



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**UZUN SÜRELİ SUALTI RAGBİ
ANTRENMANLARININ SERUM PARAOKSONAZ
ENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ VE PON1 VE
PON2 POLİMORFİZMİNİN ROLÜ**

Doktora Tezi

Oya YİĞİTTÜRK

Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**UZUN SÜRELİ SUALTI RAGBİ
ANTRENMANLARININ SERUM PARAOKSONAZ
ENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ VE PON1 VE
PON2 POLİMORFİZMİNİN ROLÜ**

Oya YİĞİTTÜRK

Danışman
Doç.Dr. Faruk TURGAY

Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı
Spor Bilimleri Doktora Programı

İzmir
2019

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Doç.Dr. Faruk TURGAY



(Danışman)

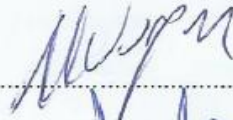
Üye : Prof.Dr. Oğuz KARAMIZRAK



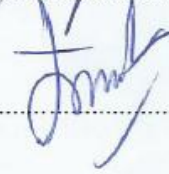
Üye : Prof.Dr. Muzaffer ÇOLAKOĞLU



Üye : Dr.Öğr. Üyesi Hikmet VURGUN



Üye : Dr.Öğr. Üyesi Turan IŞIK



Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 29.08.2019

Önsöz

Kardiyovasküler hastalıklar dünya çapında ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Antioksidan ve antiaterosklerotik özelliklere sahip paraoksonaz enzimleri bu hastalıkların risk faktörü olarak sayılmaktadır. Literatürde uzun süreli sualtı ragbi antrenmanlarının paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve bu muhtemel etkilerde PON1 ve PON2 polimorfizmlerinin rolleri belirsizdir. Tezin her aşamasında çok büyük desteği olan danışman hocam Doç. Dr. Faruk Turgay'ın yönlendirmesi ile çıktığım bu bilim yolculuğunda elde ettiğimiz bilgiler, bu konularda literatürdeki mevcut boşluğu dolduracak olup, benzer çalışmalar için önemli bir referans olacaktır. Bu çalışma aynı zamanda Türk popülasyonunda bu konuda yapılmış ilk çalışma olacaktır. Belirtilen çalışma sonuçlarının kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi ve egzersizle tedavisi konularında önemli katkılar sağlayacağını düşünüyoruz.

Araştırma Ege Üniversitesi EBİLTEM Birimi tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

Özet

Uzun Süreli Sualtı Ragbi Antrenmanlarının Serum Paraoksonaz Enzimleri Üzerine Etkileri ve PON1 ve PON2 Polimorfizminin Rolü

Bu çalışmada iyi antrene erkek sporcu grubu (SG, 21.7±4.2 yaş, n=42) ve kontrol grubu (KG, 23.9±3.2 yaş, n=43)'nda uzun süreli sualtı ragbi (USAR) antrenmanlarının kan paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve bu etkilerde PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü araştırıldı.

Tokluk kanlarından; serum PON1, PON2, PON3 ve okside LDL (oksLDL) düzeyleri (enzim bağlantılı immüno sorbent assay; ELİSA yöntemiyle), nitrik oksit (NO) ve plazma tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddeler (TBARS) düzeyleri, serum PON1 (PON1EA), tuzla stimule PON1 (TSPON1) ve arilesteraz (AREST) aktiviteleri, genomik DNA örneklerinden PON1-Q192R, PON1-L55M ve PON2-A148G, PON2-S311C ve eNOS3 intron 4a/b polimorfizmleri belirlendi.

Tüm SG'lerin PON3 (p=0,000), çoğu (genotip yada diğer) grupların oksLDL (p=0,000) ve TBARS (p=0,013) değerleri KG'ninkilerden daha büyüktü. Sporcularda: PON2-A148G'nin G taşıyıcı (GT) grubunun PON1 ve PON2 düzeyleri (p=0,016, p=0,010) ve PON1-Q192R'nin QQ grubunun PON1EA'sı KG'ninkilerden daha büyüktü (p=0,005) ve ilgili polimorfizmlerle ilişkiliydi. PON1-Q192R'de R taşıyıcısının (p=0,005) ve LL grubunun AREST aktivitesi (p=0,002) KG'ninkilerden anlamlı olarak daha küçüktü ve polimorfizmleriyle ilişkiliydi. Gruplar arasında NO düzeyleri için anlamlı bir fark ve bunda polimorfizminin bir rolü bulunmadı. Kontrol gruplarında: PON2-A148G'de AA'nın PON2 düzeyi GT'ninkinden, PON1-L55M'de LL'nin AREST aktivitesi M taşıyıcısınıninkinden, PON2-S311C'nin CC grubunun bazal kan yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K) düzeyleri S taşıyıcısınıninkinden anlamlı olarak büyüktü.

Sonuçlar; USAR antrenmanları; a) oksidatif stres yaratabilir ve buna ilk antioksidan yanıt PON3'deki bir artış şeklinde olabilir, b) polimorfizm ile ilişkili bir PON2 ve PON1EA artışına ve AREST aktivitesinde bir düşmeye neden olabilir. Kontrol genotip gruplarında; serum PON2 ve HDL-K düzeylerindeki ve AREST aktivitesindeki farklılıklarda belirtilen polimorfizmlerin rolü olabilir.

Anahtar Kelimeler; Sualtı Ragbi; Paraoksonaz ailesi; Paraoksonaz polimorfizmi; Nitrik oksit; Nitrik oksit eNOS3 intron 4a/b polimorfizmi

Abstract

The Effects of Long-time Underwater Rugby Training on Serum Paraoxonase Enzymes and The Role of PON1 and PON2 Polymorphisms

The aim of this study was to compare a well-trained male athlete group (AG, 21.7±4.2 age, n=42) with a control group (CG, 23.9±3.2 age, n=43) and to study the effects of long-time underwater rugby training (LUWRT) on serum paraoxonase enzymes and the role of PON1 and PON2 polymorphisms.

Postprandial blood examples were used to determine levels of protein levels of PON1, PON2 and PON3 and oxidised LDL (oxLDL) (were determined by enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA method), nitric oxide (NO) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels, PON1 enzyme (PON1EA), salt-stimulated PON1 (SSPON1) and arylesterase (ARE) activities and PON1-Q192R, PON1-L55M and PON2-A148G, PON2-S311C and NOS3 intron 4a/b polymorphisms (were determined from genomic DNA samples).

All AG's PON3 (p=0.000), mostly (genotype or other) groups oxLDL (p=0.000) and TBARS (p=0.013) values were higher than the CG. The PON1 and PON2 levels of the G carriers (Gc) of athletes at PON2-A148G were significantly higher (p=0.016, p=0.010) than the CG, which was related to the specified polymorphism. The PON1EA of QQ group at PON1-Q192R was higher than the CG (p=0.005). The ARE activity of Rc at PON1-Q192R (p=0.005) and LL group (p=0.002) at PON1-L55M were significantly lower than the CG, which were related to the specified polymorphisms. It has no significantly differences between the groups for NO, the role of NO's polymorphism wasn't found in the results. In control groups: at PON2-A148G, the PON2 level of AA group was higher than the Gc, the ARE activity of LL group at PON1-L55M was higher than the Mc, the basal high density lipoprotein level cholesterol (HDL-C) of CC group at PON2-S311C was higher than in the Sc.

Results; LUWRT a) causes significant oxidative stress and the primarily antioxidant response to this is an increase in PON3 levels, b) leads to increase of PON2 and the PON1EA and the decrease of ARE activity, could be related to the specified polymorphism. The differences in basal blood PON2, HDL-C and ARE activity may be related to the stated polymorphisms.

Keywords; Underwater Rugby; Paraoxonase; Paroxonase polymorphism; Nitric oxide; Nitric oxide eNOS3 intron 4a/b polymorphism



İçindekiler

Önsöz	II
Özet	III
Abstract.....	IV
İçindekiler	VI
Tablolar Dizini.....	X
Kısaltma Listesi	XII
Giriş	1
1.1. Araştırmanın Problemi.....	1
1.2. Araştırmanın Sorusu	4
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	4
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	5
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları	5
1.6. Araştırmanın Amacı	5
Genel Bilgiler	7
2.1. Paraoksonaz.....	7
2.1.1. Paraoksonaz'ın Yapısı	7
2.1.2. Paraoksonaz'ın Fonksiyonları	8
2.1.3. Paraoksonaz'ın Genetik Polimorfizmleri.....	9
2.2. Lipoproteinler.....	10
2.3. Ateroskleroz.....	10
2.4. PON'un HDL ile Bağlantısı ve Ateroskleroz ile İlişkisi.....	11
2.5. Nitrik Oksit	12
2.5.1. Nitrik Oksit'in Sentezi	13
2.5.2. Nitrik Oksit'in Fonksiyonları.....	14
2.5.3. Nitrik Oksit'in Polimorfizmleri	15
2.6. Oksidatif Stres	16
2.7. Lipid Peroksidasyonu	16
2.8. Sualtı Ragbi	18
Gereç ve Yöntem	19
3.1. Araştırmanın Tipi	19
3.2. Araç ve Gereçler.....	19
3.2.1. Cihazlar	19

3.2.2. Kimyasal Maddeler	20
3.2.3. Analiz Kitleri	20
3.2.4. Kullanılan Gereçler	21
3.3. Yöntem	21
3.3.1. Katılımcıların Ön Seçimi.....	21
3.3.2. Çalışma Grupları	22
3.4. Fiziksel ve Fizyolojik Ölçüm Yöntemleri.....	22
3.4.1. Fiziksel Ölçüm Yöntemleri.....	22
3.4.2. Fizyolojik Ölçüm Yöntemleri.....	23
3.5. Örneklerin Toplanması ve Saklanması.....	23
3.6. Biyokimyasal Analizler	23
3.6.1. PON1 Düzeyinin Belirlenmesi.....	24
3.6.1.1. Yöntemin İlkesi	24
3.6.1.2. Analiz Tekniği	24
3.6.2. PON2 Düzeyinin Belirlenmesi.....	25
3.6.3. PON3 Düzeyinin Belirlenmesi.....	25
3.6.3.1. Yöntemin İlkesi	25
3.6.3.2. Analiz Tekniği	25
3.6.4. oksLDL Düzeyinin Belirlenmesi	26
3.6.5. PON1 Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	26
3.6.5.1. Yöntemin İlkesi	26
3.6.5.2. Çalışma Reaktifi.....	26
3.6.5.3. Analiz Tekniği	27
3.6.6. Tuzla Stimüle PON1 Aktivitesinin Belirlenmesi	27
3.6.7. AREST Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	27
3.6.7.1. Analiz Tekniği	27
3.6.8. Nitrik Oksit Düzeyinin Belirlenmesi	28
3.6.8.1. Yöntemin İlkesi	28
3.6.8.2. Kullanılan Reaktifler	29
3.6.8.3. Analiz Tekniği	29
3.6.9. Tiyobarbütirik Asid ile Reaksiyona Giren Maddelerin Belirlenmesi	30
3.6.9.1. Yöntemin İlkesi	30
3.6.9.2. Çalışma Reaktifi.....	30

3.6.9.3. Analiz Tekniği	30
3.6.10. Polimorfizmlerin Belirlenmesi	31
3.6.10.1 Genotipleme	31
3.6.10.2. PCR Aşaması	31
3.6.10.3. PCR Ürünlerinden RFLP ile Polimorfizmlerin Belirlenmesi	34
3.6.11. Diğer Biyokimya Parametrelerinin Analizleri	34
3.7. İstatistiksel Analizler	34
Bulgular.....	36
4.1. Sporcu ve Kontrol Gruplarının Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular	36
4.2. Polimorfizmlerin Genotiplemesinin Oluşturulmasına İlişkin Bulgular	39
4.2.1. Total Genotip Gruplarına Ait Bulgular.....	42
4.2.2. PON1-Q192R Genotiplemesine Göre Genotip Grupların Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular	47
4.2.3. PON1-L55M Genotiplemesine Göre Genotip Grupların Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular	50
4.2.4. PON2-A148G Genotiplemesine Göre Genotip Grupların Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular	53
4.2.5. PON2-S311C Genotiplemesine Göre Genotip Grupların Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular	56
4.2.6. eNOS3 intron 4a/b Genotiplemesine Göre Genotip Grupların Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular	59
4.3. Sporcu Grubunun Korelasyon Analiz Sonuçları	62
4.4. Kontrol Grubunun Korelasyon Analiz Sonuçları.....	65
Tartışma	68
5.1. USAR Antrenmanlarının PON Ailesi (PON1, PON2 ve PON3) Protein Düzeyleri ve PON1 Aktivitesi Üzerine Etkisi	69
5.2. USAR Antrenmanlarının Klasik KKH Risk Faktörleri (kan lipid ve lipoproteinleri) Üzerine Etkisi ve PON1 ve PON2 Polimorfizmlerinin Rolü	75
5.3. USAR Antrenmanlarının Kan NO Düzeyleri Üzerine Etkisi ve eNOS3 intron 4a/b Polimorfizminin Rolü	77
Sonuç ve Öneriler	81
Kaynaklar	82
Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi.....	95

Ek 2. Gönüllü Onam Formu (Çocuklar için)	97
Ek 3. Gönüllü Onam Formu (Yetişkinler için).....	101
Ek 4. Olgu Rapor Formu.....	105
Ek 5. EBİLTEM Proje Final Raporu Kabul Yazısı.....	106
Teşekkür	107
Özgeçmiş	108



Tablolar Dizini

Tablo 1. Çalışmada kullanılan cihazlar

Tablo 2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Tablo 3. Çalışmada kullanılan analiz kitleri

Tablo 4. PON1-Q192R polimorfizminin PCR optimizasyon koşulları

Tablo 5. PON1-L55M polimorfizminin PCR optimizasyon koşulları

Tablo 6. PON2-A148G, PON2-S311C ve eNOS intron 4a/b polimorfizmlerinin PCR optimizasyon koşulları

Tablo 7. Katılımcıların fiziksel ve fizyolojik parametreleri (Ort±SD)

Tablo 8. Katılımcıların PON1, PON2, PON3 ve oxLDL protein değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 9. Katılımcıların paraoksonaz, AREST enzim aktiviteleri ve NO ve TBARS değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 10. Sporcu ve kontrol gruplarının KKH klasik risk faktörleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 11. Katılımcıların Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 12. Polimorfizmlerin genotip ve allelik frekansları

Tablo 13. Total genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler (Ort±SD)

Tablo 14. Total genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 15. Total genotip gruplarına ait paraoksonaz ve AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 16. Total genotip gruplarına ait Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 17. PON1-192 genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 18. PON1-192 genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS düzeyleri, paraoksonaz ve AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 19. PON1-55 genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 20. PON1-55 genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS düzeyleri, paraoksonaz ve AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 21. PON2-148 genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 22. PON2-148 genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS düzeyleri, paraoksonaz ve AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 23. PON2-311 genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 24. PON2-311 genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS düzeyleri, paraoksonaz ve AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 25. eNOS3 intron genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler (Ort. ±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 26. eNOS3 intron genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS düzeyleri, paraoksonaz ve AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort. ±SD) ve karşılaştırılması

Tablo 27. Sporcu grubunun fiziksel ve fizyolojik parametreleri ile biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi ($n=42$).

