiz, stres ve immün sistem arasındaki etkileşimlerin belirlenmesi, temel ve klinik fizyoloji arasında bağlantı kurulması ve mevcut stresin immüno-fizyolojik fonksiyonlardaki rolünün incelenmesinde eşsiz olanaklar sağlamaktadır. Egzersizin, fiziksel stresin ölçülebilir bir modelini ifade ettiği öne sürülmüştür Hoffman-Goetz and Pedersen(27) . Ameliyat, travma, yanıklar ve septisemi gibi birçok klinik fiziksel stres sebebi egzersizdekiyle benzerlik taşıyan hormonal ve immüno-lojik tepkilere neden olmaktadır. Nöral-endokrin-immün etkileşimler birçok fizyolojik model kullanılarak araştırılsa da, egzersiz modeli bu bağlantıların fiziksel stres paradigması kullanarak oluşturulmasında daha fazla fırsat sunmaktadır Pedersen and Hoffman-Goetz(28).

Akut yoğun egzersizin, yol açtığı değişiklikler, immün işlemler ve baskılanma, ya da dolaşan lökosit sayısında artış olarak görülebilmektedir Mitchell et al.(28). Bu durum, bazı atletlerde, uzun süren, yoğun bir yarışma sonrası enfeksiyon eğiliminde artış şeklinde kendini gösterebilmektedir.

Egzersiz sırasında ortaya çıkan immüno-lojik değişikliklerden belki de en belirgin olanı, akut, uzun süreli egzersiz sonrası gözlenen uzamış nötrofitozdur. Bu durum, egzersiz sırasında marjinal havuzda bulunan nötrofillerin dolaşıma katılması ve damar dışında bulunan nötrofillerin damar içine migrasyonu sonucu ortaya

çıkılmaktadır Pederson and Hoffman-Goetz(1), McCarthy and Dale(29). Ayrıca orta yoğunlukta uygulanan egzersiz, nötrofillerin kemotaksis, migrasyon, fagositoz, oksidatif “burst” aktivitesini de arttırmaktadır. Yoğun olarak uygulanan egzersizde ise, kemotaksis değişmezken, diğer nötrofil işlevlerinde azalma ortaya çıktığı gösterilmiştir Brines et al.(30), Ortega et al.(31).

Akut egzersizden sonra lenfosit sayısında ve lenfosit alt popülasyonunda da artış gözlenmektedir. Özellikle CD 4, CD 8 lenfositler, ayrıca CD 19 B hücreleri ve CD 16 ve CD 56 NK (doğal katil) hücre sayısında artış olduğu gösterilmiştir. Pederson and Hoffman-Goetz(1), dört yıldır spor yapan kişilerde NK hücre aktivitesinin % 38.1, kontrol grubunda ise % 30.3 olduğunu göstermiştir. Bu durum, lenfositlerin egzersiz sonrasında dolaşıma katılmasına bağlıdır Pederson and Hoffman-Goetz(1). Öte yandan, egzersiz antrenmanının immün işleve ilişkin en belirgin etkisi, doğal katil hücre sayısında yol açtığı artıştır.

2.3. İnterlökinler ve İnterlökin-6

İnterlökinler, sitokinler olarak bilinen daha geniş bir polipeptid sınıfının bir parçasıdır. Bunlar immün sistemin çeşitli hücreleri arasındaki sinyalleri ileten haberci moleküllerdir Gleeson(21).

Bir enfeksiyon veya doku zedelenmesine karşı lokal tepki, enflamasyon bölgesinden salıverilen çeşitli sitokinlerin üretimini de içermektedir. Bu sitokinler lenfositler, nötrofiller, monositler ve diğer hücrelerin aktivasyonuna olanak tanımakta ve bu hücreler dokunun antijenden temizlenmesinde ve iyileşmesinde rol oynamaktadır Goebel et al.(24). Sitokinler, immün sistemdeki diğer hücreleri, dokuları ve karaciğer ve beyin dâhil olmak üzere diğer organları da etkilemektedir Gleeson(21).

Akut faz tepkisi olarak bilinen sistemik bir tepki lokal enflamasyon tepkisine eşlik etmektedir. Bu tepki; C-reaktif protein (CRP), α 2-makroglobulin ve transferrin gibi çok sayıda “karaciğer kaynaklı akut faz” proteinlerinin üretimini içermektedir. TNF- α , IL-1b ve IL-6’nın deney hayvanlarına ya da insanlara enjeksiyonu, akut faz tepkisi safhalarının tüm ürünlerini olmasa da çoğunluğunu üretmektedir Dinarello and Wolff(32). Dolayısıyla bu sitokinler çoğunlukla “inflamatuvar” ya da “proinflamatuvar sitokinler” olarak ifade edilmektedir. TNF-a ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler (immün hücrelerinin proteinlerini belirleyen) vücudun inflamasyona olan tepkisini koordine etmede büyük bir role sahiptir Vassali(33), Papanicolaou et al. (34).

İnterlökin-6, merkezi sinir sistemi içinde de işlevi bulunan çeşitli fizyolojik rollere sahip bir pleotropik sitokindir. IL-6 lenfosit işlevlerini ve antikor yapımını sağlamaktadır. Ancak IL-6 doğrudan inflamasyonu indüklediği için IL-6’yı “proinflamatuvar sitokin” olarak tanımlamaktansa “inflamasyona duyarlı sitokin” olarak sınıflandırmak daha uygundur Goebel et al.(24). İnterlökin sitokinlerin birçok biyolojik inhibitörü bulunmaktadır. Bunlardan IL-1 reseptör antagonist (IL-1ra), TNF- α , reseptörleri, IL-4, ve IL-10 örnek olarak sayılabilir Richards and Gauldie(35). IL-6; IL-1 reseptörü gibi inhibitör araçları arttırmakta ve hipotalamik-pituiter-adrenal eksenini harekete geçirmektedir Papanicolaou et al.(34).

Yaklaşık yirmi yıl öncesinde, IL-6 ilk olarak keşfedildiğinde, B lenfostillerin immunglobülin saklayan plazma hücrelerine ayrımının yapılmasını kolaylaştıran bir sitokin olarak tanımlanmıştır Hirano et al.(36,37). Daha sonraları birçok immunolojik özellikler, ismini 1987 yılında alan bu pleotropik sitokine verilmiştir Poupart et al.(38). IL-6, içinde lösemi inhibitör faktörü, interlökin-11, siliyer nörotrofik faktör, kardiyotrofin-1 ve onkostatın M barındıran bir sitokin ailesindedir. Yapısal benzerliklere ek olarak bu sitokinler gb130 reseptörü altbirimini de paylaşmaktadırlar Kishimoto et al.(39). İnsan gen kodlanmasının transkripsiyonu ve translasyonunda IL-6 (5 kilobazdan oluşan bir dizinden ve sözkonusu dizin de kromozom üzerine yerleşmiş 5 eksondan oluşmaktadır) 184 aminoasit içeren olgun IL-6 peptidini elde etmek için birbirine yapışan 212 aminoasit içeren bir propeptit sentezini oluşturmaktadır Hirano et al.(36). Ekson-II tarafından kodlanan bir dizinden yoksun ve değişken (bu yüzden gb130 reseptörü ile işaret veremeyen) IL-6 peptidi uyarılmış lenfositler ve tam boy IL-6 ile uyum içinde monositlerden salıverilmiş olabilmektedir Kestler et al.(40). Bundan başka post-transkripsiyonel modifikasyonlar ile dereceleri değişen glikolizasyon ve fosforilasyonu içerirken, aynı zamanda 21-30 kDa'luk birçok izoformu da içermektedir Gross et al.(41). Söz konusu izoformların yaşayan organizmalardaki biyolojik etkilerinin farklılık gösterip göstermediği belirlenmemiştir.

2.4. Egzersiz ve İnterlökin-6

1991 yılındaki ilk çalışmadan beri birçok çalışma göstermiştir ki plazma IL-6 konsantrasyonu, hareketle birlikte artmaktadır Northoff and Berg(42). Diğer birçok sitokinin plazmadaki konsantrasyonu hareketten etkilenebilmesine rağmen IL-6, şimdiye dek yapılan araştırmalar çerçevesinde diğerlerine nazaran çok daha büyük bir oranda artmaktadır.

IL-6 plazma konsantrasyonu sağlıklı kişiler baz alındığında ~1 pg/ml ya da altındadır. Aksine, IL-6 plazma konsantrasyonu birçok sistemik enfeksiyona bağlı olarak 10000 pg/ml'a ulaşabilmektedir Gross et al.(41). Plazma IL-6'nın daha az dramatik artışları birçok inflamatuvar ve bulaşıcı hastalıklarda gözlemlenmiştir. IL-6'nın metabolik sendromların gelişimindeki patojenik rolünü değerlendirmek gerekirse, bu rolün temellendirilmesinde plazma IL-6'nın (genellikle <10 pg/ml) kronik düşük düzeylerinin obezitenin, düşük fiziksel aktivitenin, insülin direncinin, tip-2 diabet hastalıklarının ve kardiyovasküler hastalıkların öngörülmesine hizmet eden bir araç olduğu düşünülmektedir Fischer(8).

Son zamanlarda, hareket sırasında; IL-1b, IL-6, IL-8 ve tümör nekroz faktörünü içeren bazı sitokinlerin plazma düzeylerindeki artışının kan lökositleri ve lenfoid dokudan kaynaklandığı düşünülmekteydi. Steensberg ve ark(6)'nın çalışması, interlökin-6 (IL-6) nin iskelet kasının hareketlerinden net salgılanımındaki artışı tanımlayan ilk çalışmadır. Steensberg et al.(6), arteriyovenöz konsantrasyonunu farklı şekillerde kullanarak, insanların aktif üst bacak kısmı hareketi süresince dolaşıma kaydadeğer derecede IL-6 salgılandığını göstermiştir. IL-6 salgısının miktarının, plazmada IL-6 içeriğindeki artıştan daha çok olabileceği gözlemlenmiştir. Hareket süresince bu sitokinin salınımının bir hayli yüksek oluşu, aktif kasların, kan lökositlerinden ziyade hareket sürecindeki IL-6 üretiminin temel kaynağı olduğunun bir göstergesidir Gleason(21).

Birçok mekanizma kas kasılımdan sonra IL-6 sentezine yol açabilmektedir. Kalsiyum homeostazisindeki değişiklikler, azalan glukoz yoğunluğu, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artan oluşumları gibi mekanizmaların tümü IL-6 sentezini düzenleyen transkripsiyon faktörlerini aktive edebilmektedir. Sonuç olarak sentezlenen IL-6'nın karaciğer, yağ dokusu, hypothalamik-hipofizer-adrenal (HPA) aksisi ve lökositler üzerindeki etkisi sayesinde hareket ile ilgili immunolojik ve metabolik reaksiyonlar düzenlenmektedir. Dinlenme halindeki insan iskelet kasında IL-6 mRNA miktarı çok düşüktür. Ancak Tip-1 fibrillerde sürekli olarak bulunan çok düşük konsantrasyondaki IL-6 proteinleri, duyarlı immünohistokimyasal metotlar kullanılarak ölçülebilmektedir. Yapılan hareketin ardından, kasılan iskelet kasındaki IL-6 mRNA düzeyindeki artış, ancak 30 dakikalık bir egzersizden sonra görülebilmektedir. IL-6 mRNA düzeyinin 100 katına kadar artışına da ancak yüksek yoğunlukta bir hareket evresinin sonunda ulaşılmaktadır Keller et al.(43). Diğer yandan artan oksidatif stresle birlikte glukoz kullanılabilirliğindeki düşüş, glikojen içeriğinde azalış, katekolaminler, hücre içi kalsiyum değerlerinin artışı, hipertermi, iskemi ve reperfüzyon gibi ortaya çıkan durumların tamamı, HSF1 ve HSF2 yoluyla IL-6 sentezini aktive edebilen ısı şoku proteinlerini (HSPs;heat shock proteins) tetiklemektedir Gleeson(21), Pritts et al.(44). Dolayısıyla, IL-6 transkripsiyonun düzenleyicisi birçok faktör, harekete bağlı olarak değişmiş olan kas içi ortam tarafından aktive edilmektedir. Sonuç olarak bu olay, hareketin sonlanmasından önce azalan kas-içi glikojen içeriği sonucu, kas içinde artan birikmiş IL-6 mRNA tarafından IL-6'nın daha fazla miktarda salgılanmasıyla sonuçlanmaktadır Keller et al.(43).

İlginç bir şekilde düşük yoğunlukta uygulanan bir egzersiz çalışmasından sonra azalan kas glikojen içeriği sonucu ortaya çıkan IL-6 geninin transkripsiyonel aktivitesinin, orta yoğunlukta uygulanan bir egzersiz çalışması sonucu azalan kas glikojen içeriğinin etkisinden oldukça fazla olduğu görülmektedir. Böylece egzersiz öncesi kas içi glikojen miktarının egzersiz ile uyarılmış IL-6 gen ifadesini önemli derecede etkilediği söylenebilmektedir Fischer CP (10).

IL-6 immün sistem üzerindeki etkileriyle bilinmektedir. IL 6, inflamasyon sırasında immün hücrelerden salıverilmekle birlikte, non-immün dokulardan da salgılanmaktadır. Inflamasyon yokluğunda, dolaşımda bulunan IL-6 'nın % 10- 35 miktarı yağ dokudan gelmektedir. Vücut kütlesi indeksi ve serum IL-6 seviyeleri arasında negatif korelasyon bulunduğu gösterilmiştir Faldt et al.(11). Hem kısa, hem de uzun dönemde besin alımındaki artışlar, IL-6 serum seviyelerinin düşmesiyle sonuçlanmaktadır. Ayrıca uzun süreli kassal egzersizde dolaşımda bulunan IL-6 seviyesi, hareketsiz ve kilolu bireylerde bile 100 kata kadar artabilmektedir Faldt et al.(11). Buna karşılık, TNF ve IL-1 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımı egzersiz sırasında çok daha düşük seviyede ya da hiç yoktur. Öte yandan IL-6, hipertrigliseridemi hastalığına sebep olmaksızın tüm vücut lipolizini ve yağ oksidasyonunu arttırarak insan lipid metabolizmasında düzenleyici olarak da rol oynamaktadır Guo SS et al.(45).

IL-6'nın egzersiz sırasında bireylerde oynadığı rol, inflamasyon halindeyken ve dışarıdan IL-6 enjeksiyonu sonrası gibi durumlarla kıyaslandığında tamamen farklı bir çerçevededir. İskelet kaslarının çalışması sırasında artış gösteren IL-6 salınımı,

kas hücresi zedelenmesi ya da immün hücrelerin infiltrasyonunun bir sonucu değil, egzersiz sırasında ortaya çıkan fizyolojik bir reaksiyon olarak görülmektedir. Plazmada bulunan artmış IL-6 konsantrasyonu ve çalışan kasta artmış olan IL-6 miktarı, hareketi gözlemlenen farelerde de belirlenmiştir Jonsdottir et al.(46), Colbert et al.(47). Ancak, egzersiz uyarımlı IL-6 artışlarındaki fizyolojik etkiler henüz tam aydınlatılmış değildir. Yukarıda tanımlanan IL-6 yerleşim ve düzeni sitokinin metabolik rolüne göre de değişmektedir. Kısa dönemli IL-6 tedavisinin insanlardaki lipoliz ve yağ oksidasyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Stouthard et al.(48). IL-6 yoksunu farelerde obezite görüldüğünü gösterilmiştir. Bu durum IL-6 temininin yağ doku kütlelerinin uzun süreli düzenlenmesinde rol oynamasıyla tersine çevrilebilmektedir Wallenius et al.(49). Ayrıca, sıçanlarda düşük dozlarda IL-6'nın intraserebroventriküler enjeksiyonunun vücuttaki yağ kütlelerini düşürdüğü ve enerji harcanışını artırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular, IL-6'nın merkezi bir konumda rol aldığına işaret etmektedir Wallenius et al.(49). Öte yandan IL-6 -/- farelerde glukoz toleransı düşmektedir. Bu düşme, muhtemelen obesitenin ikinci sebebidir Wallenius et al.(49).