Tablo 28. Sporcu grubunun biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi ($n=42$)

Tablo 29. Kontrol grubunun fiziksel ve fizyolojik parametreleri ile biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi ($n=43$).

Tablo 30. Kontrol grubunun biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi ($n=43$).

Kısaltma Listesi

Ala (A)	:	alanin
ALT	:	alanin amino transferaz
AREST	:	aril esteraz
arg (R)	:	arjinin
AST	:	aspartat amino transferaz
Cys (C)	:	sistein
eNOS	:	endotel nitrik oksit sentaz
glu (Q)	:	glutamin
Gly (G)	:	glisin
Hb	:	Hemoglobin
Hct	:	Hematokrit
HDL	:	yüksek yoğunluklu lipoprotein
iNOS	:	indüklenebilir nitrik oksit sentaz
KG	:	kontrol grubu
KH	:	kritik hız
KKH	:	koroner kalp hastalığı
LDL	:	düşük dansiteli lipoprotein
Leu (L)	:	lösin
MCV	:	ortalama eritrosit hacmi
Met (M)	:	metiyonin
NO	:	nitrik oksit
NOS	:	nitrik oksit sentaz
nNOS	:	nöronal nitrik oksit sentaz
OD	:	optik dansite

oksLDL	:	okside düşük dansiteli lipoprotein
PLT	:	platelet (trombosit)
PON	:	paraoksonaz
PON1EA	:	paraoksonaz enzim aktivitesi
RBC	:	kırmızı kan hücresi (eritrosit)
ROT	:	reaktif oksijen türleri
Ser (S)	:	serin
SG	:	sporcu grubu
T	:	Total
TBARS	:	tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri
TG	:	trigliserid
T-K	:	total kolesterol
TSPON1	:	tuzla stimule paraoksonaz
USAR	:	uzun süreli sualtı ragbi
VA	:	vücut ağırlığı
VKİ	:	vücut kitle indeksi
VNTR	:	değişken sayıda ardışık tekrarlar (variable number of tandem repeats)
WBC	:	lökosit

Giriş

1.1. Araştırmanın Problemi

Koroner kalp hastalığı (KKH) dünyada ve ülkemizde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Pasif yaşam biçimi, obezite, sigara alışkanlığı, hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabet ve genetik yatkınlık gibi klasik risk faktörlerinin (Mahley RW., 1993; H R Superko, 1991; Thompson, 1990) yanı sıra çoğu yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)'in yapısında yer alan antiaterosklerotik ve antioksidan özellikteki; paraoksonaz enzimleri (PON1 ve PON3) esas olarak hücre içinde görev yapan PON2'nin protein düzeyleri ve PON1 ve aril esteraz (AREST) aktiviteleri (Gan, Smolen, Eckerson, & La Du, 1991; Michael I. Mackness, Arrol, Abbott, & Durrington, 1993; Walker & Mackness, 1987) ile endotel ve kas dokusu dahil birçok dokudan salınan nitrik oksit (NO) (Kingwell, 2002; Reid, 2001) gibi nispeten daha yeni risk faktörlerinin de KKH ile ilişkili olduğu belirtilmektedir.

Sualtı Ragbi sporunda sporcular antrenmanları esnasında; hipoksi, hidrostatik basınç, ısı gibi fizyolojik ve oksidatif streslere (Cavas, 2005) maruz kalırlar. Oksidan stres okside düşük dansiteli lipoprotein (oksLDL) oluşumuna neden olur, o da diğer risk faktörleriyle birlikte endotel fonksiyonun bozulmasına ve dolayısıyla atereosklerozun gelişimine zemin hazırlar.

Paraoksonaz ailesine mensup enzimler; PON1, PON2 ve PON3 antioksidan ve antiaterosklerotik özellik taşırlar. Bu nedenle hem LDL hem de HDL'nin oksidasyonunun önlenmesinde önemli rol oynadıkları belirtilmektedir (Grdic Rajkovic, Rumora, & Barisic, 2011; Walker & Mackness, 1987). PON3 mRNA'sı karaciğerde sentez edilirken, PON1 mRNA'sı hem karaciğer hem de böbrek de sentez edilmektedir. PON2 mRNA'sı ise PON1 ve PON3'den farklı olarak böbrek, karaciğer, akciğer, mide, plesanta ve kas gibi birçok dokuda sentez edilmektedir (Grdic Rajkovic et al., 2011). Hücre içi bir enzim olduğu için PON2'nin serum düzeyleri PON1 ve PON3'ünkinden daha düşüktür. Her üç PON enzimi de antioksidan özellikte olup farklı lokasyon ve farklı enzim aktiviteleri ve fonksiyonlara sahiptir.

PON1 zehirli bir organofosfat bileşiği olan paraoksonun yanı sıra fenil asetatı da hidroliz etme kapasitesine sahip bir enzimdir. Substratı paraokson olan formuna paraoksonaz, fenil asetat olana ise aril esteraz adı verilmektedir (Gan et al., 1991).

Aterosklerozun oluşumunda koruyucu etkileri olduğu bilinen HDL'nin antioksidan özelliğininin bir kısmının, yapısındaki apo A1 ve apo J üzerinde yer alan PON1'den kaynaklandığı belirtilmektedir (Gan et al., 1991; Michael I. Mackness et al., 1993; Walker & Mackness, 1987). Ayrıca aterojenik role sahip LDL'nin oksidatif modifikasyonunu önlemede belirtilen PON enzimlerinin yer aldığı ve bunların KKH ile ilişkili oldukları (Adkins, Gan, Modyt, & Dut, 1993; Gan et al., 1991; Grdic Rajkovic et al., 2011; Li, Liu, & Liang, 2003; B. Mackness, Durrington, & Mackness, 1998; Michael I. Mackness et al., 1993) öne sürülmektedir.

PON1, PON2 ve PON3 enzim polimorfizmlerinin, aminoasit sekanslarında oluşan yer değişimlerine dayalı olarak meydana geldiği belirtilmektedir (Grdic Rajkovic et al., 2011). Örneğin PON1 yapısındaki 192. pozisyondaki glutaminin (glu), arjinin (arg) ile yer değiştirmesi PON1-192 polimorfizmine neden olmaktadır. 192. pozisyonda glutamin bulunan formuna Q, arjinin bulunana ise R fenotipi adı verilmektedir. 192 (glu→arg) polimorfizminin zehirli organofosfat bileşiklerini hidroliz etmede ve aterosklerozla karşı korumada kişisel farklılıklara neden olduğu belirtilmektedir. Q alleleline sahip kişilerin, R alleleline sahip olanlara göre daha antiaterojenik lipid ve lipoprotein profili gösterdikleri, LDL oksidasyonuna karşı daha dirençli olmaları nedeniyle daha düşük ateroskleroz riski taşıdıkları belirtilmektedir (Durrington, Mackness, & Mackness, 2001; B. Mackness et al., 1998; Sentí et al., 2000).

PON1 ve PON2'nin polimorfizmleri PON1 örneğindeki gibi farklı fonksiyonel sonuçlar yaratırken, PON3'ünkilerin sonuçları henüz belirsizdir. Her üç PON enziminin de antiaterosklerotik ve antioksidan özellikte olduğu ve LDL oksidasyonunu önlediği belirtilmektedir (Grdic Rajkovic et al., 2011).

Diğer bir KKH risk faktörü olan NO, antioksidan, vazodilatör ve bir çok metabolik regülatör özelliklere sahip bir gazdır. NO, insanda çeşitli kaynaklardan endojen olarak üretilir. En önemli kaynak L-arjinindir. Arjinin, sitrülün ve NO oluşturmak üzere NO sentaz enzimi (NOS) tarafından okside edilir.

NOS'un en az üç izoenzimi vardır. Bunlardan biri hemen hemen tamamen vasküler endotelde (eNOS) yer alır ve kan damarlarının relaksasyonunu sağlayan NO'yu salgılar. Bu nedenle kan basıncının önemli bir belirleyicisidir. İkincisi indüklenebilir NOS (iNOS) inflamasyon ve enfeksiyona cevap olarak makrofajlar ve diğer birçok hücre tiplerinde üretilir. Üçüncü bir enzim nöronal NOS (nNOS) beyinde, nöronal

dokuda ve iskelet kası gibi dokularda bulunur. eNOS ve nNOS yapısal olarak sürekli eksprese edilir (Grange et al., 2001; Stamler & Meissner, 2001) ve iskelet kasında daha fazladır. nNOS ekspresyonu ezilme ve şiddetli yaralanma ile ve kassal aktivite ile artar. Vasküler ve kas nNOS'u kronik egzersizle artar (Kingwell, 2000). Tüm izoformlarının salınımı hipoksi ile transkripsiyon olarak regüle edilebilir. Bu nedenle Sualtı ragbisi gibi hipoksik stres koşullarındaki egzersizlerde NO çokça üretilebilir ve KKH risk faktörleri üzerinde diğer sporlardan farklı rolleri olabilir. Çünkü NO'nun egzersiz esnasında; kan akımı, glikozun insülininden bağımsız olarak hücre içine alınımı, glikoliz, mitokondriyal solunum, fosfokreatinin yıkımının ve kas kasılmasının düzenlenmesi gibi fonksiyonlarda rol aldığı belirtilmektedir (Kingwell, 2000).

Aerobik egzersizin belirtilen klasik KKH risk faktörleri üzerinde iyileştirici etkileri olduğu bilinmektedir (Sentí et al., 2000; H R Superko, 1991; Tomás et al., 2002; Turgay, Karamızrak, İşleğen, Sessiz, & Acarbay, 2002). PON1 enziminin düzenli aerobik egzersizler esnasında arttığı ve PON1-192 polimorfizminin egzersizin bu etkiyi modifiye ettiği bilinmektedir (Tomás et al., 2002).

NO'nun oksidatif stresin çok fazla arttığı koşullar altında oksidan maddelere dönüşebildiği ve ayrıca oksidatif stresin hem NO'nun (Kingwell, 2000; Sentí et al., 2000) biyoyararlılığını azalttığı hem de PON1 aktivitesini düşürdüğü bilinmektedir (Tomás et al., 2002).

Sualtı ragbi antrenmanları hipoksik doğası gereği oksidatif stres yaratarak PON1 enzimlerini ve NO düzeylerini etkileyebilir. Ayrıca çeşitli toplumlarda eNOS3 intron 4a/b polimorfizminin plazma NO konsantrasyonu ve KKH ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Ekmekçi et al., 2013). Bu nedenle sualtı ragbi antrenmanlarının kan NO düzeylerine muhtemel etkisi de farklı olabilir. Bu da bazı kişilerde KKH için ilave bir risk faktörü anlamına gelir.

Literatürde uzun süreli sualtı ragbi (USAR) antrenmanlarının PON1, PON2 ve PON3 enzimleri, PON1, TSPON1 ve AREST enzim aktiviteleri, oksLDL ve NO düzeyleri üzerine etkileri ve bu muhtemel etkilerde PON1-Q192R, PON1-L55M, PON2-A148G ve PON2-S311C ile eNOS3 intron 4a/b polimorfizmlerinin rolleri belirsizdir. Bu bilgiler bu konularda literatürdeki mevcut boşluğu dolduracak olup, benzer çalışmalar için önemli bir referans olacaktır. Bu çalışma aynı zamanda Türk popülasyonunda bu konuda yapılmış ilk çalışma olacaktır. Belirtilen çalışma

sonuçlarının KKH'ın önlenmesi ve egzersizle tedavisi konularında önemli katkılar sağlayacağını düşünüyoruz.

1.2. Araştırmanın Sorusu

- 1.** USAR antrenmanlarının kan lipid ve lipoproteinleri üzerine etkisi var mıdır? Bu muhtemel etkide belirtilen PON1 ve PON2 polimorfizmlerinin modifiye edici bir rolü var mıdır?
- 2.** USAR antrenmanların serum PON1, PON2 ve PON3 düzeyleri üzerine etkisi var mıdır? Bu muhtemel etkide yukarıda belirtilen polimorfizmlerin modifiye edici bir rolü var mıdır?
- 3.** USAR antrenmanlarının PON1, TSPON1 ve AREST aktiviteleri üzerine etkisi var mıdır? Bu muhtemel etkide yukarıda belirtilen polimorfizmlerin modifiye edici bir rolü var mıdır?
- 4.** USAR antrenmanlarının oksLDL ve TBARS düzeyleri üzerine etkisi var mıdır? Bu muhtemel etkide yukarıda belirtilen polimorfizmlerin modifiye edici bir rolü var mıdır?
- 5.** USAR antrenmanlarının kan NO düzeyleri üzerine etkisi var mıdır? Bu muhtemel etkide yukarıda eNOS3 intron 4a/b polimorfizminin modifiye edici bir rolü var mıdır?
- 6.** PON1, PON2 ve PON3 enzim düzeyleri ile AREST ve PON1 aktiviteleri ve oksidatif stres göstergeleri (okslDL, TBARS ve NO düzeyleri) arasında ilişki var mıdır?
- 7.** Belirtilen polimorfizmler ile bazal lipid ve lipoprotein düzeyleri arasındaki ilişki var mıdır?
- 8.** Serum PON1, PON2 ve PON3 enzim düzeyleri ile AREST ve PON1 aktiviteleri ve oksidatif stres göstergeleri (okslDL ve TBARS düzeyleri) ve NO parametrelerinin bazal değerleri ile belirtilen polimorfizmler arasında ilişki var mıdır?