Literatürde, egzersizden sonra artan vücut ısısı ile plazma IL 6 düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Egzersizle birlikte enerji döngüsündeki artış vücut sıcaklığında önemli bir artışa neden olmazken, eğer plazmadaki IL-6 konsantrasyonu 300 pg/ml ve daha yüksek seviyelerde ise vücutta orta dereceli bir ısı artışı olabildiği gösterilmiştir Fischer(8). Bununla beraber, vücut ısısını arttırmak için plazmada kısmen yüksek IL-6 olması gerekliliği görüldüğünden beri, egzersizle IL-6'nın sistemik artışının vücut sıcaklığının değişimi vasıtasıyla metabolizmayı düzenlediği düşünülmektedir.

Farelerde IL-6 enjeksiyonunun, karaciğerde depo edilen glikojeni bitirebileceği görülmüştür Fischer(8). In vivo ve in vitro koşullarda hayvanlarla yapılan birçok çalışmada IL-6'nın, karaciğer dokularında insülin uyarımını engellediği ve böylece hepatik glukoz üretimini arttırdığı gözlenmiştir Fischer(8). Ancak plazmadaki IL-6'nın artması dinlenme halinde bulunan insanda küçük bir etkiye neden olmaktadır. Tip-2 diyabete hem meyilli olanlar hem de olmayanlarda plazma IL-6 oranlarındaki aşırı artışın, glukoz oluşumu (Ra), glukoz yıkımı (Rd) ya da postabsorptif durumda plazma glukozu üzerinde bir etkisi bulunmamıştır Fischer (8). Aşırı insülin salgılanması olayıyla birleştirildiğinde, plazmada yaklaşık 50 pg/ml' lik bir IL-6 artışı plazma glukozunda yapımı (Ra) ve yıkımında (Rd) bir etki göstermezken, 200 pg/ml' lik bir IL-6 artış glukoz yıkımını (Rd) ve glukozun oksidasyonunu arttırmaktadır Fischer (8).

Ancak plazmada daha düşük bir IL-6 miktarı egzersiz sırasında hem glukoz yapımını hem de yıkımını arttırmaktadır. Bu mekanizmanın çelişkisi, dinlenme ve egzersiz durumlarında IL-6'nın etkisinin bilinmemesine bağlıdır. Bu durumun olası açıklaması, egzersize eşlik eden çok yönlü egzersiz kofaktörleri ile birlikte IL-6'nın glukoz metabolizması üzerinde düzenleyici bir etkisinin olabileceği yönündedir Febbraio et al.(50). IL-6'nın, glukoz metabolizması üzerine etkisi, glukoz akışının fazla olduğu egzersiz ya da insülin uyarılması gibi durumlar esnasında anlaşılabilir. Bundan dolayı IL-6'nın sistemik artışı egzersize cevap olarak hepatik glukoz üretimini arttırabilir, oysa diğer dokularda glukoz alınımı artar ve bu sayede plazma

glukoz konsantrasyonu etkilenmemiş olacaktır. Böylece egzersiz boyunca iskelet kaslarında glukoz alma yeteneğinin artışı sayesinde güçlenen hepatik verimi dengeye girecektir. Ancak, IL-6'nın iskelet kaslarında glukoz alınımı üzerindeki etkisi sonuçları bazı çelişkiler içermektedir: farelerde IL-6 glukoz alınımıyla azalırken Kim et al.(51), miktotübüllerdeki IL-6 insülin hassasiyetini arttırmaktadır Carey et al.(52).

Damara verilen rhIL-6'nın iki saat sonrasında lipolizisi ve yağ oksidasyonunu arttırdığı görülmüştür Van Hall et al.(53). IL-6'nın lipolitik etkisi kültüre alınmış adipositlerde de gösterilmiştir Petersen et al.(54). Egzersiz sonrasında yağ dokuda IL-6 mRNA'sının arttığı belirlenmiştir Keller et al.(55), ve bu artış katekolaminler tarafından düzenlenmektedir Keller et al.(56). Buna göre, eğer IL-6 mRNA'sı proteine dönüşürse, kan dolaşımında bulunan IL-6 ile birlikte eklemeli bir etkinin varlığı söz konusu olabilmektedir. Bundan dolayı egzersize cevap olarak IL-6'nın ve adrenalinin her ikisinin de lipolitik kapasitesi güçlenebilmektedir. Karaciğer için ise, IL-6'nın azalan insülin sinyalinden dolayı adipozitler üzerine etkisi bir dereceye kadardır. Hormon-duyarlı lipaz'ın (HSL) mRNA'sının, adipoz dokuda rhIL-6 tarafından arttırıldığı bulunmasına rağmen, HSL proteini bundan zarar görmemektedir Fischer CP (8).

İnsanlarda, beyin omurilik sıvısındaki IL-6 konsantrasyonu ve vücut yağ kitlesi arasında bir ilişki vardır Faldt et al.(11). IL-6'nın glukoz metabolizması üzerine etkisi görülmesine rağmen IL-6'nın periferel davranışının kandaki glukoz seviyesine etkisi ve ve kasılan kaslardan salınımlarının ayrıntıları henüz açıklanamamıştır Faldt et al.(11).

2.5. Interlökin-6 ve Antrenman Adaptasyonu

Düzenli egzersiz yapmak vücutta birçok adaptasyonu ortaya çıkarmaktadır. Bu adaptasyonlar; iskelet kaslarında glikogen içeriğinin artması, beta-oksidasyon enzimleri gibi anahtar enzimlerinin aktivitelerinin arttırması, adrenalinin stimule ettiği lipozisin yağ dokusunda duyarlılığının artması, kaslarda trigliseritlerin oksidasyonunun artması ve bunlar vasıtasıyla yağ oksidasyonu kapasitesindeki artmadır Fischer(8). Bunun sonucu olarak, egzersiz yapmış iskelet kasları plazma glukozuna daha az bağımlılık göstermekte ve egzersiz süresince kas glikojenini substrat olarak kullanmaktadır Phillips et al.(57). Artan egzersize karşı cevap, insan iskelet kasındaki birçok gende transkripsiyonun artmasına yol açmaktadır Pilegaard et al. (58). Ancak düzenli egzersiz iskelet kasında önemli rolleri olan hem bazal heksokinaz II (HKII), sitrat sentaz (CS), 3-hidroksiasil-CoA hidrogenaz (HAD) enzimlerinin mRNA düzeylerini, hem de dinlenme durumundaki kasta peroxisome proliferator-activated receptor-coactivator-1 (PGC-1) gen aktivitesini arttırmaktadır Pilegaard et al.(59). Önceki çalışmalar, iskelet kaslarında IL-6'nın hem transkripsiyonel aktivitesi hem de mRNA içeriğinde artış olduğunu göstermektedir Fischer(10). Dahası IL-6 proteini hem kas fiberlerinde Penkowa et al.(60) hem de egzersiz boyunca dolaşımda rahatça birikebilmektedir Steensberg et al.(6).

Birçok epidemiyolojik çalışma, düzenli fiziksel aktivite ve basal plazma IL-6 seviyesi arasında negatif ilişki belirtmişlerdir; daha fazla fiziksel aktivite daha az basal plazma IL-6 seviyesine neden olmaktadır Colbert et al.(61). Bazal plazma IL-6 seviyesi düşüklüğüyle fiziksel aktivite ilişkisi, diğer sitokinlerle ilişkili metabolik sendromlara kıyasla daha yakından bağlantılıdır Fischer(10).

Egzersiz uyardığı plazma IL-6 seviyesinin yükselişi, uygulanan egzersiz yoğunluğu ile ilişkilidir. Akut yoğun egzersiz sırasında IL-6 mRNA seviyesi, egzersiz öncesine göre 76 kat artarken, düşük yoğunlukta egzersiz sonrasında ancak 8 kat artmaktadır Fischer(8). Ayrıca bazal plazma IL-6 seviyesi egzersiz öncesi ve sonrası benzer bulunmuştur. Buna göre egzersizle IL-6 miktarı düşük seviyelerde dengelenirken, IL-6 reseptörleri üst seviyelere çıkmaktadır. Buna göre düşük fiziksel aktivitede basal plazma IL-6 seviyesi yükselirken, yüksek yoğunlukta fiziksel aktivite sonucu basal plazma IL-6 seviyesi düşmektedir Fischer(8). Ancak henüz sınırlı sayıda kanıt, kas içinde egzersizle uyarılmış IL-6 yükselişine ek olarak dolaşımda miktar düşüşünü göstermektedir.

Antrene (antrenman yapmış) bireylerde plazma IL 6 düzeyi daha geç pik yapmakta, ancak oluşan pik daha yüksek düzeyde ortaya çıkmaktadır. Egzersizle salınan IL-6'nın, hipertermi yoluyla artan sinirsel/beyinsel yorgunluk ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Egzersizle indüklenmiş IL-6, yoğun ve tekrarlanan egzersiz esnasında önemli olan karaciğer glikojenezisini de uyarabilmektedir Nybo et al. (16). Ayrıca IL 6'nın, iskelet kasının kasılması ve kas içi glikojen düzeylerinin azalmasıyla birlikte kastan dolaşıma verildiği ve karaciğerden glukoz çıkışını arttırarak, bir metabolik sensör olarak işlev gördüğü gösterilmiştir Helge et al.(8), Fischer(8).

2.6. İnterlökin ve Beyin

Literatürde, egzersizden sonra beyin IL 6 salınımına ilişkin görece az sayıda çalışma bulunmaktadır. Nybo ve ark.(16), uzun süren bir egzersiz oturumu süresince, normotermik ve hipertermik koşullar altında gerçekleştirilmesinden bağımsız olarak beyinden IL-6 salgılanmasının gerçekleştiğini göstermişlerdir. Beyinden net IL-6 salgılanmasının, egzersiz yapan bir bacadan salgılanma düzeyiyle karşılaştırıldığında oldukça az olmasına rağmen (beyinden $\sim 0,3$ ng dk⁻¹ salınım olmasına karşı, egzersiz yapan bir bacadan ~ 30 ng dk⁻¹, IL-6 salınımı gerçekleşir) serebral IL-6 salınımının kinetiği, tekrarlanan egzersiz boyunca egzersiz yapan kastaki ile Steensberg et al. (6) aynıdır. Egzersiz boyunca beyinden salgılanan IL-6'nın, egzersiz yapan kastan salınımıyla aynı biyolojik etkiye sahip olması beklenmektedir.

Karaciğerde glikojenin glukozu yıkılmasını (glycogenolysis) ve glukoz salınımını uyarıcı etki, kan glukoz homeostasisi korumaya yardımcı etmektedir Gleeson(21), Steensberg et al.(6); Pedersen and Febbraio(4). İskelet kasından salınan IL-6 ile birlikte dolaşımdaki IL-6 miktarı önemli derecede artmaktadır. Yorgunluğa bağlı olarak kasta artış gösteren IL-6 konsantrasyonu, yükselen vücut sıcaklığından (hipertemi) dolayı da artmaktadır. Egzersizle uyarılan IL-6 karaciğerde glikojenin glukozu yıkılmasını düzenlemektedir. Bu olay uzamış ve tekrarlanan egzersiz boyunca oldukça önemlidir.

Öte yandan Nybo et al.(16), rasgele seçilen 8 genç bireyi iki gruba ayırıp, bir grubu normal sıcaklıkta (38 °C) diğer grubu 39,5 °C gibi yüksek sıcaklıkta, 15 ve 60 dakikalık iki egzersiz oturumuna maruz bırakmışlardır. Çalışmada beyinsel IL-6 cevabı internal jugular vena ve arterde bulunan IL-6 miktarı farklılığı ve toplam serebral kan akışı ile belirlenmiştir. Birinci gruptaki bireylerde, dinlenme halinde ya da egzersizden 15 dakika sonrasında IL-6 salgılanması az, ama istatistiksel olarak

önemli bir artış gösterirken ($0.06 \pm 0.03 \text{ ng dk}^{-1}$), 60 dakikalık egzersiz oturumundan sonra IL-6 miktarındaki artışın, 15. dakikada elde edilen değerin yaklaşık 5 katı düzeyinde olduğu ($0.30 \pm 0.08 \text{ ng dk}^{-1}$; $P < 0.05$) gösterilmiştir. Öte yandan 60 dakikalık egzersiz oturumu sonrası artan beyin IL 6 konsantrasyonu, hipertermi uygulanan grupta, normotermik gruba göre farksız bulunmuştur. Bu durum, bu çalışmada bir stres modeli olarak seçilmiş olan hipertermi durumunun, beyin kaynaklı IL 6 salınımını etkilemediğine işaret etmektedir. Nybo et al.(16), Steensberg et al.(6).

2.7. Egzersiz ve Sitrat Sentaz Aktivitesi

Sitrat sentetaz (CS), sitrik asit döngüsünde (trikarboksilik asit döngüsü) enerji üretim metabolizmasının oldukça önemli bir düzenleyici enzimi olup, görevi oksaloasetat ve asetil Co-A'yı sitrata dönüştürmektir. Genellikle oksidatif ve solunum kapasitesinin belirlenmesinde bir gösterge olarak kullanılmaktadır Spina et al. (62). Otuz yıl kadar önce Holloszy et al.(63) iskelet kaslarında bulunan oksidatif enzim aktivitelerinin, egzersize dayanma gücünü arttırdığını rapor etmişlerdir. Sonrasında yapılan birçok çalışmada egzersiz yapmanın, kasın oksidatif kapasitesi ve metabolik özellikleri üzerine etkileri gösterilmiştir Parco et al.(64).

Genellikle, yüksek yoğunlukta egzersiz çalışmalarının iskelet kasının oksidatif kapasitesini ve mitokondriyal enzim aktivitesini arttırdığı görülmüştür. İskelet kaslarının kısa süreli egzersiz sonrası mitokondriyal enzim aktivitelerindeki değişimler hem hayvanlar hem de insanlar üzerinde araştırılmıştır Parco et al.(55). İnsan üzerindeki çalışmaların sonuçları akut egzersize cevap olarak CS aktivitesinin arttığını söylerken, bunun aksine farelerde bu enzim aktivitesinin azaldığı, kısa süreli egzersiz sonrasında da CS aktivitesinin değişmediği ya da azaldığı rapor edilmiştir Parco et al.(55).