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

Bir parametre için sporcu ve sedanter grup arasındaki fark antrenman etkisi olarak kabul edildiğinde:

- 1.** Sualtı ragbi antrenmanları hem kan paraoksonaz enzim konsantrasyonlarını hem de PON1, TSPON1 ve AREST enzim aktivitelerini ve NO düzeylerini anlamlı olarak

arttırır. Bu parametrelerdeki artışlarda ilişkili polimorfizmlerin modifiye edici bir rolü vardır.

2. PON1 enzim proteini ile PON1, TSPON1 ve AREST enzim aktiviteleri arasında anlamlı pozitif ilişkiler vardır.

3. PON1 ve PON3 enzim miktarları arasında anlamlı pozitif ilişkiler vardır.

4. Sualtı ragbi antrenmanlarının oksidatif stres göstergeleri (oksLDL ve TBARS) üzerinde anlamlı iyileştirici bir etkisi vardır.

5. Oksidatif stres göstergeleri (TBARS ve oksLDL) ile paraoksonaz enzim düzeyleri, PON1, TSPON1 ve AREST enzim aktiviteleri ve NO arasında anlamlı negatif bir ilişki vardır.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

1. Katılımcıların verdikleri beyana göre test sonuçlarını etkileyebilecek ve antioksidan savunma sistemini destekleyecek herhangi bir madde kullanmadıkları varsayılmıştır.

2. Katılımcılara önceden verilen bilgilere uydukları varsayılarak, biyokimyasal analizlere en az 3-4 saatlik bir açlık sonrası katıldıkları varsayılmıştır.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

1. Elit sualtı ragbi sporcu sayısının az olması nedeniyle örneklem grubu sınırlı kalmıştır.

2. Çalışmaya katılanların günlük diyetleri kontrol edilmemiştir ancak bir hafta öncesinden diyetlerini fazla değiştirmemeleri konusunda uyarılmışlardır. Çalışma gruplarının belirli bir diyetisyen kontrolünde beslenmelerinin daha net sonuçlar getireceği düşünülmektedir.

3. Çalışma konusu ile ilgili literatürün az olması nedeniyle tartışma, olan literatürle sınırlı kalmıştır.

1.6. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmanın temel amacı; iyi antrene erkek sporcularda USAR antrenmanlarının kan paraoksonaz enzimleri (PON1, PON2 ve PON3), PON1, TSPON1 ve AREST enzim aktiviteleri, oksLDL ve TBARS düzeylerine etkileri ve bu muhtemel etkilerde belirtilen PON polimorfizmlerinin rolünü araştırmaktır. Bu çalışmanın ikincil amacı;

USAR antrenmanlarının kan NO düzeyleri üzerine etkisi ve bu olası etkide eNOS3 intron 4a/b polimorfizminin rolünü araştırmaktır.



Genel Bilgiler

2.1. Paraoksonaz

İnsan serumu, aril esteraz (AREST, EC 3.1.1.2) ve paraoksonaz (PON1, E.C 3.1.8.1) aktivitesine sahip tek gen ürünü enzim içermektedir. Substratı paraokson olan formuna PON1, fenil asetat olan formuna da AREST adı verilir (Gan et al., 1991). İnsan genomu PON2 ve PON3 denilen PON1 benzeri iki gen daha içermektedir (Primo-Parmo, Sorenson, Teiber, & La Du, 1996).

2.1.1. Paraoksonaz'ın Yapısı

İnsanda saflaştırılan serum paraoksonaz/arilesteraz enziminin minimal molekül ağırlığı 43,000 dalton'dur ve molekül başına 3 şeker zincirine kadar sahip olabilen bir glikoproteindir. Karbohidrat içeriği total ağırlığın %15.8'idir ve izoelektrik noktası 5.1'dir (Gan et al., 1991). İnsandan izole edilen paraoksonaz klonları tavşan paraoksonaz proteininden (359 aminoasit) 4 tane daha az aminoasit (355) içermektedir (Hassett et al., 1991). PON1 yapısında 3 sistein (Cysteine,Cys) kalıntısı vardır. Bunlar 42, 284 ve 353. pozisyonda yer alırlar. Cys-42 ve -353 formu bir disülfid bağı içerirken Cys-284 serbest sülfidril grubu içerir (Kuo & La Du, 1995).

PON1 (paraoksonaz/arilesteraz) kalsiyum bağımlı bir hidrolazdır. PON1 aktivitesi kalsiyum ile artarken çeşitli şelatlayıcı ajanlar (Örneğin EDTA), metal iyonları, SH-grupları tarafından inhibe olur (Erdös, Debay, & Westerman, 1960). PON1'in en kuvvetli inhibitörleri nadir toprak metalleridir. Çeşitli metal iyonları da enzimi korur ve aktif formda tutabilir ama fenil asetat ve paraokson ile katalitik aktiviteye sahip değildirler (Örneğin; Zn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+}). Kalsiyum iyonları serum PON1'in katalitik aktivitesinin yanısıra enzimin stabilitesi için de gereklidir. Hem insan hem de tavşan paraoksonazları 2 tane birbirinden bağımsız kalsiyum bağlayıcı siteye sahiptir. Düşük afiniteye sahip olan bölüm enzimin katalitik aktivitesi için gereklidir ve kalsiyum bağlantısı geridönüşümlüdür. Yüksek afiniteye sahip bölüm ise enzimin yapısal stabilitesi için gereklidir ve kalsiyumun uzaklaştırılması geridönüşümsüz inaktivasyona neden olur (Kuo & La Du, 1998).

PON1'in kristal yapısının belirlenmesinden sonra 2 hidrolitik aktivitenin de (arilesteraz ve paraoksonaz) farklı aktif site kalıntılarında katalizlenebildiği ortaya konuldu (Harel et al., 2004).

Sonuç olarak, PON1'in stabilitesi ve katalitik aktivitesi kalsiyum bağımlıdır ve PON1'de varsayılan Ca^{2+} bağlayan 3 döngünün (R. C. Sorenson et al., 1995) potansiyel kopyaları PON2'de de bulunmaktadır (Mochizuki et al., 1998). PON2, 44 kDa molekül ağırlığına sahiptir (Ng et al., 2001).

2.1.2. Paraoksonaz'ın Fonksiyonları

PON1 organofosfor insektisidlerini ve sinir gazlarını hidrolize eder ve memelilerde bu bileşenlerin seçici toksisitesinin belirlenmesinden sorumludur (B. Mackness et al., 1998). Çok etkili bir insektisid olan paraokson, günümüzde çok tehlikeli tarımsal kimyasal olarak bilinen parathion'un aktif formudur (S. D. Murphy, 1980). İnsan serum paraoksonazı (PON1) parathion, diazinon ve chlorpyrifos gibi birkaç insektisidi toksik okzon (oksijen analoglar) metabolitlerine hidroliz edebilir hatta sarin ve soman gibi sinir gazlarını da hidroliz edebilir (Broomfield & Ford, 1991; H. G. Davies et al., 1996).

Organofosfor bileşenleri asetilkolinesteraz enzimine müdahale ederek toksisitelerini ortaya koymakta ve bu enzime doğal substrata olan benzerliklerinden dolayı bağlanmaktadır. Sinir sisteminde bulunan bir nörotransmitter olan asetikolin sinir uçlarında işi bittikten sonra asetilkolinesteraz enzimi tarafından hidroliz edilmektedir. Organofosfor bileşenleri bu enzimi inhibe etmekte ve böylece asetikolin birikimi sinirin aşırı stimülasyonuna neden olmaktadır (Timbrell, 2002).

İnsan paraoksonazların 3'ü de laktonaz aktivitesi göstermektedir. Aromatik laktonlar gibi bazı substratları hidroliz ederler ancak farklı substrat spesifikliğine sahiptirler (Michael Aviram et al., 2000; Dragomir I. Draganov et al., 2005).

PON1 ile karşılaştırıldığında, PON3'de sınırlı arilesteraz aktivitesi bulunurken paraoksonaz aktivitesi bulunmamaktadır, fakat statin prodrog gibi lakton'ları çok hızlı hidrolize etmektedir (Dragomir I. Draganov, Stetson, Watson, Billecke, & La Du, 2000; Reddy et al., 2001).

PON2, PON1 ve PON3'e benzer antioksidan özelliklere sahiptir. PON1 ve PON3'e nazaran PON2, hücreleri oksidatif stresten koruyan intraselüler antioksidan enzimlerin bulunduğu (ev sahipliği yaptığı) yere girerek, antioksidan özelliklerini selüler seviyede ortaya çıkarmaktadır (Ng et al., 2001).

PON1 ağırlıklı olarak serum ve karaciğerde bulunur. Böbrekte düşük PON3 mesaj seviyeleri tespit edilmesine rağmen PON3 öncelikli olarak karaciğerde eksprese edilir (Reddy et al., 2001). PON2 hem birincil hem kalıcı (ölümsüz) insan endotel

hücrelerinde ve insan aort(ik) düz kas hücrelerinde bulunmaktadır. PON2 mRNA insanda kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, iskelet kası, plasenta, ince bağırsak, dalak, mide ve testis gibi neredeyse incelenen her dokuda tespit edilirken, en yüksek ekspresyon karaciğer, akciğer, plasenta, testis ve kalpte görüldü (Ng et al., 2001). 1998’de Mochizuki, Pima Kızılderilileri ve Beyaz ırk’ın kalp, beyin, plasenta, akciğer, karaciğer, iskelet kası, böbrek ve pankreas dokularının herbirinde PON2 mRNA tespit ederken, özellikle karaciğer, beyin ve kalpte yüksek seviyelerde buldu (Mochizuki et al., 1998).

2.1.3. Paraoksonaz’ın Genetik Polimorfizmleri

PON gen ailesinin insanda 3 üyesi vardır: PON1, PON2 ve PON3. Bunlar 7.kromozomun uzun koluna dizilidirler (q21.22). İnsan PON1, PON2 ve PON3’ü %70 benzerlikte olan PON benzeri bir gene sahiptir (Primo-Parmo et al., 1996).

İnsan plazma paraoksonaz aktivitesi genetik polimorfizm sergilemektedir (Geldmacher-von Mallinckrodt et al., 1973). Yüksek ve düşük serum paraoksonaz aktivitesi tek bir otozomal lokusta 2 allel tarafından kontrol edilmektedir (Playfer, Eze, Bullen, & Evans, 1976).

Paraokson hidroliz aktivitesi bireylerde değişkenlik göstermektedir. Bu değişkenliğin bir bölümünün kaynağı PON1 geninin polimorfizminde bulundu (Humbert et al., 1993). PON1 kodlayan sekansta en sık görülen iki polimorfizm şunlardır: 191. pozisyonda Gln(Q)/Arg(R) substitüsyonu ve 54. pozisyonda Leu(L)/Met(M) substitüsyonu (Adkins et al., 1993). Aynı pozisyonlar ‘55’ ve ‘192’ olarak da belirtilmiştir (Hassett et al., 1991; Humbert et al., 1993).

Adkins 1993’te, yapısal polimorfizmlerden birinin veya her ikisinin serum paraoksonaz fenotipik özellikleri ile uyuştuklarını tespit edebilmek için her bireyin serum paraoksonaz fenotipini DNA yapısal polimorfizmi ile karşılaştırmaya gerek duydu. Sadece aminoasit 191 pozisyonunda bulunan polimorfizm paraoksonaz genotip ve fenotipleri arasında beklenen korelasyonu gösterdi. A izoenzimin (düşük aktivite) 192. pozisyonu Glu ve B izoenzimin (yüksek aktivite) 192.pozisyonu Arg dir. Diğer aminoasit 54 substitüsyonunda polimorfizm etkisi görünmemiştir (Adkins et al., 1993). Bu durumda PON1 polimorfizm aktivitesinin ana belirleyicisi 192 polimorfizm pozisyonudur (B. Mackness et al., 1998).

PON 1 polimorfizmleri kodlayan bölgenin spesifik substratların hidrolizinin katalitik etkinlikleri üzerine etkisinin araştırılması sonucunda 55.pozisyonadaki L/M

polimorfizmin katalitik aktiviteyi etkilemediği ama PON1 protein seviyeleri ile (enzimin serum konsantrasyonundaki belirgin değişimi ile) bağlantılı olduğu bulundu (Blatter Garin et al. 1997; Mackness et al. 1998). Ayrıca 54. pozisyondaki polimorfizm KVH (kardiyovasküler hastalıklar)'nin ortaya çıkmasıyla bağlantılı bulundu (MC et al., 1997). PON1'in polimorfik değişim gösterdiği bilinmesine karşın AREST enzim aktivitesi için genetik polimorfik bir değişim gösterdiği rapor edilmemiştir (Eckerson, Wyte, & La Du, 1983).

Pima Kızılderilileri ve Beyaz ırkta PON2 kodlayan sekansta tespit edilen iki polimorfizm, transkript 1'den elde edilen proteinde öngörülen bir Ala147-Gly147 ve bir Ser310-Cys310 substitüsyonudur (Mochizuki et al., 1998). A148G polimorfizminin açlık plazma total ve LDL kolesterol seviyesi ve apolipoprotein (apo B) ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Hegele et al., 2008).

2.2. Lipoproteinler

'Plazma lipoproteinleri kompleks lipitler (trigliserit, kolesterol ve fosfolipitler) ve apolipoproteinler olarak bilinen bir ya da daha fazla spesifik proteini ifade eden suda çözünür (pseudomicellar partiküller) makromoleküller' olarak tanımlanmıştır. Plazma lipoproteinleri yoğunluk, büyüklük, elektroforetik mobilitelerine göre şilomikron, VLDL, IDL, LDL, HDL ve LP(a) olarak sınıflandırılmışlar (Mahley, Innerarity, Rall, & Weisgraber, 1984). Trigliserit ve kolesterol esterlerinden oluşan suda çözünmez (nonpolar) içe bakan çekirdek kısmının etrafını, dışa bakan çözünür (polar) protein grupları, fosfolipitler ve serbest kolesterol çevirmektedir (Crook, 2018).