Kalp kasındaki mitokondriyal enzim adaptasyonu üzerine egzersizin etkilerini belirlemek için birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan araştırmalara göre kalp kasında egzersiz sonrasında mitokondriyal enzim aktivitelerinde dikkate değer bir değişiklik bulunmamasına rağmen, bundan farklı sonuçlar da rapor edilmiştir Kainulainen et al.(65). Ayrıca yürütülen çalışmaların çok azında kalp kasında egzersiz ile uyarılan CS cevabı, transkripsiyonel, translasyonel ve/veya post-translasyonel süreçlerle belirlenmiştir. Egzersiz ile değişen CS seviyeleri rapor edilmesine rağmen ağır egzersiz sonrası kalp kasında CS adaptasyonunun moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Egzersiz yaparken mitokondriyal protein içeriğinin adaptif değişimi; protein degradasyon oranının düşmesinden daha ziyade protein sentez oranının artması olarak ortaya konmuştur Terjung(66). Bu artış mitokondriyal enzim ifadesinin pretanslasyonel, translasyonel ve/veya post-translasyonel kontrol mekanizmaları tarafından düzenlendiği olasılığını işaret etmektedir. Aslında herhangi bir belirli mRNA konsantrasyonundaki artış, o belirli proteinin sentezindeki artışa işaret edebilir Parco et al.(55).

Egzersizin CS aktivitesini % 0 ile % 100 arasında değişen oranlarda etkilediği rapor edilmiştir Leek et al.(67). Oranlardaki bu farklı spektrum, incelenen kas örnekleri ve egzersiz programlarıyla açıklanamamaktadır. Egzersize bağlı CS aktivitesi değişiminde gözlenen bu farklı artış oranlarının, egzersiz öncesi bazal CS aktivitesindeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Dinarello and

Wolff(32), tek egzersizden sonra iskelet kaslarında CS' nin artığını bildirmiştir. Bundan başka, akut egzersizin CS düzeyi üzerine olan etkisinin, antrenman düzeyinden etkilendiğini söylemek mümkündür Leek et al.(67).

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi, Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı, Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarı ve Spor Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Bu araştırma, A. Ü. Deney Hayvanları Bakım ve Kullanım Kurulu tarafından "07 toplantı sayısı 01 kararsayısı ile 16/07/2007 tarihinde" onaylanmıştır. Çalışmada, her bir grupta 30 olmak üzere 90 adet 3 aylık erkek Wistar sıçan kullanılmıştır. Ortam ısısı 22-25°C olacak, hayvanlar 12 saat karanlık/aydınlık siklusunda tutulmuştur. Bu sırada hayvanlara standart sıçan yemi ve musluk suyu verilmiştir. Gruplar aşağıdaki şekilde belirlenmiştir:

1. Sedanter kontrol grubu (K) (n=30)
2. Düşük yoğunlukta antrene grup (DYA) (n=30)
3. Yüksek yoğunlukta antrene grup (YYA) (n=30).

Yüzme protokolü: Tüm hayvanlar akut tüketici yüzme egzersizi programına alınmıştır ve tükenme süreleri, dayanıklılık performansını değerlendirmek üzere kaydedilmiştir. Yüzme işlemi, 50X50X70 cm boyutlarında, camdan yapılmış ısıtmalı yüzme havuzunda gerçekleştirilmiştir. Havuz suyunun ısısı, ısıtma sistemiyle 35°C'de sabit tutulmuştur. Antrene gruplar, 10 dk/gün süren 2 günlük bir alıştırma döneminin ardından antrenman programına alınmışlardır. Akut tüketici egzersiz süresince hayvanlar gözlenmiş, tükenme süreleri tesbit edilmiştir. Tükenme kriteri olarak, "hayvanların 10 sn'den fazla suyun üstünde kalamaması" kullanılmıştır Tanaka et al.(68).

Antrenman programları: Antrenman protokolü, alıştırma periyodunu takiben, 8 hafta süreyle, düşük ve yüksek yoğunlukta olmak üzere iki farklı yoğunlukta uygulanmıştır. Düşük yoğunlukta antrenman, 1 saat/gün, 5 gün/hafta yoğunlukta uygulanmıştır. Yüksek yoğunlukta antrenman ise 1 saat/gün olarak başlayarak, haftada 30 dk artışla, 2. hafta 1.5 saat/gün 3. hafta 2 saat/gün 4. hafta 2,5 saa/gün e ulaşılmıştır, 8. haftaya kadar 2,5 saat/gün 5 gün/hafta yoğunlukta uygulanmıştır Ogonovszky et al.(69). Bu işlemden sonra tüm hayvanlar 3 gruba ayrılmış (n= 10), her bir gruptaki hayvanlara, sırasıyla 0, 24 ve 48 saat sonra tüketici yüzme performansı uygulandıktan sonra dokuları çıkarılmak üzere deneye son verilmiştir.

Dokuların çıkarılması: Tüm hayvanlar, tüketici egzersizden hemen sonra etil karbonat anestezisine alınmıştır. Abdominal aortadan kan örnekleri alındıktan sonra sisterna magnadan insülin enjektörü ile girilerek BOS örnekleri alınmış, hayvanların beyin dokusu ve soleus kasları çıkarılarak deneye son verilmiştir.

Doku örneklerinin saklanması: Hayvanlardan toplanan kan örnekleri sıvı nitrojen içerisinde alındıktan sonra santrifüj edilerek plazmaları ayrılmış, IL 6 düzeylerinin ölçümüne kadar ependorf tüpler içerisinde, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde bulunan derin dondurucuda (-80 C^0) saklanmıştır.

BOS, beyin dokusu ve soleus kas örnekleri sıvı nitrojen içerisinde alındıktan sonra IL 6 düzeylerinin ölçümüne kadar ependorf tüpler içerisinde, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde bulunan derin dondurucuda (-80 C^0) saklanmıştır.

3.1. Sitrat Sentaz aktivitesinin ölçümü

Yöntem, asetil CoA ve oksaloasetik asidin sitrat sentaz varlığında sitrat ve CoA-SH'a ve ardından 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) varlığında CoA-SH'ın 412 nm'de ışığı güçlü bir şekilde absorbe eden merkaptid iyonuna dönüşmesine dayanmaktadır.

3.1.1. Kullanılan Solüsyonlar

- Tris tamponu (pH: 8,0): 100 mM
- Fosfat tamponu (pH: 7,4): 100 mM
- DTNB: 1 mM
- Asetil CoA: 3 mM
- Oksaloasetik asit; 5 Mm

3.1.2. Doku örneklerinin hazırlanması

Deney gününe kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan soleus kas örnekleri, yaş ağırlıkları kaydedildikten sonra, bir bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrılmıştır. Fosfat tamponu ile 1/20 oranında dilüe edilen doku parçaları, teflon uçlu homojenizatör ve sonikatör yardımıyla homojenize edilmiştir. Homojenatların fosfat tamponu ile tekrar 1/20 oranında sulandırılmasıyla örnekler ölçüme hazırlanmıştır Leek et al. (67), Srere(70).

3.1.3. İşlemler

Tris tamponu (650 μl), Asetil CoA (50 μl), DTNB (100 μl) ve homojenat (100 μl) karışımı hazırlandıktan sonra $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 5 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Sürenin bitiminde karışıma 100 μl oksaloasetik asitik eklenerek spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda ilk okuma gerçekleştirilmiştir. $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de gerçekleştirilen spektrofotometrik okuma 3 dakika sonra tekrarlanmıştır. Merkaptid iyonunun molar ekstinsiyon katsayısı (13,6), 1 dakikalık absorbans değişimi, dilüsyon faktörü ve kas yaş ağırlıkları üzerinden enzim aktivitesi hesaplanmış, sonuçlar $\mu\text{M.g}$ yaş doku $^{-1}$. dakika $^{-1}$ olarak verilmiştir.

3.2. Western-blot yöntemi ile IL6 proteininin ekspresyonu tayini

3.2.1. Beyin Korteks örneğinin Western-Blot Yöntemi İçin Hazırlanışı

3.2.1.1. Kullanılan Solüsyonlar

Triton-X-100 Tamponu

Triton-X-100 tamponu dokunun ve hücrenin parçalanmasını sağlayan

deterjan olup proteinlerin stabilizasyonunu sağlayan tuzları ve proteinlerin parçalanmasını engelleyen aprotinin, pepstantin A ve leupeptin gibi birçok proteaz inhibitörünü içeren bir tampondur. DYA, YYA ve kontrol grubu dokuları bu tampon içerisinde alınarak homojenizasyon yapıłıncaya kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

Triton-X-100 tamponu içerisinde bulunan kimyasal maddeler ve konsantrasyonları aşağıda verilmiştir.

NaF (Sodyumflorid) (Sigma)	100 mM
Hepes (N-(2-hidroksietil)piperazin-N-(2-etan-sulfonikasıit)) (Sigma)	50 mM
NaCl (Sodyumklorür) (Sigma)	150 mM
Gliserol (Sigma)	%10
Triton-X-100 (Sigma)	%1,2
MgCl ₂ (Magnezyumklorid) (Sigma)	1 mM
EGTA (Etilenbis(oksietilennitrilo)tetraasetikasit) (Sigma)	1 mM
PMSF (Fenilmetansulfonilflorid) (Sigma)	1 mM
Sodyumortovanadat (Sigma)	1 mM
Sodyum-Pirofosfat (Sigma)	10 mM
Leupeptin (Sigma)	10 µg/ml
Aprotinin (Sigma)	10 µg/ml
Pepstantin A (Sigma)	1 µg/ml

4,199g NaF, 13,015g Hepes, 8,766g NaCl, 0,09521g MgCl₂, 0,3804g EGTA, 0,1742g PMSF, 0,1839g sodyumortovanadat, 4,461g sodyum-pirofosfat, tartılıp, 500 ml bidistile suda çözülmüştür. 10 mg/ml'lik stoktan 1ml leupeptin, 10 mg/ml'lik stoktan 1ml aprotinin, 10 mg/ml'lik stoktan 100 µl pepstantin A, 100 ml % 10'luk gliserol ve 12 ml triton-X-100 eklendikten sonra son hacim 1 litre olacak şekilde bidistile su ile tamamlanmıştır. Küçük hacimlere bölünmüş ve $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

3.2.1.2. İşlemler

Materyaller Triton-X-100 tampon içerisinde alınmıştır. Örnekler, içerisindeki proteinlerin parçalanmasını engellemek için taşıma işlemleri de dahil deneyin tüm

aşamalarında buz içerisinde tutulmuştur.

1. Doku Triton-X-100 tamponu içinde lanset yardımı ile parçalanmıştır.
2. El homojenizatörü ile homojenize edilmiştir. Homojenize edilen materyal ependorf tüplerde 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek dökelti alınmış, örnek içerisindeki büyük doku parçaları bu yıkama işlemi ile uzaklaştırılmıştır. Bu işlem berrak ve partikül içermeyen örnek elde edilinceye kadar tekrarlanmıştır.
3. Elde edilen bu örnekte protein miktarı tayin edilmiştir.

3.2.2. DYA ve YYA Materyalinde Protein Miktar Tayini ve Standart Grafik Hazırlanışı

Protein miktar tayini BSA (Bovine Serum Albumin) ile hazırlanan standart grafik kullanılarak yapılmıştır. Miktar tayini için Thermo Scientific marka Pierce BCA Protein Assay Kit kullanılmıştır.

Kit içerisinde bulunan Albumin (BSA) standartları sırası ile 2000 µg/ml, 1500 µg/ml, 1000 µg/ml, 750µg/ml, 500µg/ml, 250µg/ml, 125 µg/ml, 25µg/ml ve 0 µg/ml (kör) olacak şekilde kit içeriğinde bulunan diluent ile seyreltilmiştir.

Kit içeriğindeki çalışma solüsyonları (Working Reagent-WR) A ve B kit kitapçığında belirtilen şekilde 50:1 oranlarında karıştırılmış. 0,1 ml örnek üzerine 2 ml WR karışımından eklenmiştir. 30 dakika 37⁰C'de inkübe edilen tüm örneklerin 562 nm dalga boyunda absorbans değerleri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

Standart grafik elde edilen bu değerlere göre X ekseninde protein miktarı=µg/ml ve Y ekseninde absorbans değerleri olacak şekilde milimetrik kâğıt çizilerek hazırlanmıştır.

Örnek içerisindeki protein miktarı hesaplanmıştır. Standart grafikte örneğin verdiği absorbans değerine karşılık gelen µg/ml cinsinden BSA miktarı örneğin içerdiği protein miktarını vermektedir.

Yükleme miktarı hesaplanmıştır. Her bir örnekten 100 µg protein içerecek kadar örnek 2.6 ile 40 µl arasında değişen miktarlarda jele yüklenmiştir.

3.2.3. Protein Elektrofrezisi

3.2.3.1. Kullanılan Solüsyonlar

Ayrıştırma Jeli Tamponu (Resolving Buffer)

Son konsantrasyon 1.5 M olacak şekilde 181,65 g Tris baz (Sigma) tartılıp 800 ml bidistile su içinde çözülmüştür. 1 M'lık Asit kullanılarak pH=8.8' e ayarlanıp, hacim bidistile su ile 1 litreye tamamlanmış ve oda sıcaklığında saklanmıştır.

Yükleme Jeli Tamponu (Stacking Buffer)

Son konsantrasyon 0.5 M olacak şekilde 60,55 g Tris baz tartılıp 800 ml bidistile su içinde çözülmüş. 1 M'lık Asit kullanılarak pH=6.8'e ayarlanıp hacim bidistile su

ile 1 litreye tamamlanmış ve oda sıcaklığında saklanmıştır.

10X Elektroforez Tamponu

15 g Tris baz, 94 g glisin (Sigma) tartılıp 500 ml bidistile su ile çözülmüş, 50 ml %10 SDS eklendikten sonra son hacim 1 litre olacak şekilde bidistile su ilave edilmiştir.

2X Yükleme Tamponu

1 ml Gliserol (Sigma)

3 ml %10 SDS (Soydum Doedesil Sülfat) (Boehringer Mannheim)

1.25 ml (1M) Tris-HCl pH=6.7

20 µl Bromfenol mavisi (Sigma)

0.5 ml β-Merkaptoetanol (Sigma)

Gliserol, SDS, Bromfenol mavisi ve β-Merkaptoetanol 15 ml' lik tüplerde karıştırılmış, enjektöre çekilerek 0.22 µm' lik filtreden geçirilerek partikül içermemesi sağlanmıştır ve yaklaşık 1ml' lik miktarlarda ependorflara bölünerek -20 °C'de saklanmıştır.

Akrilamid

29 g Akrilamid (Sigma)

1 g N'N' bis (Sigma)

100 ml bidistile suda çözülmüş ve alüminyum folye ile sarılarak +4 °C' de muhafaza edilmiştir.

%10 SDS

10 g SDS 100 ml bidistile suda 68 °C' de çözülmüş 1 M' lik baz (NaOH) veya asit (HCl) kullanılarak pH:7.2' ye ayarlanmıştır ve oda sıcaklığında saklanmıştır.

%10 APS

10 g APS (Amonyumpersülfat) (Sigma) 100 ml bidistile suda çözülmüş + 4 °C' de saklanmıştır.

3.2.3.2. Jellerin Hazırlanışı

Örnekler ayrıştırıcı jel ve yükleme jelinden oluşan iki fazlı akrilamid jelde elektroforetik olarak yürütülmüştür. Yükleme jelinin proteinleri ayrıştırma özelliği yoktur, örnek içindeki tüm proteinler bu jelden geçerek eş zamanlı olarak ayrıştırma jeline ulaşırlar. Bu şekilde yükleme süreleri arasındaki farktan doğabilecek deneysel hata da en aza indirgenmiştir.

Jellerin hazırlanmasına geçilmeden önce jelin döküleceği camlar hazırlanmıştır. Cam yüzeyinde kalacak herhangi bir partikül jelin homojen bir şekilde polimerleşmesini engelleyebileceği ve jel yüzeyinde kalacak su jelin

konsantrasyonunu değiştirebileceği için camlar sabunlu gazlı bez ile iyice temizlenmiş ve distile suyla yıkanıp kurulanmıştır.

%10'luk Ayrıştırıcı Jel (Resolving Jel)

7.7 ml Su

5 ml Ayrıştırma Tamponu

7 ml Akrilamid

0.2 ml %10'luk SDS

0.2 ml %10'luk APS

20 µl TEMED (N,N,N',N'-Tetrametiletildiamine) (Sigma)

Tüp içinde karıştırılarak hazırlanmıştır. TEMED polimerizasyonu çok hızlandıran bir katalizör olduğu için jel dökülmeden hemen önce eklenmiştir.

Yükleme Jeli (Stacking Jel)

3 ml Su

1.25 ml Yüklemeli Jeli tamponu

0.625 ml Akrilamid

50 µl %10'luk SDS

50 µl %10'luk APS

5 µl TEMED

Tüp içinde karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.2.4. Örneklerin Yüklemeli için Hazırlanışı

1. Protein miktar tayini tamamlanan örnekler yüklemeli başlamadan 30-45 dakika önce (-20 °C) dondurucudan çıkarılmıştır.
2. Donmuş örnekler buz içinde çözölmüştür. 100 µg protein içerecek kadar örnek pipetle çekilerek 1,5 ml'lik ependorf tüplere konulmuştur.
3. Üzerlerine gerektiği kadar Triton-X-100 tamponu eklenerek tüm örneklerin aynı hacimde olması sağlanmıştır.
4. Örnek ve tamponun toplam hacmi kadar 2X yüklemeli tamponu eklenmiştir.
5. Ependorfların kapakları parafilmle kapatıldı ve 3 dakika süreyle kaynar suda bekletilmifitir.
6. Süre sonunda santrifüjde 30 saniye 10000 rpm' de çevrilen örnekler yüklemeli hazır hale getirilmifitir.

3.2.4.1. İşlemler

1. Camlar hazırlandıktan sonra ön ve arka cam arasına 1 mm' lik ayırıcı (spacer) yerleştirilmiştir.
2. Alt kısım ve yanlar bantlanıp, iyice yapıştırılmıştır. Her iki yan sıkıştırılmış ve dikey olarak sabitlenmiştir.
3. Ayırışma jeli hazırlanmış, pipetle üstten 1 cm boşluk kalacak şekilde yavaşça camlar arasına dökülmüştür.
4. Üst kısımda bırakılan boşluk % 0.1' lik SDS çözeltisi ile doldurulmuştur. Bu işlem jelin üstünün düzgün olması için pipetle ve yavaşça yapılmıştır. % 0.1' lik SDS ile jelin hava ile teması engellenmiş ve jelin düzgün polimerize olması sağlanmıştır.
5. Ayırıştırıcı jel 30-45 dakikalık süre sonunda polimerize olmuştur.
6. Ayırıştırıcı jel üzerindeki SDS dökülmüş ve distile su ile birkaç kez yıkanmıştır.
7. Yükleme jeli hazırlanmış, ayırıştırıcı jel üzerine dökülmüştür ve tarak hava kabarcığı oluşturmada yavaşça yerleştirilmiştir.
8. Yükleme jeli 30-45 dakikalık süre sonunda polimerize olmuştur. Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarılmıştır ve eğer camlar üzerinde jel atığı kalmışsa bir kağıt mendil yardımı ile temizlenmiştir.
9. Camın etrafındaki bantlar çıkarılıp hemen elektroforez tankının içine yerleştirilmiştir. Tank ön (kısa) camın üst seviyesine kadar 1X elektroforez tamponu ile doldurulmuştur, pipetle tarakların oluşturduğu kuyucuklar temizlenmiştir.
10. İlk kuyucuğa molekül ağırlıkları bilinen proteinleri içeren marker (BioRad) yüklenmiştir.
11. Daha önce protein konsantrasyonu hesaplanmış ve yükleme tamponu eklenmiş örnekler her biri 100 mikrogram protein içerecek şekilde diğer kuyucuklara yüklenmiştir.
12. Örnekler yükleme jelinde iken akım 80-90 volt ve amper 45mA olacak şekilde güç kaynağı ile ayarlanmıştır. Örnekler ayırışma jeline geçtikten sonra akım 100-110 volta ve amper 55 mA ayarlanmış ve yürütme işlemi, örneklerin yürüyüşünü izlememizi sağlayan yükleme tamponu içerisinde bulunan Bromfenol mavisi, cam plakaların altından çıkıncaya kadar sürdürülmüştür.

3.2.5. Membrana Transfer (Islak Transfer)

3.2.5.1. Kullanılan Solüsyonlar

1X Protein Transfer Tamponu

3 g Glisin, 5,8 g Tris baz tartılıp 800 ml bidistile su içinde çözüldü, hacim 200 ml Metanol (Merck) ile 1L' ye tamamlanmıştır.

3.2.5.2. İşlemler

Yürütme işlemi tamamlandıktan hemen sonra proteinlerin jelden membrana transferi işlemine geçilmiştir. Deneyler sırasında Nitroselülöz membran

kullanılmıştır. Membran transfer işlemine geçilmeden 10-30 dakika önce transfer solusyonu ile ıslatılmıştır.

1. Cam plakalar elektroforez tankından alınmış ve içerisinde 1X protein transfer tamponu bulunan geniş bir kaba konmuştur. Tüm bu işlemler süresince jelin kurumaması sağlanmıştır.
2. Ön cam ve ayırıcılar dikkatlice tampon içerisinde alınmıştır.
3. Kuyucukların bulunduğu yükleme jeli kesilip atılmış ve jel tampon içerisine alınmıştır.
4. Sandviç arasına ilk önce sünger yerleştirilmiş ve transfer tamponu iyice emdirilmiştir.
5. Sünger üzerine transfer kağıdı, tamponla doyurularak yerleştirilmiş üzerinden deney tüpüyle yavaşça geçilerek hava kabarcığı kalmaması sağlanmıştır.
6. Transfer kâğıdı üzerine jel büyüklüğünde kesilmiş ve önceden metanolle ıslatılmış membran yerleştirilmiştir ve üzerinden deney tüpüyle yavaşça geçilmiştir. Sandviç sırasında, katlar arasında kalan hava kabarcıkları bu bölgelerde transferin doğru olarak gerçekleşmesini engelleyeceğinden, özellikle membran ve jel yerleştirilirken hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmiştir.
7. Jel kırılmamasına dikkat edilerek membran üzerine yerleştirilmiştir, üzerinden deney tüpüyle geçilmiştir.
8. Membran üzerine transfer kağıdı ve onun üzerine sünger aynı şekilde tampon iyice emdirilerek konulmuş ve sandviç sıkıştırılarak kapatılmıştır.
9. Sandviç transfer tankına yerleştirilmiş, tank transfer tamponu ile doldurulmuştur. Sandviç yerleştirilirken jelin anot ve membranın katot tarafında olmasına dikkat edilmiştir.
10. Transfer 1 gece süreyle +4 °C'de 40 volt ve 60-70 mA' de gerçekleştirilmiştir.

3.2.6. Membranların Blotlanması (Antikorla İşaretleme)

Transfer gerçekleştikten sonra membranın blotlama işlemleri yapılmıştır.

3.2.6.1. Kullanılan Solüsyonlar

PBS (Phosphate Buffered Saline)

8g NaCl (Merck)

0.2g KCl (Merck)

1.44 g Na₂HPO₄ (Merck)

0.24 g KH₂PO₄ (Merck)

800 ml bidistile su içinde çözülüp, 1M' lık asit kullanılarak pH= 7.4'e ayarlanmıştır. Hacim 1 L' ye bidistile su ile tamamlanmıştır.

% 0.1' lik PBST

1 L %0.1' lik PBS içerisine 500 µl Tween 20 (polioksietilen-sorbitanmonolaurat) (Sigma) eklenmiştir.

% 3'lük Süt Tozu (Bloklama Çözeltisi)

3 g yağsız süt tozu PBST içinde çözülüp 100 ml' ye PBST ile tamamlanmıştır.

3.2.6.2. İşlemler

1. Eldiven giyilerek membranlar temiz küçük kaplara konulmuştur. Bu işlem için petri kapları kullanılmıştır. Membranda yanlış bantlar görülmesine sebep olmamak için membranlara çıplak elle dokunulmamıştır.
2. Membranın üstünü kaplayacak kadar bloklama çözeltisi konulmuştur ve 2 saat Heidolph marka çalkalayıcı üzerinde prehibridizasyona bırakılmıştır.
3. Prehibridizasyon bittikten sonra çözelti dökülerek, bloklama çözeltisi içinde 1/500 oranında seyreltilen IL 6 (RD Systems) primer antikoru ve bloklama çözeltisi içinde 1/20000 oranında seyreltilen GAPDH (Gliseraldehitfosfatdehidrogenaz) (Santacruz) primer antikoru konulmuş ve 3 saat çalkalanmaya bırakılmıştır.
4. Süre sonunda yıkama işlemine geçilmiştir. Çözelti döküldükten sonra membran birkaç kez PBST ile yıkanmıştır. 15 dakika boyunca her 5 dakikada bir PBST değiştirilmek üzere membran çalkalayıcıda çalkalanarak yıkanmıştır. Böylece ortamdan zayıf bağlanan veya bağlanmayan antikorlar uzaklaştırılmıştır.
5. Yıkama işleminden sonra yine bloklama çözeltisi içinde 1/10000 oranında seyreltilen sekonder antikor HRP (Horseradishperoxydase) (Vector Laboratories) konulmuş ve 1 saat boyunca çalkalanmıştır.
6. Bu işlem bittikten sonra tekrar PBST ile 15 dakika yıkama işlemi yapılmıştır.
7. İşlem sonunda bir pens ile el değmeden alınan membranların önce kurutma kağıdı ile fazla suyu alınmıştır. Strechfilm üzerine yerleştirilmiştir. Üzerine ECL (Thermo Scientific-Super Signal West Pico Chemiluminescent Substrate) dökülüp ve 1 dakika bekletilmiştir.
8. Süre sonunda ECL' in de fazlası kurutma kağıdı ile alındıktan sonra membranlar streç film üzerine konulmuş ve streç film ile üzeri örtülmüş, kenarları sıkıca kapatılmıştır. Hemen ardından film kasetinin içine bantlanmıştır.
9. Daha sonra vakit kaybetmeden karanlık odada film membran üzerine yerleştirilmiş ve 1 veya 8 dakika sonunda banyo edilmiştir.

3.3. BOS ve plazma IL 6 tayini

Tüm hayvanlardan alınan BOS örnekleri ile, santrifüj edilmiş kan örnekleri - 80 C'lik derin dondurucudan çıkartılmıştır. BOS örnekleri ELISA testi yapımından önce 5 kez, plazma örnekleri ise 2 kez dilüe edildikten sonra test edilmiştir. ELISA testi uygulamasında The Endogen[®] Rat Interleukin-6 (IL-6) (KRC0061, Biosource International, Inc., USA) ELISA kiti prosedürüne bağlı kalınmıştır. Absorbans ölçümleri spektrofotometrik bir plate okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

3.4. İstatistik

Çalışmada elde edilen sonuçlar, ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuş, verilerin istatistiksel değerlendirilmesi, SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, versiyon 15.0) programı yardımıyla yapılmıştır. Her bir karakter için edinilen sayısal değerler

temelinde öncelikli olarak Levene testiyle değerlerin homojen olup olmadığına bakılmıştır. Ayrıca normal dağılım grafikleri incelenmiştir. Gruplar arasında bir farklılığın olup olmadığının saptanması ANOVA prosedürü ile, varsa farklılığın populasyonlar arasında nasıl bir gruplanma ortaya koyduğunu saptamak amacıyla da Tukey Çoklu Karşılaştırma Testleri yapılmıştır. $P < 0.05$ 'in altında elde edilen değerler, istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

BULGULAR

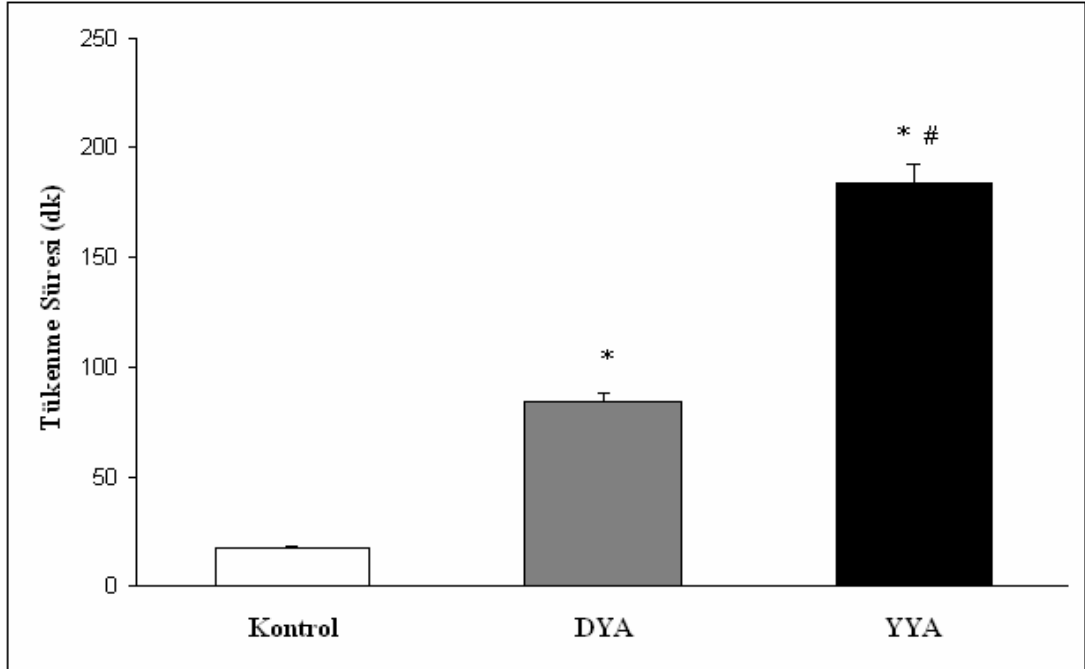
4.1. Tükenme Sürelerine Ait Bulgular

Tükenme süreleri bakımından her üç gruba ait örneklerin verilerinin Levene Testi ile homojen olup olmadıklarına bakılmıştır. Ancak veri setinin parametrik testler için uygun olmadığı anlaşılmıştır. Dolayısıyla gruplar arasında fark olup olmadığı ilk olarak non parametrik değerlere uygun olan Kruskal Wallis testi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda aralarında fark olduğu saptanmıştır. Bu farkın hangi gruplar arasında olduğunu anlamak amacıyla Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Test sonuçlarına göre YYA grubunun tükenme süresinin DYA ve Kontrol grubundan, DYA grubunun tükenme süresinin ise Kontrol grubundan yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.001$) (Tablo 3.1., Şekil 3.1.) .