Lipoproteinlerin başlıca görevi taşıdıkları lipit bileşenleri vücudun her tarafına taşımaktır.

2.3. Ateroskleroz

Kolesterol taşınmasının özel sorunları, arter duvarlarının iç tarafında yağlı lezyonların gelişimi ile birlikte olan ateroskleroz hastalığıdır. Ateroskleroz oluşumunda en önemli etken kolesterolün LDL şeklinde kanda yüksek konsantrasyonda taşınmasıdır (Hall, 2011). Apo-B içeren lipoproteinlerin ve hücre membran lipitlerinin oksidasyonu, aterogenezin başlangıç adımı olan yağlı çizgi lezyon gelişiminde integral rol oynar (Reddy et al., 2001).

Plazma HDL-K konsantrasyonunun düşük olması da KVH için başlıca önemli ve bağımsız risk faktörü olarak kabul edilir (Gordon, Castelli, Hjortland, Kannel, & Dawber, 1977). Plazma HDL'nin azalması ile vücut kolesterol havuzu artmakta, fakat bu plazma total kolesterol (TK) konsantrasyonu ve başka lipoproteinlerden bağımsızdır. Plazma HDL konsantrasyonundaki azalma, kolesterolün arterier duvarlardan atılımını (temizlenmesini) azaltarak ateroskleroz ve dolayısıyla iskemik kalp hastalığı gelişimini hızlandırabilir (Miller & Miller, 1975).

HDL ters kolesterol transportunda (TKT) major rol oynar (Glomset, 1968). TKT arteriyel duvarlar da dahil olmak üzere periferel dokulardaki fazla kolesterolün plazmada esterleştirilmesi ve atılım için karaciğere transportu sürecidir. Antiaterojenik HDL'nin major protein bileşeni apolipoprotein (apo) A-1'dir (Mahley et al., 1984). Bazı HDL partikülleri Apo A-2 de içerebilir (Crook, 2018).

Sirkülasyonda kolesterolün transportu ve dokulardan uzaklaştırılması lesitin kolesterol açıltransferaz (LCAT) aktivitesine bağlıdır. Çözünür bir enzim olan LCAT kanda HDL'ye bağlanır ve serbest kolesterolün esterleşmesini katalizler. Reaksiyon, HDL yüzeyinde fosfatidilkolin (lesitin)'den yağ asidi hidrolizi ve kolesterol esteri oluşturmak için esterleşmemiş kolesterole yağ asidi transferi şeklindedir. LCAT HDL'nin major protein bileşeniyle (Apo A-1) aktive olur (Fielding, Shore, & Fielding, 1972) ve bir transesterifikasyon reaksiyonuyla kolesterol ve fosfatidilkolinleri (lesitinler) kolesterol esterleri ve lizo-fosfatidilkolinlere dönüştürür (Gallo, 1987; Jonas, 2000). Bu esterleşmiş kolesterolün çoğu LDL, VLDL ve şilomikron artıklarına transfer edilir ve böylece en sonunda karaciğere ulaşır. Bazıları HDL partiküllerinin çekirdeği içinde depolanarak doğrudan karaciğere götürülebilir. Kolesterol ester transfer proteini de bu proseslere dahildir (Crook, 2018).

Özellikle karaciğerin içinde bulunan lipoprotein reseptörleri kolesterol metabolizmasının düzenlenmesinde merkezi bir role sahiptir. Spesifik apolipoproteinler bu reseptörlerin ligantları olarak görev yaparlar (Schettler, 1987).

2.4. PON'un HDL ile bağlantısı ve Ateroskleroz ile ilişkisi

HDL, lipid transportuyla bağlantısız LDL oksidasyonunu düşürmesi gibi fonksiyonlara sahiptir. Ayrıca paraoksonaz, HDL üzerinde yer alan LDL'deki lipoperoksitlerin birikimini engelleyen bir enzimdir. Mackness 1985'te, insan serumunun ultrasantrifüjlenmesi sonrası PON1'in HDL ile kaldığını gösterdi (M. I. Mackness, Hallam, Peard, Warner, & Walker, 1985). Aynı zamanda insan

serumunda paraoksonaz aktivitesinin çoğunu HDL ile bağılı olarak ölçtü. Daha sonra lipoprotein fraksiyonunun paraoksonaz aktivitesinin apolipoproteinlerle (apoA-1 ya da apoA-1 ve apoA-2) bağlantısını ve HDL'deki konumundan dolayı HDL A-esterazların lipid metabolizmasında muhtemel fonksiyonunu ortaya koydu (Michael I. Mackness et al., 1993; Walker & Mackness, 1987). PON1'in amino ucu HDL fosfolipidleri ile bağlantılıdır ve apo A-1 tarafından stabilize olur (Robert C. Sorenson et al., 1999). Serum esterazların amino ucunun hidrofobik sonlanmasından dolayı enzim HDL'ye özellikle apo A-1'e sıkıca bağlanır (Gan et al., 1991; La Du, Adkins, Kuo, & Lipsig, 1993).

İnsan serumunda HDL üzerinde yer alan PON1, LDL oksidasyonunu inhibe ederek (in vitro, oksitleyici koşullarda LDL'deki lipid peroksidlerinin birikimini engelleyerek) onun antiaterojenik özelliklerine katkı sağlamaktadır (Michael I. Mackness, Mackness, Durrington, Connelly, & Hegele, 1996; Robert C. Sorenson et al., 1999). PON1 ve PON3, LDL'de oksidatif modifikasyonun meydana gelmesini önleyebilmektedir (Reddy et al., 2001). PON3, HDL ile olan bağlantısında ve MM-LDL oluşumunun engellenmesinde yada inaktivasyonunda PON1'e benzerdir. Bununla birlikte PON1'e nazaran PON3 ekspresyonu HepG2 hücrelerinde oksitlenmiş fosfolipitlerden veya farelerin karaciğerlerinde yüksek yağlı bir diyetten etkilenmemektedir (Reddy et al., 2001).

Dragonov, tavşan PON3 serumunun HDL fraksiyonu ile bağlantılı olduğunu ve tavşan PON3'ünün tavşan PON1'e nazaran LDL'yi bakıra bağılı oksidasyona karşı daha etkili koruduğunu bildirmiştir (Dragomir I. Draganov et al., 2000). PON2, HDL ile bağlantılı değildir ancak LDL lipid peroksidasyonunu engeller, minimal düzeyde oksitlenmiş LDL (MM-LDL)'nin oksidasyonunu tersine çevirir ve monosit kemotaksisini arttırmak için MM-LDL'nin özelliğini inhibe eder (Ng et al., 2001).

2.5. Nitrik Oksit

Asetilkolinin endotel hücrelerden vasküler düz kas hücrelerine diffüze olabilen ve onların relaksasyonunu aktive eden (non prostanooid labil) bir maddenin salınımını düzenlediği bulundu (Furchgott & Zawadzki, 1980). Arter ve venlerden salınan ve Endotelyum-kaynaklı gevşetici etken (Endothelium-derived relaxing factor, EDRF) adı verilen bu maddenin daha sonra NO ile aynı biyolojik ve kimyasal özelliklere sahip olduğu tespit edildi (Ignarro, Buga, Wood, Byrns, & Chaudhuri, 1987). NO

inorganik serbest radikal bir gazdır, formülü $\cdot\text{N}=\text{O}$ 'dur (Knowles & Moncada, 1994).

2.5.1. Nitrik Oksit'in Sentezi

NO'nun fizyolojik prekürsörü L-arginin aminoasitidir (Palmer, Ashton, & Moncada, 1988). NO memeli hücrelerinin bilinen biyoaktif salgı ürünleri içinde en düşük molekül ağırlığına sahiptir. NO'nun yüksek kimyasal reaktivitesi, ömrünün kısa olması ve etkileşimlerindeki spesifikliğin minimal olması anlamını taşımaktadır. (Nathan, 1992).

Memeli dokularda NO'nun L-argininden sentezinde sorumlu enzimler NO sentazlar (EC 1.14.13.39) olarak bilinmektedir.

NO sentezi ilk olarak vasküler endotelyum, beyin ve aktive edilmiş makrofajlar gibi memeli sistemlerinde gösterilmiştir (makrofaj enzimi Ca^{2+} dan bağımsız olduğundan diğerlerinden farklıdır). Farklı gen ürünleri, farklı yerleşim, düzenleme, katalitik özellikler ve inhibitör duyarlılıkları ve insan izoformlarının arasında %51-57 homoloji ile, NOS'un 3 ayrı izoformu tanımlanmıştır: nNOS (orijinal olarak nöronal dokularda esas olarak tanımlanmıştır, tip I NOS olarak ta bilinir), eNOS (orijinal olarak endotalyel dokularda esas olarak tanımlanmıştır, tip III NOS olarak ta bilinir) ve iNOS (orijinal olarak makrofajlarda [çok sayıda hücre ve dokuda] sitokinler tarafından uyarılabilir olarak tanımlanmıştır, tip II NOS olarak ta bilinir) (Alderton, Cooper, & Knowles, 2001; Knowles & Moncada, 1994).

Bu 3 izoenzimin işlem yaptığı fizyolojik ayarlamalara şu örnekler verilebilir; eNOS'un asetilkoline cevaben NO'yu bir vasküler endotelyal hücrede sentez etmesi; nNOS'un glutamat'a cevaben NO'yu bir nöron'da sentez etmesi; ve iNOS'un bir sitokinin indüksiyonunu takiben NO'yu bir makrofaj'da sentez etmesi (Knowles & Moncada, 1994). Mitokondri mitokondriyal Ca^{2+} -duyarlı NO sentez yolu ile NO üretmektedir. mtNOS tarafından üretilen NO mitokondriyal oksijen tüketimini ve sitokrom c oksidaz ile olan ters bir reaksiyon yolu ile transmembran potansiyelini düzenler (Ghafourifar & Cadenas, 2005).

iNOS NO oluşumunu aynı şartlar altında diğer NOS formlarından daha hızlı katalizleyebilir. (Stuehr, Santolini, Wang, Wei, & Adak, 2004).

2.5.2. Nitrik Oksit'in Fonksiyonları

NO vasküler tonusu sürdürme, hem merkezi hem periferel sinir sisteminde nörotransmitter fonksiyonu ve hücrel savunma aracılığı gibi çeşitli fizyolojik rollere sahiptir. Ayrıca NO hücrel solunumu düzenlemek ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu çoğaltmak için mitokondriyal sistemle etkileşime girer ve bu sayede hücre yaşam ve ölüm mekanizmalarını tetikler (Moncada & Higgs, 2006).

Ayrıca NO monosit yapışmasını, platelet agregasyonu ve vasküler düz kas proliferasyonunu inhibe eden endojen antiaterojenik bir moleküldür. Bu yararlı etkilerini, endotelial redoks durumunu modifiye ederek ve intraselüler cGMP seviyelerini arttırarak gerçekleştirmektedir. Endotelial redoks durumun modülasyonu atherogenesis ile ilgili genlerin ekspresyonunda major bir rol oynamaktadır (Cooke, 1996).

O₂ arz-talebinin 2 ana unsurunu NO etkilemektedir: Vaskülatörde, NO vasküler düz kasta çözünür guanilat siklaz (sGC) aktive ederek vasküler tone ve kan akışını düzenlemekte ve sitokrom c oksidaz inhibisyonuyla mitokondriyal O₂ tüketimini kontrol etmektedir (Chen, Pittman, & Popel, 2008).

Solunum zincirinin NO•-bağımlı modülasyonunun ATP sentezini etkilemeden H₂O₂'nin mitokondriyal jenerasyonunun hücre sinyalizasyon amaçları için kontrol edebilmektedir (Brookes, Levonen, Shiva, Sarti, & Darley-USmar, 2002). Mitokondri iç membranında bulunan elektron transfer zincirinden bazı elektronlar sızabilmektedir ve O₂'yi indirgeyerek süperoksit radikalini oluşturmaktadır (K. J. A. Davies, Quintanilha, Brooks, & Packer, 1982). Nitrik oksit öncelikli olarak solunum zinciri tarafından süperoksit (O₂⁻) oluşumunu arttırabilen sitokrom c oksidazı (solunumsal kompleks IV) ATP oluşumunu etkilemeden inhibe etmektedir. Süperoksit mitokondriyal matrikste MnSOD tarafından H₂O₂'ye dismute edilmektedir. Membran-geçirgen H₂O₂ sonra sitozolik redoks hücre sinyalizasyonuna katılabilmektedir. Alternatif olarak, süperoksit NO ile peroksinitrit (ONOO⁻) oluşturmak için reaksiyona girebilmektedir. Bu kuvvetli oksidan bazı solunumsal kompleksleri inhibe etmektedir ve iç membran proton geçirgenliğini stimule etmektedir. Peroksinitrit programlanmış hücre ölümünü (apoptosis) düzenlemek için sitokrom c salınımını da tetiklemektedir. Sitokrom c salınımı nitrik oksit tarafından inhibe edilmektedir (Brookes et al., 2002). Ayrıca peroksinitrit atherojenik lezyon gelişimine neden olan LDL'nin oksidatif modifikasyonuna neden olmaktadır. Bu

olay damar duvarında meydana gelebilmektedir (Chen, Piknova, Pittman, Schechter, & Popel, 2008). NO'nun düşük nanomolar konsantrasyonlarının sitokrom oksidazı moleküler oksijen (O₂) ile geridönüşümlü ve yarışmalı olarak inhibe ettiği bulgusu, hücre solunumu kontrolünde fizyolojik bir rol oynadığını ve ayrıca patolojinin başlangıcında inhibitör etkisi olabileceğini göstermiştir (Knowles & Moncada, 1994).

NO üretiminin hücre içi sinyalizasyon mekanizmasında temel ve önemli bir rol oynadığı tahmin ediliyor (Brady & Poole-Wilson, 1993). NO konak (misafir) savunması ve immunolojik reaksiyonlar esnasında büyük miktarlarda üretilmektedir. Sitotoksik özelliklere sahip olduğundan ve aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretildiğinde spesifik olmayan bir bağışıklıkta rol oynamaktadır (Moncada & Higgs, 1993). Ayrıca septik şok ve belki siroz ve inflamasyonun hiperdinamik gibi durumların pathojenesisinde rol oynamaktadır (Moncada & Higgs, 1993). Yüksek lokal konsantrasyona ulaşıldığında NO doğası gereği güçlü oksidan özelliklere sahip olan kararsız bir serbest radikaldir. Makrofajlar aktive edildiklerinde büyük miktarlarda NO üretmektedir, bu da mikroorganizma ve tümör hücrelerine karşı sitotoksiteleri için önemlidir. NO aynı zamanda demir içeren enzimlere zarar vermektedir, mesela NADH ve bazı tümör hücrelerinde DNA sentezini inhibe edebilir (Brady & Poole-Wilson, 1993). NO sitotoksik makrofajlar tarafından aktive edilmiş nitrit/nitrat'ın öncüsüdür ve demir-nitrik oksit kompleksleri ve sonradan gelen demir-sülfür prostetik grupların degradasyonunda efektör bir moleküldür (Hibbs, Taintor, Vavrin, & Rachlin, 1988).

2.5.3. Nitrik Oksit'in Polimorfizmleri

eNOS geni 1993 yılında klonlandı. Gen, 7. kromozomun uzun kolunda bulunmaktadır (7q35-36). Bu gen 26 ekzon ve 25 intron içerir (~genomic DNA'nın 21 kilobazını kapsar) ve 4052 nükleotidlik bir haberci ribonükleik asit (mRNA) kodlar ve haploid insan genomunda tek bir kopya olarak bulunmaktadır. İnsan endotelial NO sentaz geni polimorfiktir (Marsden et al., 1993). eNOS geninin üç bölgesinde (intron, ekzon, promoter) bulunan polimorfik varyasyonlardan bazıları: intronlarda, intron 18'deki Ala27Cys, intron 23'te Gly10Thr olmak üzere iki tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotid polymorphism, SNP); intron 4, 13, 23'te de bazı tekrar değişiklikleri; promoter bölgede Thr786Cys, Ala922Gly, Thr1468Ala

olarak adlandırılan üç SNP; ekzon bölgesinde Glu298Asp polimorfizmidir (Albrecht, Stegeman, Heeringa, Henning, & van Goor, 2003).

eNOS'un intron 4'te ardışık tekrarlı DNA dizilerinin (VNTR) kardiyovasküler ve renal hastalıklarla bağlantılı olduğu rapor edildi. Polimorfizm iki allel içermektedir;

a: 4 defa tekrarlanmış VNTR bölgesi; 393bp (baz çifti),

b: 5 defa tekrarlanmış VNTR bölgesi; 420bp (Bellini et al., 2007).

2.6. Oksidatif Stres

Potansiyel hasara neden olan oksidanların avantajına oksidan-antioksidan dengesindeki bozulma 'oksidatif stres' olarak bilinir (Sies, Cadenas, Symons, & Scott, 1985).

Serbest radikaller bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip türler olarak tanımlanırlar. Bu geniş tanım hidrojen atomu (bir eşleşmemiş elektron), çoğu geçiş metalleri ve oksijen molekülünün kendisini kapsar (Halliwell & Gutteridge, 1984).

Oksijenin kısmi indirgenmesi ile oluşan reaktif oksijen türleri (ROT) süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($HO\cdot$) gibi radikal ve radikal olmayan oksijen türleridir (Ray, Huang, & Tsuji, 2012). ROT'nin kontrolsüz oluşumu in vivo'da, nükleik asit, protein ve lipid gibi biyomolekülleri okside ederek, genetik bilgiyi değiştirir, proteinleri denatüre eder, enzimleri inaktive eder ve biyomembranlarda bozukluklara neden olur. Dolayısıyla ROT'nin oluşumu oksidan-antioksidan dengesini bozduğundan oksidatif strese neden olur. Organizmaya zarar verir, hastalıklara, zehirlenmelere ve yaşlılığa neden olur (Radák, 2000).

Hücrel ROT mitokondriyal oksidatif fosforilasyondan oluşturulur veya ksenobiyotik bileşikler gibi ekzojen kaynaklarla etkileşerek de oluşabilirler. (Ray et al., 2012).

Hedef moleküldeki oksidatif hasarı geciktiren, önleyen veya uzaklaştıran maddeler 'antioksidan' olarak tanımlanmıştır (Halliwell & Gutteridge, 2015). Organizma kendisini korumak için süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidazı ROT'nin oluşumuna karşı kullanır (Halliwell, 1989).

2.7. Lipid Peroksidasyonu

Gutteridge'a göre (Gutteridge, 1995) lipid peroksidasyonu "*biyolojik sistemlerde çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest-radikal oksidasyonu*" olarak bilinir. Lipid peroksidasyonunun genel etkileri: membran akışkanlığını düşürmek (çoklu

doymamış yağ asitleri [PUFAs]'ni okside ettiğinden), çift katlı fosfolipidlerin 2 tabaka arasındaki değişim (alışveriş)'i daha da kolaylaştırmak, membranın spesifik kanallar aracılığı (Ca⁺² gibi) dışında H₂O'ya ve normalde geçemeyen maddelere 'sızdırabilirliği' arttırmak, membran proteinlerine hasar vermek, reseptör, enzim, transport proteinleri gibi yapıları inaktive etmektir. Lipid peroksidasyonu bütün zincir reaksiyonlarında olduğu gibi; başlangıç (initiation), ilerleme (propagation) ve sonlanma (termination) olmak üzere üç aşamadan oluşur(Gutteridge, 1995; Radák, 2000).



Karbon-merkezli bir lipid radikali (R•) oluşturmak üzere hidroksil radikali gibi bir radikal (I•) aracılığıyla bir lipid molekülünden (RH=doymamış lipid) bir hidrojen atomu ayrılmaktadır (eşitlik 1)(Radák, 2000). Hidroksil radikali (•OH), alkoksil radikali (RO•), peroksil radikali (ROO•), azot dioksit radikali (NO₂•) ve belki hidroperoksil (HO₂) ilk hidrojen atomunu koparabilen türlerdir. Süperoksit anyonu (O₂⁻) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) bu reaksiyonu başlatmamaktadır. Singlet O₂, O₃, HOCl lipidleri okside etmelerine rağmen doğrudan zincir reaksiyonunu başlatmazlar (Halliwell & Gutteridge, 2015).



Lipid peroksil radikali (ROO•) oluşturmak için lipid radikaline (R•) oksijen eklenir (eşitlik 2). ROO• hem lipid hidroperoksit (ROOH) hem de R• oluşturmak için başka bir lipid molekülünden bir hidrojen atomu koparır (eşitlik 3). Başka bir oksijen eklenerek yeni bir R• oluşur (eşitlik 2) böylece zincir reaksiyonu başlar.



Zincir reaksiyonu sonlanma reaksiyonlarına (eşitlik 4-6) kadar devam edebilir (Radák, 2000).

Ortamda bulunan metal katalizörler (Fe²⁺,Cu⁺) lipid peroksidasyon ürünlerini arttırırken, yeni serbest radikallerin oluşumuna da neden olmaktadır (Dasgupta & Zdunek, 1992; Hogg & Kalyanaraman, 1999).

Lipid peroksidasyonu sırasında, karbon bağlarının kopmasıyla aldehid yapısında yıkılım ürünleri ortaya çıkmaktadır. Bu sitotoksik metabolitler, malondialdehid

(MDA) gibi alkanaller, 4 hidroksinoneanal gibi hidroksialkenaller ve alkenallerdir. (Halliwell & Gutteridge, 2015).

LDL oksidasyonunun ateroskleroza sebep olduğuna inanılmaktadır ve bu yüzden plazma oksLDL'yi ölçmek ve vasküler hastalıklarla bağlantısını araştırmak için çeşitli immunoassaylar tanıtılmıştır (Halliwell & Gutteridge, 2015).

2.8. Sualtı Ragbi

Sualtı ragbi 3,5-5m derinliğindeki havuzlarda iki takım arasında oynanılan 3 boyutlu bir kontak sporudur. Oyun 15 dakikalık iki yarı ve 5 dakika aradan oluşur. Oyunun amacı topu rakip kaleye sokmaktır ("CMAS. About Underwater Rugby.," n.d.).



Gereç ve Yöntem

3.1. Araştırmanın Tipi

Bu çalışma kesitsel bir laboratuvar tipinde çalışmadır.

Araştırma yapısının “İnsanlar Üzerinde Yapılan Tıbbi Araştırmalarda Etik İlkeler Helsinki Deklerasyonu” na uyumlu olduğu Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (14-4/17) (Ek 1).

Katılımcılara araştırma yapısı ve olası risklerle ilgili bilgi verildi ve katılımcıların yazılı-imzalı kabulleri alındı (Ek 2 ve Ek 3).

3.2. Araç ve Gereçler

3.2.1. Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar markalarıyla birlikte listelenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Marka
Elektronik medikal tartı	Seca 769 (Almanya)
Spektrofotometre	Shimadzu UV 1700 (Japonya)
Otomatik hematoloji analizörü	Mindray BC-6800 (Çin)
Santrifüj	Nüve NF 200 (Türkiye)
Vortex	Elektro-mag M16 (Türkiye)
Distilasyon cihazı	Nüve NS 103 (Türkiye)
İnkübatör	Nüve EN 055 (Türkiye)
Mikroplate okuyucu	Dialab ELx800G (Avusturya)
Tam otomatik mikroplate yıkayıcı	Diawasher II ELx50 (Avusturya)
Derin dondurucu	Uğur UFR 370 SD (Türkiye)
Otoanalizör	Roche COBAS C501 (İsviçre)
Otomatik pipetler	Rainin SL-20, 100, 200 (ABD), Brand Transferpette (Almanya)

3.2.2. Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler markalarıyla birlikte verilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Madde Adı	Kimyasal Formül	Marka
Kadmiyum	Cd	Fluka
N-(1-Naftil) etilendiamin dihidroklorür (NED)	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ 2HCL	Aldrich
Sülfanilamid %99	C ₆ H ₈ N ₂ O ₂ S	Sigma
Glisin	C ₂ H ₅ NO ₂	Riedel-Dehaen
Paraoxon (Dietyl p-nitrofenil fosfat) 90%	C ₁₀ H ₁₄ N ₀ 6P	Sigma
Fenil asetat % 99	C ₈ H ₈ O ₂	Aldrich
Tris (Hidroksimetil)-HCL	C ₄ H ₁₁ NO ₃ . HCL	Sigma
Thiobarbütirik asid (TBA),% 98	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂ S	Sigma
Kalsiyum klorür% 95	(CaCl ₂)	Merck
1,1,3,3 Tetramethoxypropane %99	C ₇ H ₁₆ O ₄	Sigma
Sodyum klorür saf	(NaCl)	Merck
Disodyum hidrojen fosfat % 99	Na ₂ HPO ₄	Riedel-deHaen
Sodyum dihidrojen fosfat % 99	NaH ₂ PO ₄	Riedel-deHaen
Sodyum nitrit % 99	NaNO ₂	Sigma
Hidroklorik asit %36.5	HCl	Sigma
Sodyum hidroksit %97	NaOH	Sigma
Sülfürik asit %98	H ₂ SO ₄	Merck
Çinko sülfat	ZnSO ₄	Sigma

3.2.3. Analiz Kitleri

Çalışmada kullanılan analiz kitleri markalarıyla birlikte listelenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Çalışmada kullanılan analiz kitleri

Kit Adı	Firma
PON1 ELISA Kit	Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd, China
PON2 ELISA Kit	Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd, China
PON3 ELISA Kit	Elabscience Biotechnology Co.,Ltd, China
oksLDL ELISA Kit	Elabscience Biotechnology Co.,Ltd, China
NO Kiti	Oxford Biomedical Research, Inc.,USA
DNA İzolasyon Kiti	NucleoSpin® Tissue, Macherey-Nagel, Germany

3.2.4. Kullanılan Gereçler

Semimikro fotometrik küvet
Otomatik pipet ucu (sarı ve mavi)
Heparinli vakumlu tüp
Antikoagülansız vacutainer tüpü
Eppendorf tüpü
Steril vakumlu tüp iğnesi
K3-EDTA'lı vacutainer tüpü

3.3. Yöntem

3.3.1. Katılımcıların Ön Seçimi

Çalışmamıza dahil edilecek kişilerde aranan kriterler:

1. 16-40 yaş arası erkek olması,
2. Herhangi bir hastalığı veya sakatlığı olmaması ve obez olmaması (vücut kitle indeksi (VKİ) <30 olması),
3. Düzenli sigara, alkol, herhangi bir ilaç ve antioksidan madde kullanmıyor olması,
4. Egzersiz grubu için en az 3-4 aydır düzenli olarak antrenmanlarını yapıyor olması, sedanter grubu için en az 3-4 aydır düzenli egzersiz yapmamasıdır.

Bu kriterlere uygun kişileri seçmek amacıyla, çalışmaya gönüllü olarak katılacak yaklaşık 100 kişiye çalışmanın amacı, yararı, yapılacak testler, olası riskleri hakkında bilgi verildi. Katılımcılar aşağıda belirtilen ölçümlerden bir hafta öncesinden itibaren

diyetlerini fazla değiştirmemeleri ve en az iki gün öncesinden itibaren ağır egzersizler yapmamaları konusunda uyarıldı.

Çalışmaya kabul edilen 93 kişiden 45'i en az 3-4 aydır düzenli antrenman ve maç yapan erkek sualtı ragbi oyuncusu, geri kalan 48'i ise benzer fiziksel özelliklere sahip spor yapmayan (sedanter) kişilerdi. Deneklerin sağlık kontrolü amacıyla genel fiziksel ölçümleri [boy, vücut ağırlığı (VA), vücut kitle indeksi (VKİ)] ve kan analizleri [hemogram, biyokimyasal parametreleri; kreatinin, TK, HDL-K, LDL-K, trigliserid (TG) düzeyleri, alanin amino transferaz (ALT) ve aspartat amino transferaz (AST) aktivitesi] yapıldı.