Tablo 4.1. Gruplara Ait Tükenme Süreleri (dk)

	Kontrol	DYA	YYA
Ortalama	17,5556	84,44 *	183,96 * #
Standard Sapma	0,974	3,90	8,71

* $p<0.001$ düzeyinde Kontrol grubundan fark, # $p<0.001$ düzeyinde DYA grubundan fark



Şekil 4.1. Gruplara Ait Tükenme Süreleri (dk)

* $p<0.001$ düzeyinde Kontrol grubundan fark, # $p<0.001$ düzeyinde DYA grubundan fark

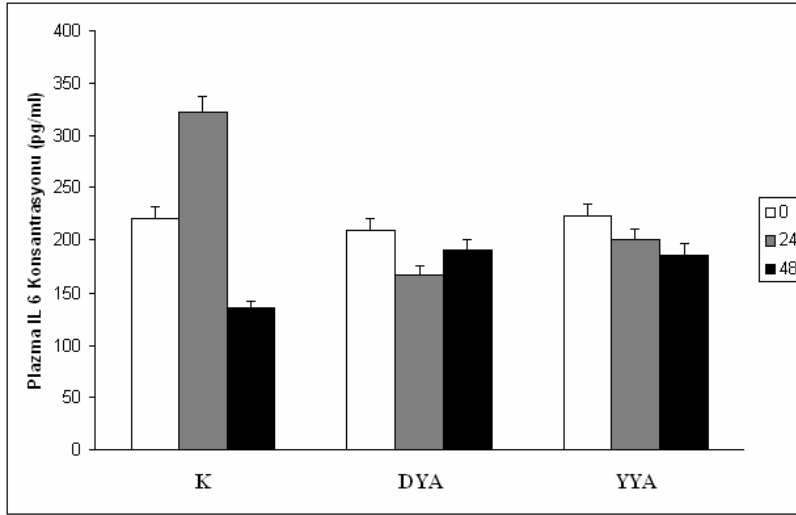
DYA; Düşük yoğunlukta antrenman grubu, YYA; Yüksek yoğunlukta antrenman grubu

4.2. ELISA Testi İle Elde Edilen IL-6 Aktivitesinin Plazma ve BOS Düzeyleri

Akut tüketici yüzme egzersizi sonrası 0, 24 ve 48. saat ölçümlerinde alınan abdominal aorta kanından elde edilen plazma IL- 6 konsantrasyonları bakımından gruplar arasında bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 3.2., Şekil 3.2.) Aynı veri setinin BOS'dan elde edilen değerlerinin 0 ve 48'inci saatteki örneklemelerinde istatistiksel fark saptanmazken, 24'üncü saatteki sonuçlar bakımından gruplar arasında fark bulunmuştur ($P<0.01$) (Şekil 3.4., Tablo 3.4.). Buna göre, farklılık bulunan bu sonuçlar gruplar bazında karşılaştırıldığında kontrol grubu ile düşük yoğunlukta antrenman grubu arasında bir fark çıkmamıştır ($P >0.05$). Ancak yüksek yoğunlukta antrenman grubu ile hem kontrol grubu arasında ($P<0.01$) ve hem de düşük yoğunlukta antrenman grubu arasında ($P< 0.05$) fark bulunmuştur (Tablo 3.2., Şekil 3.2.).

Tablo 4.2. Akut Tüketici Egzersizden Sonraki 0, 24 ve 48. Saatlerde Elde Edilen Plazma IL 6 Konsantrasyonları (pg/ml)

Gruplar	0. saat	24. saat	48. saat
Kontrol	220,09±106,86	321,61±142,79	135,64±68,63
DYA	209,36±89,09	167,45±44,29	190,65±52,67
YYA	222,74± 87,15	200,28±25,31	186,31±121,59



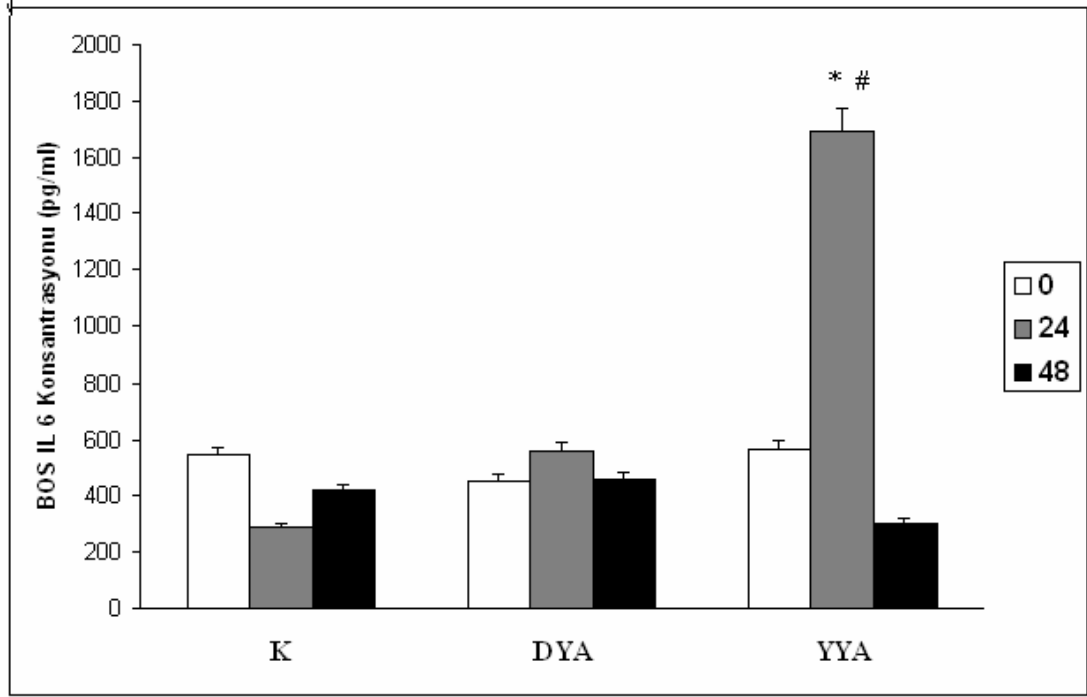
Şekil 4.2. Akut Tüketici Egzersizden Sonraki 0, 24 ve 48. Saatlerde Elde Edilen Plazma IL 6 Konsantrasyonları (pg/ml)

DYA; Düşük yoğunlukta antrenman grubu, YYA; Yüksek yoğunlukta antrenman grubu; 0, 24, 48, tükenme sonrası elde edilen, 0, 24 ve 48. saat ölçüm sonuçları

Tablo 4.3. Akut Tüketici Egzersizden Sonraki 0, 24 ve 48. Saatlerde Elde Edilen BOS IL 6 Konsantrasyonları (pg/ml)

Gruplar	saat	24. saat	48. saat
Kontrol	544,90±70,97	286,35±63,99	419,81±173,62
DYA	455,95±114,96	560,20±112,97	460,25±6956
YYA	566,14±173,62	1691,55±500,06	303,79±90,39* #

* p<0.01 düzeyinde Kontrol grubundan fark, # p<0.05 düzeyinde DYA grubundan fark



Şekil 4.3. Akut Tüketici Egzersizden Sonraki 0, 24 ve 48. Saatlerde Elde Edilen BOS IL 6 Konsantrasyonları (pg/ml)

* $p < 0.01$ düzeyinde Kontrol grubundan fark, # $p < 0.05$ düzeyinde DYA grubundan fark

DYA; Düşük yoğunlukta antrenman grubu, YYA; Yüksek yoğunlukta antrenman grubu; 0, 24, 48, tükenme sonrası elde edilen, 0, 24 ve 48. saat ölçüm sonuçları

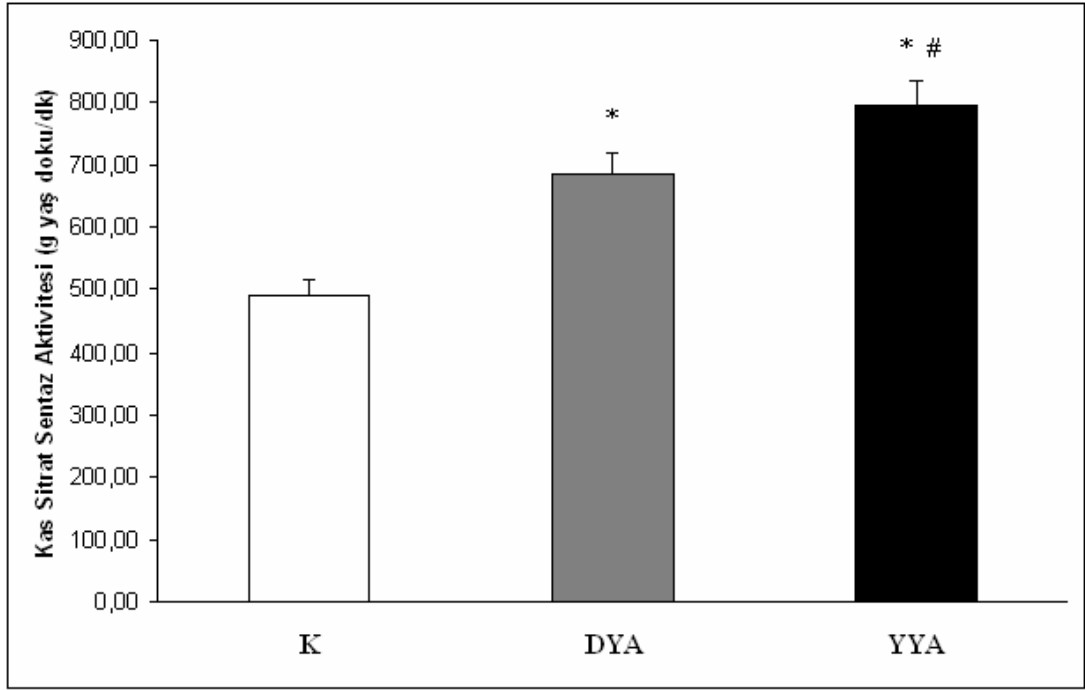
4.3. Sitröz Sentaz Aktivitesine Bağlı Bulgular

Soleus kasından elde edilen sitrat sentaz aktivitesi değerlerine göre gruplar arasında fark olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.4. Şekil 3.4.). Buna göre, iskelet kası sitrat sentaz aktivitesinin YYA grubunda DYA ($p < 0.001$) ve K grubuna göre ($p < 0.001$), DYA grubunda ise kontrol grubuna göre ($p < 0.001$) yüksek değerlere ulaştığı tesbit edilmiştir.

Tablo 4.4. Soleus Kasından Elde Edilen Sitröz Sentaz Aktivitesi Değerleri (G Yaş Kas/Dk)

	Kontrol	DYA	YYA
Ortalama	490,56	683,66*	795,30* #
Standard Sapma	99,22456	126,5056	255,565

* $p < 0.001$, Kontrol grubundan fark, # $p < 0.001$, DYA grubundan fark

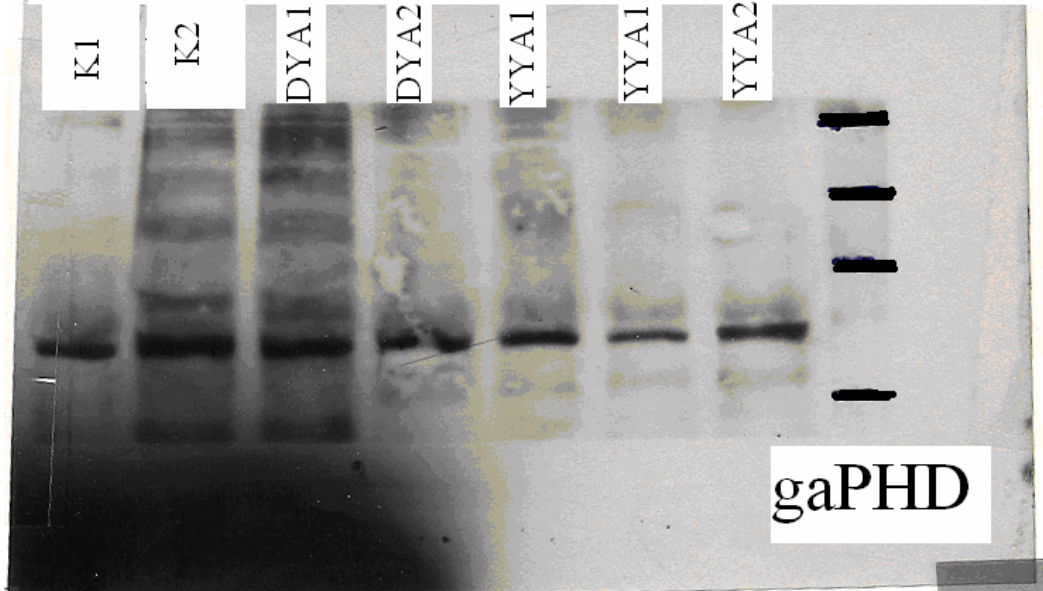


Şekil 4. 4. Soleus kasından elde edilen sitrat sentaz aktivitesi değerleri (g yaş kas/dk)

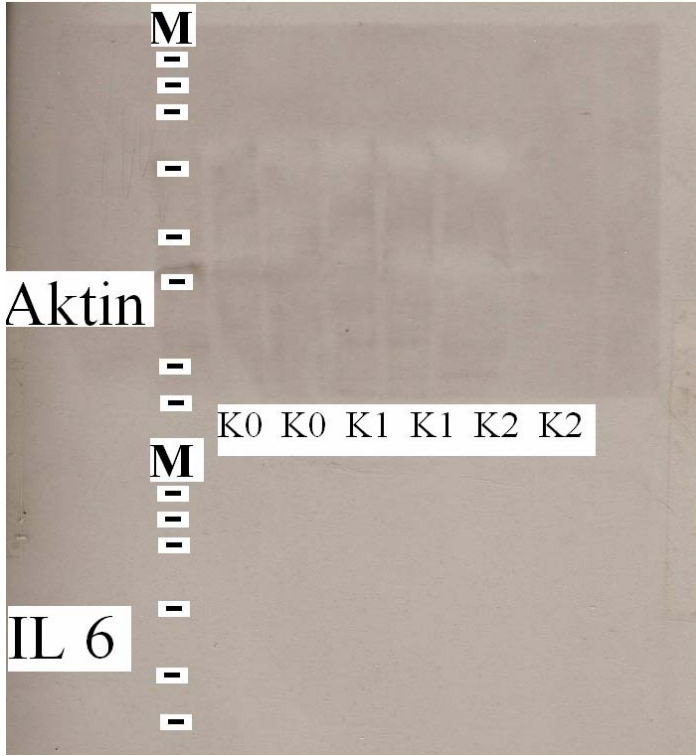
* $p < 0.001$, Kontrol grubundan fark, # $p < 0.001$, DYA grubundan fark

4.4. Western-Blot Yöntemi İle IL6 Proteininin Ekspresyonuna Ait Bulgular

Beyin dokusunda IL 6 düzeyini göstermek için yapılan Western-Blot yöntemi sonucunda gaPDH gösterilmiştir. Aktin ve IL6 gösterilememiştir (Şekil 4.5. , 4.6. , 4.7.)