3.3.2. Çalışma Grupları

Yukarıda belirtilen testler ve sağlık kontrolleri sonucunda sağlıklı olduğu belirlenen 87 kişi çalışma gruplarına alındı. İki grup oluşturuldu:

1-Sporcu Grubu (SG): (n=43) Haftada en az 5 gün, günde ortalama 3 saat, haftada toplam 15 saat olmak üzere en az 3-4 aydır sualtı ragbi antrenmanı ve maç yapan kişilerden oluştu.

2-Kontrol Grubu (KG):(n=44) Fiziksel olarak egzersiz grubuna benzer nitelikteki sedanterlerden oluştu. Bu gruptaki kişilerin en az 3-4 aydır egzersiz yapmıyor olmaları koşulu istendi.

Her iki çalışma gruplarındaki kişilere deneklerin n seçiminde yapılan testlere ek olarak serum oksLDL, PON1, PON2 ve PON3 parametrelerinin protein düzeyleri ve PON1 (PON1EA), tuzla uyarılmış PON1 (TSPON1) ve AREST enzim aktiviteleri ve NO ve TBARS düzeyleri belirlendi. Katılımcılar sağlıklı, normotansif ve anemisi olmayan kişilerden seçildi.

3.4. Fiziksel ve Fizyolojik lçm Yöntemleri

3.4.1. Fiziksel lçm Yöntemleri

1. Boy ve vücut ağırlığı (VA): şortla ve ayakkabısız olarak elektronik medikal tartı aleti kullanılarak ölçüldü.

2. Vücut kitle indeksi (VKİ): Ağırlık (kg)/(boy(m))² formülüne göre hesaplandı.VKİ>30 olan kişiler çalışmaya alınmamıştır.

3.4.2. Fizyolojik Ölçüm Yöntemleri

Sporcu ve kontrol gruplarında, aerobik dayanıklılık kapasitesinin kriteri olarak kullanılan kritik hız (KH) belirlendi (Wakayoshi et al., 1992). Sporcularda KH'nin ölçülmesi; 2 gün arayla yapılan maksimal 50m ve 100m serbest yüzme zamanları (T) kullanılarak hesaplandı: $KH_{yüzme} = (100-50)/(100T-50T)$. Kontrol grubunda ise: iki gün arayla yapılan maksimal 50m ve 100m serbest yüzme zamanları temel alınarak hesaplandı: $KH_{kontrol} = (100-50)/(100T-50T)$, sonuçlar m/sn olarak verildi (T=zaman,s).

3.5. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Yukarıdaki testlerden en az 3 gün sonra, çalışma gruplarına seçilen deneklerden soğutulmuş, vakumlu, biri mor kapaklı EDTA'lı 2 tüpe toplam 7,5mL, diğeri kırmızı kapaklı boş tüpe 9ml ayrıca heparinli tüplere 5cc venöz kan örnekleri alındı. Heparinli kan örnekleri 2000g'de 10 dk +4°C'de santrifüjlenerek hemen plazmaları ayrıldı ve TBARS düzeylerinin analizine kadar -80°C'de saklandı. Düz kan örnekleri 20 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000g'de 15dk santrifüjlenerek serumları ayrıldı. Serum ve biri EDTA'lı kan numuneleri analizler yapılincaya kadar derin dondurucuda (-80°C de) saklandı. EDTA'lı 1.tüpteki kan aynı gün içerisinde hemogram, diğere EDTA'lı tüpler ise paraoksonaz ve eNOS3 polimorfizmlerini belirlemede kullanıldı. Serum numunelerinden: PON1EA, TSPON1 ve AREST aktiviteleri ve PON1, PON2, PON3 ve oksLDL ve NO düzeyleri ve ayrıca sağlık kontrolü amacıyla: Hemogram, biyokimyasal parametreleri; kreatinin, TK, HDL-K, LDL-K, TG düzeyleri, ALT ve AST aktivitesi ölçümleri bir ay içerisinde özel bir laboratuvarında bir otoanalizörde gerçekleştirildi.

3.6. Biyokimyasal Analizler

PON1, PON2, PON3 ve oksLDL düzeylerinin analizleri serum örneklerine ½ dilüsyon yapılarak ELİSA kitleriyle mikropate okuyucu (Dialab EL X800G, Avusturya) kullanılarak yapıldı.

PON1, TSPON1 ve AREST enzim aktiviteleri ile NO ve TBARS spektrofotometre (Shimadzu UV 1700, Japonya) kullanılarak yapıldı.

Belirtilen analizler Ege Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi Egzersiz Biyokimyası laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.6.1. PON1 Düzeyinin Belirlenmesi

PON1 analizi ticari bir kit kullanılarak ve kitle belirtilen prosedür uygulanarak yapıldı.

3.6.1.1. Yöntemin İlkesi:

Bu kit örneklerdeki PON1 düzeylerinin belirlenmesi için çift-antikör sandviç modeli kullanılmaktadır. Önceden PON1 monoklonal antikör ile kaplanmış kuyucuklara PON1 eklenir ve inkübe edilir; sonra biyotinle işaretlenmiş PON1 antikörleri eklenir ve Streptavidin-HRP ile kombine edilerek immün kompleks oluşturulur; daha sonra inkübasyon ve kombine edilmeyen enzimin uzaklaştırılması için yıkama işlemi tekrarlanır. Sonra sırasıyla Kromojen A ve B solüsyonları eklenir, sıvı mavi renge döner ve asit etkisi ile renk en sonunda sarı olur. Oluşan rengin şiddeti ve örneklerdeki PON1 konsantrasyonu pozitif ilişkilidir.

3.6.1.2. Analiz Tekniği:

1. Kitin içindeki standart reaktifi dilüe edilerek 320, 160, 80, 40 ve 20ng/ml olmak üzere 5 tane standart hazırlandı.
2. Standart kuyucuklarına; 50µL standart, 50µL Streptavidin-HRP eklendi (standart biyotinle kombine edilmiş olduğu için antikör ilavesine gerek yoktur). Kör kuyucuklarına; örnek, biyotinle işaretlenmiş PON1-antikörü, Streptavidin-HRP eklenmedi sadece Kromojen A ve B çözeltisi (solüsyonu) ve durdurma çözeltisi eklendi; diğer işlemler aynen yapıldı. 40µL örnek kuyucuklara eklendi, sonra hem 10µL PON1-antikörü ve hem de 50µL Streptavidin-HRP eklendi. Daha sonra da üzeri membranla kapatılıp hafifçe sallandı ve 60 dakika 37°C'de inkübe edildi.
3. 30x konsantre yıkama çözeltisi (solüsyonu) distile su ile 30 kat dilue edilerek hazırlandı.
4. Plate'in üzerindeki membran çıkartılıp arta kalan sıvı silkelenerek uzaklaştırıldı. 5 kez tam otomatik mikropate yıkayıcıda 0,35ml yıkama çözeltisi içinde 1~2 dakika bekletilerek yıkama yapıldı.
5. 50µL kromojen A çözeltisi sonra 50µL kromojen B çözeltisi herbir kuyucuğa eklendi. Hafifçe karıştırıldı, 10 dk 37°C'de ışıktan uzak inkübe edildi.
6. Reaksiyonu durdurmak için 50µL Durdurma Çözeltisi herbir kuyucuğa eklendi (mavi görünen sıvı rengi hemen sarıya döndü).

7. Durdurma Çözeltisi eklendikten 15 dakika sonra 450nm'de optik dansite (OD) ölçüldü.

8. Sonuçlar hesaplandı.

3.6.2. PON2 Düzeyinin Belirlenmesi

PON2 analizi ticari bir kit kullanılarak ve kitte belirtilen prosedür uygulanarak yapıldı. PON2 analizi, PON1 düzeyinin belirlenmesi için kullanılan yöntem kullanılarak benzer reaksiyon koşullarında gerçekleştirildi. PON1 analizinden farklı olarak standartlar; 64, 32, 16, 8 ve 4 ng/ml olarak hazırlandı.

3.6.3. PON3 Düzeyinin Belirlenmesi

PON3 analizi ticari bir kit kullanılarak ve kitte belirtilen prosedür uygulanarak yapıldı.

3.6.3.1. Yöntemin İlkesi:

Bu ELİSA kiti sandviç-ELİSA metodunu kullanmaktadır. Kitin içerisinde PON3'e özgü antikorlarla önceden kaplanmış mikro plate kuyucukları bulunmaktadır. Standartlar ve örnekler spesifik antikorla kombine edilmiş uygun kuyucuklara eklenir. Sonra PON3'e özgü biyotinlenmiş deteksiyon antikor ve Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatı her bir mikro plate kuyucuğuna eklenir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanarak uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu herbir kuyucuğa eklenir. Sadece PON3, biyotinlenmiş antikor ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyucuklar mavi renk oluşturacaktır. Enzim-substrat reaksiyonu sülfürik asit eklenmesi ile sonlandırılır ve renk sarıya döner. Spektrofotometrik olarak ölçülen OD değeri PON3'ün konsantrasyonuyla orantılıdır.

3.6.3.2. Analiz Tekniği:

1. 100µL standart (15, 7.5, 3.75, 1.88, 0.94, 0.47 ve 0.23 ng/ml) veya örnek herbir kuyucuğa eklendi. 90dk 37°C'de inkübe edildi.
2. Sıvılar uzaklaştırıldı. 100µL Biyotinlenmiş deteksiyon antikor eklendi. 1 saat 37°C'de inkübe edildi.
3. Aspirasyon (sıvılar çekildi) ve 3 kez yıkama yapıldı.
4. 100µL HRP Konjugat eklendi. 30dk 37°C'de inkübe edildi.
5. Aspirasyon ve 5 kez yıkama yapıldı.
6. 90µL Substrat reaktifi eklendi. 15dk 37°C'de inkübe edildi.

7. 50µL Durdurma Çözeltisi ilave edildi ve hemen 450nm'de absorbanslar okundu.

8. Sonuçlar hesaplandı.

3.6.4. oksLDL Düzeyinin Belirlenmesi

OksLDL analizi ticari bir kit kullanılarak yapıldı. OksLDL analizi, PON3 düzeyinin belirlenmesi için kullanılan yöntem kullanılarak benzer reaksiyon koşullarında gerçekleştirildi. PON3 analizinden farklı olarak standartlar; 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5 ve 31.25 ng/ml olarak hazırlandı.

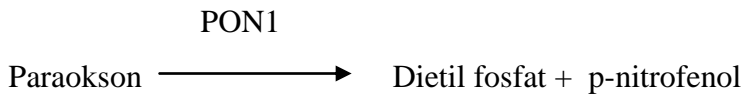
PON1, PON2, PON3 ve oksLDL analizi sonuçlarının hesaplanması: Herbir parametre için standartların konsantrasyonu ve denk gelen OD değerlerine göre standart eğrisi oluşturuldu. Standart eğrisine göre örneklerin OD'leri karşılaştırılarak örneklerdeki konsantrasyonlar hesaplandı ve sonuçlar dilusyon faktörü olarak 2 ile çarpıldı.

3.6.5. PON1 Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Serum PON1 enzim aktivite ölçümü Eckerson ve ark.'nın (1983) yöntemini esas alan ticari bir kitle (Relassay, Gazintep, Türkiye) manuel olarak gerçekleştirildi.

3.6.5.1. Yöntemin İlkesi:

PON1 enzimi, paraoksonu dietil fosfat ve paranitrofenole hidroliz eder. Mevcut PON1 aktivitesi, substrat olarak kullanılan paraoksonun enzimatik hidroliz sonucu oluşan paranitrofenol miktarı ile ilişkilidir. Paraoksonaz aktivitesinin bir ünitesi (U) dakikada oluşan paranitrofenolün mikro mol sayısı olarak kabul edilir.



3.6.5.2. Çalışma reaktifi:

İki reaktiften oluşan kitin, ilk reaktifi 50mM (pH=7.4) Tris tamponu ve PON1 enziminin kofaktörü olan kalsiyum iyonu içerir. İkinci reaktif 1mM paraokson'dan oluşan substrat solüsyonudur. Örnekler ilk reaktifle karıştırılıp üzerine substrat solüsyonu eklendi. Paraoksondan oluşan p-nitrofenol'un lineer absorbans artışı kinetik ölçüm yöntemiyle takip edildi. Paraokson'un enzimatik olmayan hidrolizi toplam hidroliz hızından çıkartıldı. 37°C'de, 412 nm'de absorbans artışı izlenerek, p-nitrofenol oluşumuna bağlı paraokson'un hidroliz hızı ölçüldü. Kit içeriğine göre bir faktör kullanılarak hesaplamalar yapıldı.

3.6.5.3. Analiz Tekniği:

1. 5 µL serum içeren küvet içine 800µL çalışma reaktifi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı (25°C). Aynı miktar reaktif içine 5µL distile su ilave edilerek kör hazırlandı.

2. Reaksiyon sırasında 4 kez birer dakika aralıkla 412nm’de absorbanslar köre karşı spektrofotometrik olarak ölçüldü. Hesaplamalarda delta aborbans (Δ abs) değeri kullanıldı. Reaksiyon koşullarımızda paranitrofenolün molar absorpsiyon sabiti (MAS) 12800 olarak kullanıldı. Sonuçlar U/L olarak verildi.

3.6.6. Tuzla Stimüle PON1 Aktivitesinin Belirlenmesi

Yöntemin ilkesi: Serum tuzla stimüle PON1 (TSPON1) aktivite ölçümü Eckerson ve ark.’nın (1983) yöntemini esas alan ticari bir kitle (Relassay, Gazintep, Türkiye) ve kitte belirtilen prosedür uygulanarak gerçekleştirildi. TSPON1 aktivitesi, PON1 aktivitesinin ölçümü için kullanılan yöntem kullanılarak benzer reaksiyon koşullarında gerçekleştirildi. TSPON1 reaktifi yukarıdaki PON1 reaktifinden farklı olarak 1M NaCl içerir.

3.6.7. AREST Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Serum AREST aktivitesi Eckerson ve ark.’nın (Eckerson, Romson, Wyte, & La Du, 1983) kullandıkları yöntemine göre spektrofotometrik olarak 25°C’de gerçekleştirildi.

Yöntemin ilkesi: AREST enzimi, reaktif karışımındaki fenil asetat substratını fenol ve asetik aside hidroliz eder. Mevcut AREST aktivitesi, enzimatik kinetik olarak oluşan fenol miktarı ile ilişkilidir. AREST enzim aktivitesinin birimi (U), dakikada hidroliz edilen fenil asetatın mikromol sayısı olarak tanımlanır.

AREST

Fenil Asetat + H₂O \longrightarrow Fenol + asetik asit

Çalışma reaktifi: Tris-HCl tamponu (9mM, pH=8) içerisinde 0.9mM kalsiyum klorür (CaCl₂) ve 1mM fenil asetat karışımını içerir. Reaktifler günlük olarak hazırlanır.

3.6.7.1. Analiz tekniği:

1. 5µL serum içeren küvet içine 3mL çalışma reaktifi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı (25°C). Kör, aynı miktar reaktif içine 5µL distile su ilave edilerek hazırlandı.

2. Reaksiyon sırasında 4 kez birer dakika aralıklarla 270nm’de absorbanlar ölçüldü. Hesaplamalarda delta absorban (Δ abs) değeri kullanıldı. Reaksiyon koşullarımız için fenolün molar absorpsiyon sabiti (MAS) 1310 olarak kullanıldı. Sonuçlar KU/L olarak verildi.

3. AREST aktivitesi yüksek olan serumlarda 1:3-1:6 dilüsyon yapıldı ve aktivite hesapları dilüsyonlar göz önüne alınarak gerçekleştirildi.

AREST aktivitesinin hesaplanması

$$K = \frac{TV \times 10^6}{SV \times MAK \times KY} = \frac{3.005 \times 10^6}{0.005 \times 1310 \times 1} = 458\ 800$$

K: Sabit

TV: Küvetteki total hacim (mL)

10^6 : Mikro molar dönüşüm faktörü

SV: Örnek hacmi (mL)

MAS: Molar absorpsiyon sabiti

IY: küvetin ışık yolu uzunluğu (cm)

AREST aktivitesi (KU/L) = Örneklerin Δ absorban değeri x K (458800)/ 10^3

3.6.8. Nitrik Oksit Düzeyinin Belirlenmesi

NO analizleri serum numunelerinden Najwa ve ark.’nın (Cortas & Wakid, 1990) kullandıkları metodu temel alan ticari bir kitle serum örneklerine $\frac{1}{2}$ dilüsyon yapılarak ve kitte belirtilen prosedürün küçük bir modifikasyonu gerçekleştirilerek belirlendi.

3.6.8.1. Yöntemin İlkesi:

Nitrik oksitin temel metaboliti olan nitrat (NO_3)’ın kadmiyum (Cd^{+2}) ile nitrite (NO_2) indirgenmesi ve bunun ‘Griess Reaktifi’ ile oluşturduğu pembe renkli azo boyasının absorbanının spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanmaktadır. Bu yöntem ile örnekte var olan nitrit ve nitrattan indirgenerek oluşan nitrit düzeyleri toplam olarak ölçülmüş olur.

3.6.8.2. Kullanılan Reaktifler:

1. Kadmiyum granülleri (0.23-0.25g). Kadmiyum granüllerinin aktivasyonunda küçük bir modifikasyon yapıldı. Önce granüller üç kez bidistile su ile yıkanır. Daha sonra Glisin-NaOH tamponu (pH=7.4) çözeltisi içinde 1-2 dakika çalkalanır ve 3 kez glisin-NaOH tamponu ile yıkanır. Bu durumdaki granüllerin aktivasyonu 10 dakika sonra azalmaktadır. Granüllerin hava ile temasının olmaması gereklidir. Kullanılan granüller su ile çalkalanır ve tekrar kullanılmak üzere sülfürik asid çözeltisi içinde saklanır.

2. %30'luk ZnSO₄ çözeltisi.

3. 3N HCl içerisinde Sülfanilamid çözeltisi.

4. H₂O içerisinde N-Naphtylethylene diamine (NED) çözeltisi:

5. Standart çözeltisi: 500µM NaNO₂

Absorbanslar 540nm'de ölçüldü. Sonuçlar standart grafiğinden hesaplandı. Nitrik oksit miktarı hesaplanırken dilüsyon faktörü 2 ile çarpılarak µmol/L olarak verildi.

3.6.8.3. Analiz Tekniği:

Örneklerin deproteinizasyonu: 400 mikrolitre serum alınıp kapaklı ephendorf tüplerine konuldu, üzerine de 530 mikrolitre saf su konuldu. Bu karışım üzerine 70 mikrolitre %30 luk ZnSO₄ solüsyonundan konularak karıştırıldı. Bu karışım 10 dk oda sıcaklığında bekletildi. 15 dk 3500 devir/dk de santrifüjlendi. Bu şekilde serum 2,5 kez dilüe süpernatant elde edildi.

a.Nitratın Nitrite İndirgenmesi

1. Bir mikrosantrifüj tüpüne 0.23-0.25g aktive olmuş Cd²⁺ konuldu.

2. Üzerine 400 mikrolitre süpernatant ilave edildi. Plastik tüplerin kapakları kapatılarak 20 dk süreyle vorteksle karıştırıldı, sonra 3500 devirde 10 dk santrifüj edildi.

3. Sonra tüpler bu şekilde 24 saat oda sıcaklığında bekletildi.

4. Daha sonra bu tüpler yeniden rototarda karıştırıldıktan sonra 15 dk süreyle 3500 devirde santrifüjlendi.

b.Griess Reaksiyonu

1. Sanrifüj edilen tüpten, bir test tüpüne 400µL supernatant konuldu.

2. 200 sülfanilamid çözeltisi eklendi, vorteks ile karıştırıldı.

3. 200 NED reaktifi ilave edilerek vorteks ile karıştırıldı.

4. 20dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra oluşan rengin absorbanı 540nm'de köre karşı okundu. Renk şiddeti NO₂ konsantrasyonu ile ilişkilidir. Sonuçlar standart grafiğinden hesaplandı. Nitrik oksit miktarı hesaplanırken dilüsyon faktörü ile çarpılarak µM olarak verildi.

3.6.9. Tiobarbütirik Asid ile Reaksiyona Giren Maddelerin Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kullanılan plazma TBARS ölçümü Erwin ve ark.'nın (Meijer, Goris, van Dongen, Bast, & Westerterp, 2002) kullandığı yöntemle gerçekleştirildi.

3.6.9.1. Yöntemin İlkesi:

Lipid hidroperoksitlerinin parçalanma ürünü olan malondialdehit (MDA) ve diğer TBARS lar, yüksek derecede reaktif olan, sırası ile üç karbonlu aldehit veya karboksil grubu içeren bileşiklerdir.

Tiobarbütirik asid (TBA), asidik bir tampon içinde örnek ile ısıtıldığında örnekteki TBA ile reaksiyon veren maddeler pembe renkli bir kompleks oluştururlar. Oluşan rengin şiddeti örnekteki TBARS konsantrasyonu ile ilişkilidir. Oluşan rengin absorbanı 532nm'de ölçüldü. Sonra standart ile kıyaslanarak örnekteki TBARS konsantrasyonları belirlendi (Kotani et al., 2012).

3.6.9.2. Çalışma Reaktifi:

TBA reaktifi; 0.375gr TBA, 250mL distile su ve 2.5mL 1M HCl içinde çözülerek hazırlandı.

3.6.9.3. Analiz Tekniği:

111µL EDTA'lı plazma ve 1mL TBA reaktifi ephendorf tüpü içerisinde karıştırılarak vortekslendi. Bu karışım 95°C'de su banyosunda bir saat bekletildi, daha sonra oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Oluşan rengin absorbanı 532nm'de oda sıcaklığında spektrofotometrik olarak köre karşı ölçüldü. Örnekteki TBARS konsantrasyonları; (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14µmol/L) 1.1.3.3 tetra metoksi propan (TMP) standardı kullanılarak oluşturulan standart grafiğinden belirlendi. Sonuçlar µM olarak verildi.

3.6.10. Polimorfizmlerin Belirlenmesi

3.6.10.1. Genotipleme:

DNA izolasyonu EDTA'lı kan örneklerinden ticari bir kit kullanılarak ve kitte belirtilen prosedür uygulanarak gerçekleştirildi. İzole edilen genomik DNA'ların saflık kontrolü amacıyla örnekler agaroz jele yüklenerek elektroforez işlemi yapıldı. eNOS geni 4 tekrarlı (a) ve 5 tekrarlı (b) olmak üzere iki yaygın allele sahiptir. Bu alleller 2 homozigot (aa ve bb) ve 1 heterozigot (ab) genotip sağlar. eNOS 3 intron 4a/b polimorfizmi için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-PCR) tekniği kullanıldı.

PON1-Q192R, PON1-L55M, PON2-A148G ve PON2-S311C genotiplemesi için PCR-Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP) tekniği kullanıldı.

PCR işleminde kullanılan primer dizileri (PRZ, Türkiye) aşağıda gösterilmiştir.

- PON1-Q192R polimorfizmi için:

5'-TATTGTTGCTGTGGGACCTGAG-3' (f) ve

5'-CACGCTAAACCCAAATACATCTC-3' (r)

- PON1-L55M polimorfizmi için:

5'-GAAGAGTGATGTATAGCCCCAG-3' (f) ve

5'-TTTAATCCAGAGCTAATGAAAGCC-3' (r)

- PON2-A148G polimorfizmi için:

5'-CAACCCACCATAGGGATTGTTTG-3' (f) ve

5'-TATATACAGTGGAATTTTTAAATTTGAAGCAG-3' (r)

- PON2-S311C polimorfizmi için:

5'-ACATGCATGTACGGTGGTCTTATA-3' (f) ve

5'-AGCAATTCATAGATTAATTGTTA-3' (r)

- eNOS intron 4a/b polimorfizmi için:

5'-AGGCCCTATGGTAGTGCCTTT-3' (f) ve

5'-TCTCTTAGTGCTGTGCTCAC-3' (r)

3.6.10.2. PCR Aşaması:

PON1 geni Q192R polimorfizmini belirlemek üzere ilgili gen bölgesini çoğaltmak amacıyla PCR reaksiyon karışımı 0.2 µg kalıp DNA, 200 µM dNTP karışımı, 10x Taq reaksiyon tamponundan (Mg-Free, from New England BioLabs, M0320S) 3 µL,

0.13 μM forward ve reverse primerler, 3.33 mM MgCl_2 and 1.25 Units Taq DNA polimeraz (New England BioLabs, M0320S)'dan final hacim 30 μL olacak şekilde hazırlandı. Her reaksiyonun sıcaklık ve sürelerini gösteren PCR koşulları ise Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. PON1-Q192R polimorfizminin PCR optimizasyon koşulları

PCR koşulları	Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	Süre
Başlangıç denatürasyonu	95	5dk
Denatürasyon	95	30s
Bağlanma (annealing)	56	30s
Uzama (extension)	68	40s
Final extension	68	5dk

PON1 geni L55M polimorfizmini belirlemek üzere ilgili gen bölgesini çoğaltmak amacıyla PCR reaksiyon karışımı 0.2 μg kalıp DNA, 200 μM dNTP karışımı, 10x Taq reaksiyon tamponundan (Mg-Free, from New England BioLabs, M0320S) 3 μL , 0.16 μM forward ve reverse primerler, 2.5 mM MgCl_2 and 1.25 Units Taq DNA polimeraz (New England BioLabs, M0320S) dan final hacim 30 μL olacak şekilde hazırlandı. Her reaksiyonun sıcaklık ve sürelerini gösteren PCR koşulları ise Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. PON1-L55M polimorfizminin PCR optimizasyon koşulları

PCR koşulları	Sıcaklık (°C)	Süre
Başlangıç denatürasyonu	95	5dk
Denatürasyon	95	30s
Bağlanma (annealing)	65	30s
Uzama (extension)	68	30s
Final extension	68	5dk

PON2-A148G, PON2-S311C ve eNOS intron 4a/b polimorfizmleri belirlemek üzere ilgili gen bölgelerini çoğaltmak amacıyla PCR reaksiyon karışımı 0.5 µg kalıp DNA, 200 µM dNTP karışımı, 10x Taq reaksiyontamponundan(Mg-Free, from New England BioLabs, M0320S) 5 µL, 0.2 µM forward ve reverse primerler, 2.5 mM MgCl₂ and 1.25 Units Taq DNA polimeraz (New England BioLabs, M0320S)'dan final hacim 50 µL olacak şekilde hazırlandı. Her reaksiyonun sıcaklık ve sürelerini gösteren PCR koşulları ise Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. PON2-A148G, PON2-S311C ve eNOS intron 4a/b polimorfizmlerinin PCR optimizasyon koşulları

PCR koşulları	Sıcaklık (°C)	Süre
Başlangıç denatürasyonu	95	4dk
Denatürasyon	95	45s
Bağlanma (annealing)	58	45s
Uzama (extension)	68	45s
Final extension	68	5dk

PCR ürünleri %2'lik jelle yükleme boyası ile yüklenerek 150 V'da 30 dakika yürütülerek incelendi.

3.6.10.3. PCR Ürünlerinden RFLP ile Polimorfizmlerin Belirlenmesi:

PON1-Q192R AlwI Enzim Kesimi: PON1-Q192R'nin 99bp'lik amplifikasyon ürünü kesimi için 2UBspPI/AlwI (Thermo Scientific, Cat. No. ER1321) restriksiyon enzimi kullanıldı ve 55°C'de 2 saat inkübe edildi. Enzim kesim ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile ayrıldı.

PON1-L55M NlaIII Enzim Kesimi: PON1-L55M'nin amplifikasyon sonrası oluşan 171 bp'lik PCR ürünü kesimi için 5U NlaIII (Thermo Scientific, Cat. No. ER1831) restriksiyon enzimi kullanıldı ve 37°C'de 1 gece inkübe edildi. Enzim kesim ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile ayrıldı.