Şekil 4.5. Western-blot yöntemi ile GAPDH membran görüntüsü.



Şekil 4.6. Western-blot yöntemi ile aktin IL6 membran görüntüsü



Şekil 4.7. Western-blot yöntemi ile IL6 membran görüntüsü.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Akut yoğun egzersizin, immün, metabolik ve hormonal sistemlerde pek çok değişikliğe yol açtığı bilinmektedir Mitchell et al.(28). Egzersizin yol açtığı değişikliklerden biri, immün sistem ve iskelet kası hücrelerinden pek çok sitokinin salınımını tetiklemesidir. Bunlardan biri, egzersiz sonrası kan düzeyinin arttığı ilk kez 1986 yılında gösterilmiş olan IL 6'dır IL 6, egzersizden sonra kasılan kastan intersisyuma ve dolaşıma verilen bir sitokindir Fischer(8). IL 6 hücre içinde gp130 ve IL 6R α 'yı içeren heterodimerik reseptörüne bağlanmaktadır. Bu bağlanma, hücre içinde Jac (Janus activated kinase) aktivasyonu aracılığıyla gp130'un tirozin fosforilasyonuna yol açmaktadır. Bu durum, hücre içinde 2 farklı yolağı aktive etmektedir: STAT (Signal transducers and activators of transcription) 1 ve MAPK (mitogen activated protein kinases) Heinrich et al.(71), Heinrich et al.(72). Bu iki yolağın, hücre içinde farklı etkileri bulunmaktadır.

Kasta IL 6 salınımının uyarımına ilişkin olan pek çok mekanizmadan söz edilmektedir. Bunlar arasında bulunan kas içi kalsiyum homeostasisindeki değişiklikler ve reaktif oksijen ürünleri (ROS) artışı, hipoksi Klausen et al.(73), Mazzeo et al.(74) yanı sıra, düşük kas glikojen içeriğidir, Steensberg et al.(75), Keller et al.(43), Jackson et al.(76). Febbraio and Pedersen(77), düşük ve yüksek glikojen içeriğine sahip bacak kaslarına uyguladıkları egzersiz oturumu sonucu, düşük glikojen içeriğine sahip bacakta IL 6 salınımının önemli ölçüde yüksek olduğunu göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar, egzersiz sırasında kasılan kastan salınan ve dolaşıma verilen IL 6'nın, hepatik glukoz çıkışını arttırdığını ve egzersiz sırasında gerekli olan glukoz desteğini sağlamada önemli rol oynadığını ileri sürmüşlerdir.

Çalışmamızda, sedanter ve antrene sıçanlara uygulanan akut tüketici yüzme egzersizinin, plazma, BOS ve serebral korteks dokusu IL 6 düzeylerine olan etkisi, toparlanma döneminin 0. , 24. ve 48. saatlerinde olmak üzere 3 kez incelenmiştir Her üç gruba uygulanan akut tüketici yüzme egzersizi, kas içi glikojen depolarının tüketilmesi ve bu sayede, kas kaynaklı IL 6 salınımının ortaya çıkarılması amacıyla seçilmiştir ve literatürde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tüketici egzersiz, her bir hayvanın 10 saniyeden fazla suyun üstünde kalamadığı aşamada sonlandırılmış ve tükenme süresi, ya da dayanıklılık performansının bir göstergesi olarak kaydedilmiştir Tanaka et al. (68). Yapılan istatistiksel analiz sonucu antrene grupların dayanıklılık performansının kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptanmıştır. Bu aşamada, tükenme süreleri kontrol grubunda en düşük, YYA grubunda en yüksek olarak tesbit edilmiştir. Öten yandan, her üç gruba ait soleus kası sitrat sentaz aktivitesi, tükenme süreleri ile paralellik göstermiştir. Bu durum, her iki antrene gruba 8 hafta boyunca uygulanan yüzme protokolünün, aerobik kapasite artışını ortaya çıkaran antrenmana uyum mekanizmalarını oluşturmak için yeterli olduğunun bir kanıtıdır.

Literatürde, egzersizden sonra plazma IL 6 düzeylerinde artış olduğunu gösteren çalışmalar, IL 6 artışının, uygulanan egzersiz oturumundan sonraki birkaç saatte ortaya çıktığına ilişkindir. Egzersizden sonraki toparlanma dönemine ilişkin çalışmalar görece azdır. Keller et al.(78), kas biyopsisi sonucu elde ettikleri myositleri çoğaltarak oluşturdukları hücre kültürü çalışmasında, mekanik yüklenme sırasında ortaya çıkan kalsiyum artışını kültür hücrelerine uygulamış ve kalsiyum uyarımı sonucu iskelet kası IL 6 mRNA'sında, 48 saat süresince progresif bir artış olduğunu göstermişlerdir. Öte yandan Li and Wang(79), akut yüksek yoğunlukta egzersiz oturumundan sonra plazma IL 6'nın, toparlanma döneminin 4. gününde, hale egzersiz öncesi düzey ile karşılaştırıldığında yüksek olduğunu, ancak 7. günde "normal" düzeyine indiğini göstermişlerdir. Bu bilgiler ışığında biz bu çalışmada, IL 6 düzeyinin, akut egzersizden sonraki toparlanma döneminin ilk 48 saati sırasındaki değişimini araştırmak üzere bu çalışmayı planladık.

Bizim çalışmamızda, 8 hafta boyunca iki farklı antrenman yoğunluğunda uygulanan yüzme antrenmanı ve sonrasında uygulanan akut tüketici egzersiz oturumu, sıçan plazmasında ELISA testi ile ölçülen IL 6 düzeylerinde önemli farka yol açmamıştır. Sağlıklı erişkinlerde plazma IL 6 düzeyi, 1 pg/ml'nin altındadır Brunsgaard et al.(80), Ostrowski et al.(81). Egzersiz, inflamasyon ya da enfeksiyon durumunda daha düşük miktarlarda artışlar görülebilmekte, ciddi sistemik enfeksiyonlarda ise bu değer, 10.000 pg/ml'ye ulaşabilmektedir. Bizim çalışmamızda, akut egzersiz öncesi bazal IL 6 düzeyi ölçülmemiştir. Ancak her 3 gruba uyguladığımız akut egzersiz protokolü sonucu elde edilen plazma IL 6 düzeyleri, literatürde sunulan bazal IL 6 düzeyi sonuçlarının oldukça üstünde bulunmuştur. Bu anlamda, çalışmamızda uyguladığımız akut egzersiz protokolü sonucunda elde ettiğimiz plazma IL 6 düzeyleri, akut egzersizin IL 6 salınımında artışa yol açtığı konusundaki literatür bilgisini destekler niteliktedir.

Egzersizden sonra artan plazma IL 6 düzeyi, uygulanan egzersizin tipi, yoğunluğu ve süresiyle ilgilidir Pedersen et al(82). Evans et al.(83). Ostrowski et al.(82), maraton yarışı sonrası plazma IL 6 düzeyinin 50 kat attığını göstermişlerdir. Bir başka çalışmada, egzersizden sonra plazma IL 6 düzeyi artışının, 246 km spartatlon yarışı sonrası 8000 kat arttığı bildirilmiştir Margeli et al.(84). Öte yandan, daha ılımlı artışı Lundby and Steensberg(85), Li and Gleeson(86), ya da değişmediğini Febbraio et al.(87) gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Egzersizden sonra dolaşımda bulunan IL 6 artışının en büyük kaynağı, iskelet kasından salınan IL 6'dır Steensberg et al.(88). Steensberg et al.(88), akut egzersiz sonrası insan bacak kasından salınan IL 6 miktarının 15 ng/dk, buna karşılık plazma IL 6 düzeyinin 16 pg/ml olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, uygulanan egzersizde kas IL 6 salınımı doz yanıt ilişkisi incelendiğinde, plazma IL 6 artışından büyük ölçüde kas kaynaklı salınımının sorumlu olduğu anlaşılmaktadır. Öte yandan literatürde, egzersizden sonra peritendinöz Langberg et al.(89), kan mononükleer hücresi Starkie et al.(90), ve beyin Nybo et al.(16) kaynaklı IL 6 salınımı gösterilmiştir.

Uygulanan egzersizin tipi dikkate alındığında, önceki çalışmalarda, eksantrik egzersizden sonra IL 6 düzeyinin daha fazla arttığı gösterilmiştir Bruunsgaard et al.(80). IL 6 artışının, CK (kreatin kinaz) artışı ile korele olarak görülmesi, artışın kas hasarı ile birlikte olduğunu göstermektedir. Öte yandan, egzersizden sonra kas IL 6

mRNA düzeyinin de arttığı bildirilmiştir. Buna karşılık konsantrik egzersizden sonra da plazma IL 6 düzeyindeki artış gösterilmiştir. Sadece, eksantrik egzersizden sonraki toparlanma döneminde IL 6 piki daha geç ortaya çıkmakta, ve bazal düzeylerine daha geç dönmektedir Hellsten et al.(91), Willoughby et al.(92).

Eksantrik egzersizden sonra, makrofaj, iskelet ve düz kas hücreleri ile endotel hücreleri PGE2 salgılamaktadır. PGE2 düzeyinin, eksantrik egzersizden 24 saat sonra yüksek olması nedeniyle, gecikmiş kas ağrısından (DOMS: delayed onset muscle soreness) sorumlu olduğu düşünülmektedir Strassmann et al.(93). Öte yandan PGE₂'nin, LPS (lipopolisakkarid) ile uyarılmış fare makrofajlarında, artmış olan IL 6 düzeyini azalttığı gösterilmiştir Strassmann et al.(94). Bu durum, kastaki inflamasyon yanıtını sınırlandırmak üzere, PGE₂ ile IL 6 arasında negatif feed back mekanizmanın varlığına işaret etmektedir.

Egzersiz yoğunluğu, IL 6 düzeyini etkileyen bir başka faktördür. Egzersiz yoğunluğu arttıkça, kasılmaya katılan kas miktarında artış olacağından, bu durum beklenebilecek bir durumdur. Bu açıdan, üst ekstremiteleri kullanarak yapılan egzersize göre koşma gibi, büyük kas gruplarının kasılmaya katıldığı aktivitelerde, plazma IL 6 düzeyi daha yüksek olmaktadır Hirose et al.(94), Bergfors et al.(95).

Uygulanan egzersizin süresi, belki de egzersize bağlı plazma IL 6 düzeyi artışının en temel belirleyicisidir. Bu katılım oranının, % 50 olduğu bildirilmiştir Fischer(8). Nilsen et al.(96), uygulanan egzersiz süresi ile plazma IL 6 düzeyindeki artış arasında doğrusal ve logaritmik bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Buna göre, bir saatin altında uygulanan kürek antrenmanı, plazma IL 6 düzeyinde 2 katlık bir artışa yol açmaktadır. Bu artışın 10 kat olması için, antrenman süresinin 1.9 saat, 100 kat olması için ise 6.0 saat olarak uygulanması gerektiği hesaplanmıştır. Söz konusu çalışmada, egzersiz tipi farklılığı dikkate alınmamıştır.

Antrenman, plazma IL 6 düzeyinin bir diğer önemli bir belirteçidir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, bazal plazma IL 6 düzeyi ile fiziksel aktivite düzeyi arasında negatif korelasyon olduğu bildirilmiştir Colbert et al.(47), Panagiotakos et al.(97). Koroner kalp hastalığı olan ve 10 ay boyunca antrenman programı uygulayan 64 yaş üstü bireylerde bazal plazma IL 6 düzeyinin, antrenman öncesine göre düştüğü tespit edilmiştir Kohut et al.(98). Ronsen et al.(99), profesyonel kayakçılar üzerinde yaptıkları çalışmada, atletlerin sezon sırasında ölçülen bazal plazma IL 6 düzeylerinin, sezon dışı değerlere göre daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Ancak, antrene bireylerde bazal IL 6 düzeyinin değişmediğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır Nicklas et al.(100), Bruunsgaard et al.(101).

Literatürde, farklı süre ve yoğunlukta uygulanan antrenman protokollerine ilişkin çelişkili plazma IL 6 düzeyleri sonuçlarına ulaşmak mümkündür. Fischer et al.(8), sağlıklı erkek bireyleri 10 hafta boyunca, haftada 5 gün, 1 saat boyunca uyguladıkları diz ekstensör antrenman programıyla antrene etmiş, bu sürenin sonunda ise, katılımcılara, 3 saat süren, maksimal yüklenmenin % 50 yoğunluğunda olan bir akut egzersiz oturumu uygulamışlardır. Akut egzersiz öncesi ve sonrası arasındaki plazma IL 6 düzeyleri arasında önemli fark bulamamışlardır. Bizim çalışmamızda da gözlenen bu durumun ikinci olası açıklaması, antrenmanın, IL 6 salınımında azaltıcı (down-regulated), buna karşılık IL 6R (IL 6 reseptörü)'de

arttırıcı (up-regulated) bir etkisi olduğu yönündedir. Antrenmanın, bazal IL 6R mRNA'sında yaklaşık 100 katlık bir artışa yol açtığı gösterilmiştir Keller et al.(102). Antrenman sonucunda kasta artan IL 6R mRNA'sının, IL 6R protein ekspresyonunda artışa yol açıp açmadığı henüz bilinmemektedir. Ayrıca, antrenman sırasında kas dışı dokularda IL 6R salınımının düzeyi de aydınlatılmayı beklemektedir. Dolaşımda bulunan IL 6R düzeyinin ise ne antrenman, ne de akut egzersizden sonra değişmediği gösterilmiştir Keller et al.(102).

Bizim çalışmamızda, tüm gruplara uygulanan tüketici egzersiz programının, toparlanma döneminin 0, 24 ve 48 saatlerinde plazma IL 6 düzeylerinde istatistiksel olarak önemli artışa yol açmadığı sonucu elde edilmiştir. Çalışmamızın sonuçları, yukarıda sözü edilen mekanizmaların, kontrol ve iki farklı antrenman grubuna uyguladığımız akut tüketici egzersiz oturumunun plazma IL 6 düzeyinde önemli farka yol açmaması durumunun açıklayıcısı olabileceği konusunda bizi desteklemektedir.

IL 6, kan beyin bariyerini geçebilen bir proteindir Banka et al.(103). Bu yüzden beyin dokusunda, IL 6'nın kaynağı hem kan beyin bariyerinden kolaylaştırılmış taşınmayla alınan IL 6, hem de nöron Spangelo et al.(104) ve astrositlerden salgılanan IL 6'dır Benveniste(105), Van Wagoner et al.(106). Normal koşullarda beyin IL 6 düzeyleri düşük olmasına karşılık, beyin hasarı, inflamasyon ya da hastalık durumlarında artış göstermektedir Benveniste(105). MSS kaynaklı IL 6 salınımı, çeşitli hormonlardan da etkilenmektedir. Bunlardan biri, egzersiz sırasında artan norepinefrindir. Buna karşılık Steensberg et al.(107), epinefrin infüzyonunun, sistemik IL 6 yanıtına etkisinin olmadığını bildirmiştir.

Öte yandan hipotalamik çekirdekler, özellikle uzun süreli strese bağlı olarak IL 6 salgılamaktadır Schöbitz et al.(108), Shizuya et al.(109). Merkezi sinir sisteminden salgılanan IL 6'nın iştah, enerji tüketimi ve beden bileşimi üzerine etkisi olduğu düşünülmektedir Nybo et al.(16). IL 6 eksikliği oluşturulmuş farelerde obezite geliştiği ve bu farelerin oksijen tüketimlerinin arttığı gösterilmiştir Wallenius et al.(18). Öte yandan Gleeson(21), MSS kaynaklı IL 6'nın, yorgunluk gelişimine aracılık ettiği hipotezini geliştirmiştir. Bu hipotez ve beyin kaynaklı IL 6 artışının, hepatik glukoz çıkışını arttıran bir uyaran olup olmadığı hipotezi, henüz kanıtlanmamıştır.

Nybo et al.(16), antrene erkek bireylere normotermik ve hipertermik koşullarda uyguladıkları bisiklet ergometresinde, beyin IL 6 salınımının arttığını, bu artışın, iskelet kasının maksimum salınım hızı olan 30 ng/dk ile karşılaştırıldığında daha yavaş olmakla birlikte, yaklaşık 0.3 ng/dk hızında olduğunu ve iskelet kası salınımına benzer kinetik özelliği gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca IL 6 yanıtı, merkezi yorgunlukla ilişkili olan hipertermi durumunda değişmemiştir. Araştırmacılar, beyin kaynaklı IL 6 artışının, merkezi yorgunluk gelişimine değilse de, kan glukoz homeostasisine katkıda bulunabileceğini ileri sürmektedir. Davis and Bailey(110) ise, beyin kaynaklı IL-6 artışının, yorgunluk hissine katkıda bulunabileceğini ileri sürmüştür.

Bu çalışmada biz, her üç gruba ait sıçan serebral korteks dokusunda Western blot yöntemiyle IL 6 düzeyini inceledik. Uyguladığımız yöntem, serebral korteks

dokusunda IL 6 protein düzeyinde artış olmadığı yönünde sonuç verdi.

Öte yandan, çalışmamızda ortaya konulan, iki farklı antrenman yoğunluğunun, akut tüketici ezersizden 0, 24 ve 48 saat sonra elde edilen BOS IL 6 düzeylerine ilişkin sonuçlar orjinaldir ve literatürde bulunan boşluğu dolduracak niteliktedir. Buna göre YYA grubunun 24 saat ölçümleri, hem kontrol, hem de DYA grubundan yüksek bulunmuştur. Elde edilen değerler, akut tüketici ezersizden hemen sonra elde edilen değerlerin 3, 48. saat değerlerinin 5 katı düzeyinde bulunmuştur. Bu artış, YYA grubunda akut ezersizden bir gün sonra ortaya çıkan bir pikin varlığına işaret etmektedir. Bu durumun, stres hormonlarının bazal düzeyinde bulunduğu zaman periyodunda görülmesi çarpıcıdır.

Steensberg et al.(111), sağlıklı erişkin bireylere uyguladıkları maksimal bisiklet ergometresi protokolünün 1. ve 2. saatlerinde plazma ve BOS IL 6 düzeylerini incelemişlerdir. Buna göre dinlenim durumunda ölçülen plazma ve BOS düzeyleri sırasıyla 0.7 ve 1.2 pg/ml olarak saptanmış ve iki ölçüm arasındaki yaklaşık iki katlık fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Öte yandan aynı araştırmacılar, maksimal bisiklet ezersizi uygulamasından iki saat sonra elde edilen plazma IL 6 düzeyinin 18 katlık artış gösterirken, BOS düzeyinin değişmemiş olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, ezersizden sonra BOS ve plazma IL 6 konsantrasyonlarının dengelenmediğini, beyin kaynaklı IL 6 salınımı olsa bile, bu durumun BOS'a yansımadığını ileri sürmüşlerdir.

Akut tüketici ezersizden sonraki toparlanma döneminin 48. saatinde ortaya çıkan IL 6 artışının kaynağı ve biyolojik etkilerinin incelenmesi, bu çalışmanın amacı dışındadır. Bizim bulgularımız, literatürde bildirilen, sıçanlara ilişkin bazal plazma ve BOS IL 6 konsantrasyonlarına göre Romero et al.(112), akut tüketici ezersiz uygulamasının, kontrol ve antrene gruplarda oldukça yüksek plazma ve BOS IL 6 değerlerine ulaşıldığını göstermiştir. Öte yandan elde edilen BOS IL 6 konsantrasyonundaki artış, serebral korteks IL 6 artışı ile birlikte bulunmamıştır. Bu durumun olası bir açıklaması, mevcut korteks IL 6 düzeyinin, IL 6 protein ekspresyonunu ortaya koymak üzere uyguladığımız yöntemle saptanabilir düzeyinin altında kalmış olabileceğidir. Dikkate alınması gereken diğer olasılık ise, akut tüketici ezersizin serebral korteks IL 6 artışına katkıda bulunmamış olabileceğidir. İleride yapılacak, hipotalamus, striatum, serebellum, beyin sapı gibi, ezersize bağlı metabolik, hormonal ve immün düzenlemelere katılan farklı beyin bölümlerinden elde edilecek ölçümler, bu sorunun yanıtını verebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev.* 2000 Jul;80(3):1055-81.
2. Yamada M, Suzuki K, Kudo S, Totsuka M, Nakaji S, Sugawara K. Raised plasma G-CSF and IL-6 after exercise may play a role in neutrophil mobilization into the circulation. *J Appl Physiol.* 2002 May;92(5):1789-94.
3. Suzuki K, Totsuka M, Nakaji S, Yamada M, Kudoh S, Liu Q, Sugawara K, Yamaya K, Sato K. Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage. *J Appl Physiol.* 1999 Oct;87(4):1360-7.
4. Pedersen BK, Febbraio M. Muscle-derived interleukin-6--a possible link between skeletal muscle, adipose tissue, liver, and brain. *Brain Behav Immun.* 2005 Sep;19(5):371-6.
5. Pedersen BK, Steensberg A, Keller P, Keller C, Fischer C, Hiscock N, van Hall G, Plomgaard P, Febbraio MA. Muscle-derived interleukin-6: lipolytic, anti-inflammatory and immune regulatory effects. *Pflugers Arch.* 2003 Apr;446(1):9-16.
6. Steensberg A, Keller C, Starkie RL, Osada T, Febbraio MA, Pedersen BK. IL-6 and TNF-alpha expression in, and release from, contracting human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002 Dec;283(6):E1272-8.
7. Tomiya A, Aizawa T, Nagatomi R, Sensui H, Kokubun S. Myofibers express IL-6 after eccentric exercise. *Am J Sports Med.* 2004 Mar;32(2):503-8.
8. Fischer CP. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exerc Immunol Rev.* 2006;12:6-33.
9. Helge JW, Stallknecht B, Pedersen BK, Galbo H, Kiens B, Richter EA. The effect of graded exercise on IL-6 release and glucose uptake in human skeletal muscle. *J Physiol.* 2003 Jan 1;546(Pt 1):299-305.
10. Fischer CP, Plomgaard P, Hansen AK, Pilegaard H, Saltin B, Pedersen BK. Endurance training reduces the contraction-induced interleukin-6 mRNA expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol*

Metab. 2004 Dec;287(6):E1189-94

11. Faldt J, Wernstedt I, Fitzgerald SM, Wallenius K, Bergstrom G, Jansson JO. Reduced exercise endurance in interleukin-6-deficient mice. *Endocrinology*. 2004 Jun;145(6):2680-6.
12. Robson-Ansley PJ, Blannin A, Gleeson M. Elevated plasma interleukin-6 levels in trained male triathletes following an acute period of intense interval training. *Eur J Appl Physiol*. 2007 Mar;99(4):353-60.
13. Robson-Ansley PJ, de Milander L, Collins M, Noakes TD. Acute interleukin-6 administration impairs athletic performance in healthy, trained male runners. *Can J Appl Physiol*. 2004 Aug;29(4):411-8.
14. Carlson NG, Wieggl WA, Chen J, Bacchi A, Rogers SW, Gahring LC. Inflammatory cytokines IL-1 alpha, IL-1 beta, IL-6, and TNF-alpha impart neuroprotection to an excitotoxin through distinct pathways. *J Immunol*. 1999 Oct 1;163(7):3963-8.
15. Van Wagoner NJ, Benveniste EN. Interleukin-6 expression and regulation in astrocytes. *J Neuroimmunol*. 1999 Dec;100(1-2):124-39.
16. Nybo L, Nielsen B, Pedersen BK, Moller K, Secher NH. Interleukin-6 release from the human brain during prolonged exercise. *J Physiol*. 2002 Aug 1;542(Pt 3):991-5.
17. Winter CD, Pringle AK, Clough GF, Church MK. Raised parenchymal interleukin-6 levels correlate with improved outcome after traumatic brain injury. *Brain*. 2004 Feb;127(Pt 2):315-20.
18. Wallenius V, Wallenius K, Ahren B, Rudling M, Carlsten H, Dickson SL, Ohlsson C, Jansson JO. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat Med*. 2002 Jan;8(1):75-9.
19. Wallenius K, Wallenius V, Sunter D, Dickson SL, Jansson JO. Intracerebroventricular interleukin-6 treatment decreases body fat in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 Apr 26;293(1):560-5.
20. Stenlof K, Wernstedt I, Fjallman T, Wallenius V, Wallenius K, Jansson JO. Interleukin-6 levels in the central nervous system are negatively correlated with fat mass in overweight/obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Sep;88(9):4379-83.
21. Gleeson M. Interleukins and exercise. *J Physiol*. 2000 Nov 15;529 Pt 1:1.
22. Keller P, Keller C, Steensberg A, Robinson LE, Pedersen BK. Leptin gene expression and systemic levels in healthy men: effect of exercise, carbohydrate, interleukin-6, and epinephrine. *J Appl Physiol*. 2005

May;98(5):1805-12.

23. Wang W, Lönnroth C, Svanberg E, Lundholm K. Cytokine and cyclooxygenase-2 protein in brain areas of tumor-bearing mice with prostanoid-related anorexia. *Cancer Res.* 2001 Jun 15;61(12):4707-15.
24. Goebel MU, Mills PJ, Irwin MR, Ziegler MG. Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha production after acute psychological stress, exercise, and infused isoproterenol: differential effects and pathways. *Psychosom Med.* 2000 Jul-Aug;62(4):591-8.
25. Blair, S. N. Sports medicine and exercise science in the 21st century. *Sports Med. Bull.* 1999;34: 8.
26. Baldwin KM. Research in the exercise sciences: Where do we go from here? *J Appl Physiol.* 2000;88:332-336.
27. Hoffman-Goetz L and Pedersen BK. Exercise and the immune system: a model of the stress response? *Immunol Today.* 1994;15: 382–387.
28. Mitchell JB, Pizza FX, Paquet A, Davis BJ, Forrest MB, Braun WA. Influence of carbohydrate status on immune responses before and after endurance exercise. *J Appl Physiol.* 1998 Jun;84(6):1917-25.
29. McCarthy DA, Dale MM. The leucocytosis of exercise. A review and model. *Sports Med.* 1988 Dec;6(6):333-63
30. Brines R, Hoffman-Goetz L, Pedersen BK. Can you exercise to make your immune system fitter? *Immunol Today.* 1996 Jun;17(6):252-4.
31. Ortega E, Collazos ME, Maynar M, Barriga C, De la Fuente M. Stimulation of the phagocytic function of neutrophils in sedentary men after acute moderate exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1993;66(1):60-4.
32. Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med.* 1993;328:106–113.
33. Vassali P. The pathophysiology of tumor necrosis factor. *Annu Rev Immunol.* 1992.;10:411–52.
34. Papanicolaou DA, Wilder RL, Manolagas SC, Chrousos GP. The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease. *Ann Intern Med.* 1998;128:127–37.
35. Richards C ve Gauldie J. Role of cytokines in acute-phase response. In: *Human Cytokines: Their Roles in Disease and Therapy*, edited by B.B. Aggarwal and R.K. Puri. Cambridge, MA: Blackwell Science, 1995, p.

253–269.

36. Hirano T, Taga T, Nakano N, Yasukawa K, Kashiwamura S, Shimizu K, Nakajima K, Pyun KH and Kishimoto T. Purification to homogeneity and characterization of human B-cell differentiation factor (BCDF or BSFp-2). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;82: 5490-5494.
37. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, Kashiwamura S, Nakajima K, Koyama K, Iwamatsu A and . Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. 1986;324: 73-76.
38. Poupart P, Vandenabeele P, Cayphas S, Van Snick J, Haegeman G, Kruys V, Fiers W and Content J. B cell growth modulating and differentiating activity of recombinant human 26-kd protein (BSF-2, HuIFN-beta 2, HPGF). *EMBO J*. 1987;6:219- 1224.
39. Kishimoto T, Akira S, Narazaki M and Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood*. 1995;86:1243-1254.
40. Kestler DP, Agarwal S, Cobb J, Goldstein KM and Hall RE. Detection and analysis of an alternatively spliced isoform of interleukin-6 mRNA in peripheral blood mononuclear cells. *Blood*. 1995;86: 4559-4567.
41. Gross V, Andus T, Castell J, Vom BD, Heinrich PC and Gerok W. O- and N-glycosylation lead to different molecular mass forms of human monocyte interleukin- 6. *FEBS Lett*. 1989;247: 323-326.
42. Northoff H and Berg A. Immunologic mediators as parameters of the reaction to strenuous exercise. *Int J Sports Med*. 1991;12 Suppl 1: S9-15.
43. Keller C, Steensberg A, Pilegaard H, Osada T, Saltin B, Pedersen BK and Neufer PD. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *FASEB J*. 2001;15: 2748-50.
44. Pritts TA, Hungness ES, Hershko DD, Robb BW, Sun X, Luo GJ, Fischer JE, Wong HR and Hasselgren PO. Proteasome inhibitors induce heat shock response and increase IL-6 expression in human intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002;282: R1016-R1026.
45. Guo SS, Zeller C, Chumlea WC, and Siervogel RM. Aging, body composition, and lifestyle: the Fels Longitudinal Study. *Am J Clin Nutr*. 1999;70: 405–411.
46. Jonsdottir IH, Schjerling P, Ostrowski K, Asp S, Richter EA, Pedersen BK, 2000, Muscle contractions induce interleukin-6 mRNA production in rat skeletal muscles. *J Physiol*. 2000 Oct 1;528 Pt 1:157-63.
47. Colbert LH, Davis JM, Essig DA, Ghaffar A, Mayer EP

Tissue expression and plasma concentrations of TNF α , IL-1 α , and IL-6 following treadmill exercise in mice. *Int J Sports Med.* 2001;22:261–267

48. Stouthard JM, Romijn JA, Van der Poll T, Endert E, Klein S, Bakker PJ, Veenhof CH, Sauerwein HP. Endocrinologic and metabolic effects of interleukin-6 in humans. *Am J Physiol.* 1995;268:E813–E819.
49. Wallenius V, Wallenius K, Ahren B, Rudling M, Carlsten H, Dickson SL, Ohlsson C, Jansson JO. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat Med.* 2002;8:75–79.
50. Febbraio MA, Hiscock N, Sacchetti M, Fischer CP and Pedersen BK. Interleukin-6 Is a Novel Factor Mediating Glucose Homeostasis During Skeletal Muscle Contraction. *Diabetes.* 2004;53: 1643-1648.
51. Kim HJ, Higashimori T, Park SY, Choi H, Dong J, Kim YJ, Noh HL, Cho YR, Cline G, Kim YB and Kim JK. Differential Effects of Interleukin-6 and -10 on Skeletal Muscle and Liver Insulin Action In Vivo. *Diabetes.* 2004;53:1060-1067.
52. Carey AL, Steinberg GR, Macaulay SL, Thomas WG, Holmes AG, Ramm G, Prelovsek O, Hohnen-Behrens C, Watt MJ, James DE, Kemp BE, Pedersen BK and Febbraio MA. Interleukin-6 Increases Insulin-Stimulated Glucose Disposal in Humans and Glucose Uptake and Fatty Acid Oxidation In Vitro via AMP-Activated Protein Kinase. *Diabetes.* 2006;55: 2688-2697.
53. Van Hall G, Steensberg A, Sacchetti M, Fischer C, Keller C, Schjerling P, Hiscock N, Moller K, Saltin B, Febbraio MA and Pedersen BK. Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88: 3005-3010.
54. Petersen EW, Carey AL, Sacchetti M, Steinberg GR, Macaulay SL, Febbraio MA and Pedersen BK. Acute IL-6 treatment increases fatty acid turnover in elderly humans in vivo and in tissue culture in vitro. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005;288: E155-E162.
55. Keller C, Keller P, Marshal S and Pedersen BK. IL-6 gene expression in human adipose tissue in response to exercise--effect of carbohydrate ingestion. *J Physiol.* 2003;550: 927-931.
56. Keller P, Keller C, Robinson LE and Pedersen BK. Epinephrine infusion increases adipose interleukin-6 gene expression and systemic levels in humans. *J Appl Physiol.* 2004;97:1309-1312.
57. Phillips SM, Green HJ, Tarnopolsky MA, Heigenhauser GJ, Hill RE, and Grant SM. Effects of training duration on substrate turnover and oxidation during exercise. *J Appl Physiol.* 1996;81: 2182–2191.

58. Pilegaard H, Ordway GA, Saltin B, and Neufer PD. Transcriptional regulation of gene expression in human skeletal muscle during recovery from exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;279: E806–E814.
59. Pilegaard H, Saltin B, and Neufer PD. Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1_α gene in human skeletal muscle. *J Physiol.* 2003;546: 851–858.
60. Penkowa M, Keller C, Keller P, Jauffred S, and Pedersen BK. Immunohistochemical detection of interleukin-6 in human skeletal muscle fibers following exercise. *FASEB J.* 2003;17: 2166–2168.
61. Colbert LH, Visser M, Simonsick EM, Tracy RP, Newman AB, Kritchevsky SB, Pahor M, Taaffe DR, Brach J, Rubin S and Harris TB. Physical Activity, Exercise, and Inflammatory Markers in Older Adults: Findings from The Health, Aging and Body Composition Study. *Journal of the American Geriatrics Society.* 2004;52: 1098-1104.
62. Spina RJ, Chi MMY, Hopkins MG, Nemeth PM, Lowry OH, and Holloszy JO. Mitochondrial enzymes increase in muscle in response to 7–10 days of cycle exercise. *J Appl Physiol.* 1996;80: 2250–2254.
63. Holloszy JO, Oscai LB, Don IJ, and Mole PA. Mitochondrial citric acid cycle and related enzymes: adaptive response to exercise. *Biochem Biophys Res Commun.* 1970;40:1368–1373.
64. Parco M, Siu, David A, Donley, Randall W, Bryner and Stephen E. Alway, Citrate synthase expression and enzyme activity after endurance training in cardiac and skeletal muscles, *J Appl Physiol.* 2003;94:555–560.
65. Kainulainen H, Komulainen J, Takala T, and Vihko V. Effect of chronic exercise on glucose uptake and activities of glycolytic enzymes measured regionally in rat heart. *Basic Res Cardiol.* 1989;84:174–190.
66. Terjung RL. The turnover of cytochrome c in different skeletal muscle fiber types of the rat. *Biochem J.* 1979;178:569–574.
67. Leek BT, Mudaliar SR, Henry R, Mathieu-Costello O, Richardson RS. Effect of acute exercise on citrate synthase activity in untrained and trained human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001 Feb;280(2):R441-7.
68. Tanaka T, Ohira Y, Danda M, Hatta H, Nishi I. Improved fatigue resistance not associated with maximum oxygen consumption in creatine-depleted rats. *J Appl Physiol.* 1997 Jun;82(6):1911-7.
69. Ogonovszky H, Berkes I, Kumagai S, Kaneko T, Tahara S, Goto S, Radak Z. The effects of moderate-, strenuous- and over-training on

oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in rat brain. *Neurochem Int.* 2005 Jun;46(8):635-40.

70. Srere PA: Citrate synthase, *Methods Enzymol.* 1969; 13: 3-5.
71. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J.* 2003 Aug 15;374(Pt 1):1-20.
72. Heinrich PC, Behrmann I, Müller-Newen G, Schaper F, Graeve L. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. *Biochem J.* 1998 Sep 1;334 (Pt 2):297-314.
73. Klausen T, Olsen NV, Poulsen TD, Richalet JP, Pedersen BK. Hypoxemia increases serum interleukin-6 in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1997;76(5):480-2.
74. Mazzeo RS, Donovan D, Fleshner M, Butterfield GE, Zamudio S, Wolfel EE, Moore LG. Interleukin-6 response to exercise and high-altitude exposure: influence of alpha-adrenergic blockade. *J Appl Physiol.* 2001 Nov;91(5):2143-9.
75. Steensberg A, van Hall G, Keller C, Osada T, Schjerling P, Pedersen BK, Saltin B, Febbraio MA. Muscle glycogen content and glucose uptake during exercise in humans: influence of prior exercise and dietary manipulation. *J Physiol.* 2002 May 15;541(Pt 1):273-81.
76. Jackson MJ, Edwards RH, Symons MC. Electron spin resonance studies of intact mammalian skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta.* 1985 Nov 20;847(2):185-90.
77. Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J.* 2002 Sep;16(11):1335-47.
78. Keller C, Hellsten Y, Pilegaard H, Febbraio MA, Pedersen BK. Human muscle cells Express IL 6 via a Ca⁺⁺ dependent pathway. *J Physiol (London).* 2002; 539.
79. Li XJ, Wang RY. Effects of high intensity swimming training on immune functions of juvenile swimmers. *Journal of Beijing University of Physical Education.* 2001.24(4):481-4 (abstr).
80. Bruunsgaard H, Galbo H, Halkjaer-Kristensen J, Johansen TL, MacLean DA, Pedersen BK. Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage. *J Physiol.* 1997 Mar 15;499 (Pt

3):833-41.

81. Ostrowski K, Rohde T, Zacho M, Asp S, Pedersen BK. Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *J Physiol*. 1998 May 1;508 (Pt 3):949-53.
82. Pedersen BK, Ostrowski K, Rohde T, Bruunsgaard H. The cytokine response to strenuous exercise. *Can J Physiol Pharmacol*. 1998 May;76(5):505-11.
83. Evans WJ, Meredith CN, Cannon JG, Dinarello CA, Frontera WR, Hughes VA, Jones BH, Knuttgen HG. Metabolic changes following eccentric exercise in trained and untrained men. *J Appl Physiol*. 1986 Nov;61(5):1864-8.
84. Margeli A, Skenderi K, Tsironi M, Hantzi E, Matalas AL, Vrettou C, Kanavakis E, Chrousos G, Papassotiriou I. Dramatic elevations of interleukin-6 and acute-phase reactants in athletes participating in the ultradistance foot race spartathlon: severe systemic inflammation and lipid and lipoprotein changes in protracted exercise. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Jul;90(7):3914-8.
85. Lundby C, Steensberg A. Interleukin-6 response to exercise during acute and chronic hypoxia. *Eur J Appl Physiol*. 2004 Jan;91(1):88-93.
86. Li TL, Gleeson M. The effects of carbohydrate supplementation during the second of two prolonged cycling bouts on immunoendocrine responses. *Eur J Appl Physiol*. 2005 Dec;95(5-6):391-9.
87. Febbraio MA, Steensberg A, Starkie RL, McConell GK, Kingwell BA. Skeletal muscle interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha release in healthy subjects and patients with type 2 diabetes at rest and during exercise. *Metabolism*. 2003 Jul;52(7):939-44.
88. Steensberg A, van Hall G, Osada T, Sacchetti M, Saltin B, Klarlund Pedersen B. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *J Physiol*. 2000 Nov 15;529 Pt 1:1.
89. Langberg H, Olesen JL, Gemmer C, Kjaer M. Substantial elevation of interleukin-6 concentration in peritendinous tissue, in contrast to muscle, following prolonged exercise in humans. *J Physiol*. 2002 Aug 1;542(Pt 3):985-90.
90. Starkie RL, Angus DJ, Rolland J, Hargreaves M, Febbraio MA. Effect of prolonged, submaximal exercise and carbohydrate ingestion on monocyte intracellular cytokine production in humans. *J Physiol*. 2000 Nov 1;528(Pt 3):647-55.

91. Hellsten Y, Frandsen U, Orthenblad N, Sjødin B, Richter EA. Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation. *J Physiol.* 1997 Jan 1;498 (Pt 1):239-48.
92. Willoughby DS, McFarlin B, Bois C. Interleukin-6 expression after repeated bouts of eccentric exercise. *Int J Sports Med.* 2003 Jan;24(1):15-21.
93. Strassmann G, Patil-Koota V, Finkelman F, Fong M, Kambayashi T. Evidence for the involvement of interleukin 10 in the differential deactivation of murine peritoneal macrophages by prostaglandin E2. *J Exp Med.* 1994 Dec 1;180(6):2365-70.
94. Hirose L, Nosaka K, Newton M, Laveder A, Kano M, Peake J, Suzuki K. Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. *Exerc Immunol Rev.* 2004;10:75-90
95. Bergfors M, Barnekow-Bergkvist M, Kalezic N, Lyskov E, Eriksson JW. Short-term effects of repetitive arm work and dynamic exercise on glucose metabolism and insulin sensitivity. *Acta Physiol Scand.* 2005 Apr;183(4):345-56.
96. Nielsen HB, Secher NH, Christensen NJ, Pedersen BK. Lymphocytes and NK cell activity during repeated bouts of maximal exercise. *Am J Physiol.* 1996 Jul;271(1 Pt 2):R222-7.
97. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Kavouras S, Stefanadis C; ATTICA Study. The associations between leisure-time physical activity and inflammatory and coagulation markers related to cardiovascular disease: the ATTICA Study. *Prev Med.* 2005 Apr;40(4):432-7.
98. Kohut ML, McCann DA, Russell DW, Konopka DN, Cunnick JE, Franke WD, Castillo MC, Reighard AE, Vanderah E. Aerobic exercise, but not flexibility/resistance exercise, reduces serum IL-18, CRP, and IL-6 independent of beta-blockers, BMI, and psychosocial factors in older adults. *Brain Behav Immun.* 2006 May;20(3):201-9.
99. Ronsén O, Holm K, Staff H, Opstad PK, Pedersen BK, Bahr R. No effect of seasonal variation in training load on immuno-endocrine responses to acute exhaustive exercise. *Scand J Med Sci Sports.* 2001 Jun;11(3):141-8.
100. Nicklas BJ, Ambrosius W, Messier SP, Miller GD, Penninx BW, Loeser RF, Palla S, Bleecker E, Pahor M. Diet-induced weight loss, exercise, and chronic inflammation in older, obese adults: a randomized controlled clinical trial. *Am J Clin Nutr.* 2004 Apr;79(4):544-51.
101. Bruunsgaard H, Bjerregaard E, Schroll M, Pedersen BK. Muscle strength after resistance training is inversely correlated with baseline

- levels of soluble tumor necrosis factor receptors in the oldest old. *J Am Geriatr Soc.* 2004 Feb;52(2):237-41.
102. Keller C, Steensberg A, Hansen AK, Fischer CP, Plomgaard P, Pedersen BK. Effect of exercise, training, and glycogen availability on IL-6 receptor expression in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2005 Dec;99(6):2075-9.
 103. Banks WA, Kastin AJ, Gutierrez EG. Penetration of interleukin-6 across the murine blood-brain barrier. *Neurosci Lett.* 1994 Sep 26;179(1-2):53-6.
 104. Spangelo BL, Judd AM, MacLeod RM, Goodman DW, Isakson PC. Endotoxin-induced release of interleukin-6 from rat medial basal hypothalami. *Endocrinology.* 1990 Oct;127(4):1779-85.
 105. Benveniste EN. Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1998 Sep-Dec;9(3-4):259-75.
 106. Van Wagoner NJ, Oh JW, Repovic P, Benveniste EN. Interleukin-6 (IL-6) production by astrocytes: autocrine regulation by IL-6 and the soluble IL-6 receptor. *J Neurosci.* 1999 Jul 1;19(13):5236-44.
 107. Steensberg A, Toft AD, Schjerling P, Halkjaer-Kristensen J, Pedersen BK. Plasma interleukin-6 during strenuous exercise: role of epinephrine. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001 Sep;281(3):C1001-4.
 108. Schöbitz B, de Kloet ER, Sutanto W, Holsboer F. Cellular localization of interleukin 6 mRNA and interleukin 6 receptor mRNA in rat brain. *Eur J Neurosci.* 1993 Nov 1;5(11):1426-35.
 109. Shizuya K, Komori T, Fujiwara R, Miyahara S, Ohmori M, Nomura J. The expressions of mRNAs for interleukin-6 (IL-6) and the IL-6 receptor (IL-6R) in the rat hypothalamus and midbrain during restraint stress. *Life Sci.* 1998;62(25):2315-20.
 110. Davis JM, Bailey SP. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 1997 Jan;29(1):45-57.
 111. Steensberg A, Dalsgaard MK, Secher NH, Pedersen BK. Cerebrospinal fluid IL-6, HSP72, and TNF-alpha in exercising humans. *Brain Behav Immun.* 2006 Nov;20(6):585-9.
 112. Romero LI, Kakucska I, Lechan RM, Reichlin S. Interleukin-6 (IL-6) is secreted from the brain after intracerebroventricular injection of IL 1 beta in rats. *Am J Physiol.* 1996 Mar;270(3 Pt 2):R518-24.

ÖZGEÇMİŞ

Yüksek lisans öğrencisi Mehmet KILIÇ, 16.06.1980 tarihinde Antalya İlinde doğmuştur. İlköğrenimini, orta ve lise öğrenimini Antalya’da tamamlamıştır. 1998 yılında girdiği Dokuz Eylül Üniversitesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu’ndan 2003 yılında Fizyoterapist unvanıyla mezun olmuştur. 2005 yılında Akdeniz Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu Hareket ve Antrenman Bilimleri Anabilim Dalında başladığı yüksek lisans programına devam etmekte ve “Antrenmanın Sıçanlarda Yüklenme ve Toparlanma Dönemindeki Il-6 Düzeyine Etkisinin Değerlendirilmesi” isimli yüksek lisans tezini hazırlamaktadır.