PON2-A148G Fnu4 HI Enzim Kesimi: PON2-A18G'nin 153 bp'lik amplifikasyon ürününün kesimi için 2U Fnu4 HI restriksiyon enzimi kullanıldı ve 37°C'de 15 saat inkübe edildi. Enzim kesim ürünleri %2,5'lik agaroz jel elektroforezi ile ayrıldı.

PON2-S311C DdeI Enzim Kesimi: PON2-S311C'nin amplifikasyon ürününün kesimi için 10UDdeI restriksiyon enzimi (Thermo Scientific, Cat. No. ER1881) kullanılarak 37°C'de 1 gece inkübe edildi. DdeI kesim ürünleri etidyum bromür eklenerek %4'lük NuSieve agaroz jel elektroforezi ile 45 dakika yürütüldü.

Bundan sonraki genotip belirleme süreci ultraviyole ışık altında yürütüldü.

3.6.11. Diğer Biyokimya Parametrelerinin Analizleri

Hemogram analizi (kan sayım cihazında), biyokimyasal parametreleri; kreatinin, TK, HDL-K, LDL-K, TG düzeyleri, ALT ve AST aktivitelerinin ölçümleri (otoanalizörde) özel bir laboratuvarında (Özel İzmir Ege Laboratuvarı) standart enzimatik-kolorimetrik yöntemlerle analiz edildi.

3.7. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler, SPSS 23 paket programıyla yapılmıştır. Shapiro-Wilk normallik testi sonrası, egzersiz ve kontrol gruplarından elde edilen ölçümler arasında anlamlı farklılığın olup olmadığı parametrik olan veriler "T-Test", nonparametrik olan veriler ise "Mann Whitney U Testi" uygulanarak analiz edildi.

Her iki grubun biyokimyasal parametreleri ve fiziksel ölçüm değerleri arasındaki ilişkiler "Spearman ve Pearson Korelasyon Analizleri" ile ortaya kondu.

Genotip ve allel frekansları Hardy-Weinberg eşitliği kullanılarak hesaplandı. Gruplar arası genotip frekansları arasındaki farklılıklar ki-kare testi ile hesaplandı.

Bağımlı değişkenler için genotip ve egzersiz arasındaki etkileşimler 2 x 2 (ana grup x genotip alt grupları) iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ile bulundu. İstatistiksel analizlerde $p < 0.05$ seviyesi anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir.



Bulgular

4.1. Sporcu ve Kontrol Grubunun Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular

Sporcu grubu (SG)'nin yaş aralığı kontrol grubu (KG)'nunkinden anlamlı olarak daha küçük kritik hız değeri ise daha büyük bulundu (Tablo 7).

Tablo 7. Katılımcıların fiziksel ve fizyolojik parametreleri (Ort±SD)

GRUPLAR	YAŞ (yıl)	BOY (cm)	VA (kg)	VKİ (kg/m ²)	S. Geç. (yıl)	KH (m/s)
SG (n=42)	21,7±4,2	178,8±7,1	81,6±13,9	25,5±4	4,7±3,4	1,26±1,24
KG (n=43)	23,9±3,2	179,5±6,2	79,2±12,5	24,6±3,5	-	0,99±0,29
Fark	p=0,005	p=0,613	p=0,325	p=0,102	-	p=0,000

VA: Vücut ağırlığı, VKİ: Vücut kitle indeksi, S. Geç.: Spor geçmişi, KH: Kritik hız.

SG'nin PON3 ve oksLDL değerleri KG'ninkinden anlamlı olarak daha büyük bulundu. Gruplar arasında PON1 ve PON2 düzeyleri açısından anlamlı farklılık bulunmadı (p>0,05). Ancak SG'nin PON1 ve PON2 değerleri KG'nin değerlerinden sırasıyla %10,1 ve %10,4 daha büyük olarak belirlendi (Tablo 8).

Tablo 8. Katılımcıların PON1, PON2, PON3 ve OxLDL protein değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

GRUPLAR	PON1 (ng/mL)	PON2 (ng/mL)	PON3 (ng/mL)	oksLDL (pg/mL)
SG (n=42)	537,3±384,3	94,1±50,1	28,1±5,4	4108,2±720,2
KG (n=43)	482,9±426,8	84,3±61,0	21,4±3,0	3570,4±601,1
Fark	p=0,282	p=0,415	p=0,000	p=0,000

PON 1: Paraoksonaz 1, PON 2: Paraoksonaz 2, PON 3: Paraoksonaz 3, oksLDL: Okside düşük yoğunluklu lipoprotein

SG'nin PON1EA değeri KG'ninkinden %25,1 daha büyük olmasına rağmen aradaki fark anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). SG'nin TBARS değeri KG'ninkinden anlamlı olarak daha büyük bulundu. (Tablo 9).

Tablo 9. Katılımcıların paraoksonaz, AREST enzim aktiviteleri ve NO ve TBARS değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

GRUPLAR	PON1EA (U/L)	TSPON1 (U/L)	AREST (KU/L)	NO (µM)	TBARS (µM)
SG (n=42)	65,3±46,1	119,7±61,2	64,9±14,2	44,7±13,1	14,5±4,6
KG (n=43)	48,9±37,9	113,3±58,9	67,8±10,6	42,1±9,8	12,2±2,6
Fark	p=0,052	p=0,604	p=0,275	p=0,654	p=0,013

PON1EA: Paraoksonaz 1 enzim aktivitesi, TSPON1: Tuzla stimüle paraoksonaz, AREST: Aril esteraz, NO: Nitrik oksit, TBARS: Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler.

SG'nin serum TG düzeyi KG'ninkine göre anlamlı olarak daha küçüktü (Tablo 10).

Tablo 10. Sporcu ve kontrol gruplarının KKH klasik risk faktörleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

GRUPLAR	TK (mg/dL)	LDL-K (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL-K (mg/dL)
SG (n=42)	196,17±40,46	115,79±38,65	88,55±66,06	62,67±13,63
KG (n=43)	198,79±40,00	117,72±34,58	112,81±61,09	58,51±14,38
Fark	p=0,550	p=0,577	p=0,011	p=0,175

TK: Total kolesterol, TG: Trigliserid

SG'nin kreatinin, alanin aminotransferaz (ALT) ve ortalama eritrosit hacmi (MCV) değerleri KG'ninkinden anlamlı olarak küçük, lökosit (WBC) ve platelet (PLT) değerleri ise daha büyük bulundu (Tablo 11).

Tablo 11. Katılımcıların Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

GRUPLAR	Kreatinin (mg/dL)	ALT (U/L)	AST (U/L)	WBC (10³/µL)	RBC (10⁶/µL)	Hct (%)	MCV (fL)	Hb (g/dL)	PLT (10³/µL)
SG(n=42)	0,80±0,14	10,4±5,9	16,2±19,8	8,90±2,32	5,27±4,00	45,5±2,9	86,5±5,6	15,6±1,1	293,0±50,6
KG(n=43)	0,97±0,14	12,5±6,4	14,7±6,2	7,55±1,85	5,26±0,33	46,6±2,6	88,8±4,8	15,5±1,0	263±42,0
Fark	p=0,000	p=0,027	p=0,135	p=0,002	p=0,925	p=0,061	p=0,026	p=0,755	p=0,004
RA	0,3-1,3	0-45	0-40	3,0-10,0	4,1-6,2	38-54	80-96	12,5-18	140-450

ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, WBC: Lökosit, RBC: Kırmızı kan hücresi(eritrosit), Hct: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, Hb:Hemoglobin, PLT (Platelet): Trombosit, RA: Referans aralığı.

4.2. Polimorfizmlerin Genotiplemesinin Oluşturulmasına İlişkin Bulgular

Enzim kesimi ile: PON1 192R alleli, 66 bp ve 33 bp'lik ürünler; PON1 192Q alleli, 99 bp'lik tek bir ürün oluştu. PON1-L55M'nin L genotipi NlaIII bölgesi içermezken, M genotipi 127 ve 44 bp büyüklükte ürünler verdi. PON2-A148G'de AA wild (yabani, mutasyon bulundurmeyen) homozigot 123 bp, GG mutant (değişime uğramış) homozigot 153 bp, AG heterozigot 123 ve 153 bp'lik fragmanlar oluştu. PON2-S311C'nin 142 bp ve 120 bp'lik fragman Cys311 (C alleli)'e karşılık gelirken, 75 bp ve 67 bp'lik ürün bantları ser311 (S alleli)'e karşılık geldi.

PON1, PON2 ve eNOS polimorfizmlerinin genotip ve allel frekanslarının sporcu, sedanter ve total gruplar arasındaki dağılımı Tablo 12'de verildi. Bazı genotip grupların sayısı çok küçük olduğundan dolayı ilgili genotip gruplar birleştirilerek taşıyıcı gruplar oluşturuldu ve hesaplamalar bunların üzerinden yorumlandı.

PON1-Q192R genotip frekansları sporcularda; homozigot QQ, heterozigot QR ve homozigot RR için sırasıyla %61.90, %33.33 ve %4.76, sedanterlerde; %55.81, %41.86 ve %2.33, tüm grupta ise %58.82, %38.65, %3.53 bulundu. Genotip ve allel frekansları açısından sporcu ve sedanter gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($\chi^2=0,902$ p=0,621; $\chi^2=0,123$ p=0,726).

PON1-L55M genotip frekansları sporcularda; homozigot LL, heterozigot LM, homozigot MM için sırasıyla %33.33, %52.38, %14.29, sedanterlerde; %34.88, %51.16, %13.95, tüm grupta ise %34.12, %51.76, %14.12 bulundu. Sporcu ve sedanter gruplar arasında genotip ve allel frekansları açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($\chi^2=0,023$ p=0,989; $\chi^2=0,000$ p=1,000).

PON2-A148G genotip frekansları sporcularda; homozigot AA, heterozigot AG, homozigot GG için sırasıyla %57.14, %38.10, %4.76, sedanterlerde; %58.14, %41.86, 0, tüm grupta ise %57.65, %40.00, %2.35 bulundu. Sporcu ve sedanter gruplar arasında genotip ve allel frekansları açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($\chi^2=2,127$ p=0,510; $\chi^2=0,000$ p=1,000).

PON2-S311C genotip frekansları sporcularda; homozigot SS, heterozigot SC, homozigot CC için sırasıyla %7.14, %40.48, %52.38, sedanterlerde; %6.98, %44.19, %48.84, tüm grupta ise %7.06, %42.35, %50.59 bulundu. Sporcu ve sedanter gruplar arasında genotip ve allel frekansları açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($\chi^2=0,123$ p=0,942; p=1,000).

eNOS3 intron 4a/b genotip frekansları sporcularda; homozigot aa, heterozigot ab, homozigot bb için sırasıyla %2.38, %19.05, %78.57, sedanterlerde; %2.33, %18.60, %79.07, tüm grupta ise %2.35, %18.82, %78.82 bulundu. Sporcu ve sedanter gruplar arasında genotip ve allel frekansları açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($\chi^2=0,003$ p=1,000; $\chi^2=0,000$ p=1,000).

Bu analizler sonucunda elde edilen Q ve R, L ve M, A ve G, S ve C, a ve b homozigotlarının frekans değerleri 'Mendelian kuralı'na göre 'Hardy-Weinberg' (Passarge, 2009) eşitliğini sağlamıştır.



Tablo 12. Polimorfizmlerin genotip ve allelik frekansları

Polimorfizm	Frekanslar	Gruplar	Sporcu	Sedanter	Total
PON1-Q192R	Genotip frekansları	QQ	26 (%61.90)	24 (%55.81)	50 (%58.82)
		QR	14 (%33.33)	18 (%41.86)	32 (%37.65)
		RR	2 (%4.76)	1 (%2.33)	3 (%3.53)
	Allel frekansları	Q	0.787	0.747	0.767
		R	0.213	0.253	0.233
PON1-L55M	Genotip frekansları	LL	14 (%33.33)	15 (%34.88)	29 (%34.12)
		LM	22 (%52.38)	22 (%51.16)	44 (%51.76)
		MM	6 (%14.29)	6 (%13.95)	12 (%14.12)
	Allel frekansları	L	0.577	0.591	0.584
		M	0.423	0.409	0.416
PON2-A148G	Genotip frekansları	AA	24 (%57.14)	25 (%58.14)	49 (%57.65)
		AG	16 (%38.10)	18 (%41.86)	34 (%40.00)
		GG	2 (%4.76)	0	2 (%2.35)
	Allel frekansları	A	0.756	0.762	0.759
		G	0.244	0.238	0.241
PON2-S311C	Genotip frekansları	SS	3 (%7.14)	3 (%6.98)	6 (%7.06)
		SC	17 (%40.48)	19 (%44.19)	36 (%42.35)
		CC	22 (%52.38)	21 (%48.84)	43 (%50.59)
	Allel frekansları	S	0.267	0.301	0.289
		C	0.733	0.699	0.711
eNOS3 intron 4a/b	Genotip frekansları	4a/4a	1 (%2.38)	1 (%2.33)	2 (%2.35)
		4a/4b	8 (%19.05)	8 (%18.60)	16 (%18.82)
		4b/4b	33 (%78.57)	34 (%79.07)	67 (%78.82)
	Allel frekansları	4a	0.114	0.111	0.112
		4b	0.886	0.889	0.888

4.2.1. Total Genotip Gruplarına Ait Bulgular

Tüm katılımcılara (total=T) ait PON1-192 genotiplemesine göre; total QQ homozigot grubu (TQQ), total heterozigot grubu (TQR) ve total R taşıyıcı grubu (TRT, TRT=QR+RR) incelendiğinde; TQQ'nun hemoglobin (Hb) değeri TQR ve TRT'ye göre anlamlı olarak daha büyüktü ($p=0,029$ ve $p=0,047$) (Tablo 16).

Total PON1-55 genotiplemesine göre; total LL homozigot grubu (TLL), total LM heterozigot grubu (TLM), total MM homozigot grubu (TMM) ve total M taşıyıcı grubu (TMT, TMT=LM+MM) incelendiğinde; TLL'nin oksLDL değeri TMT'ye göre anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p=0,027$) (Tablo 14).

Total PON2-148 genotiplemesine göre; total AA homozigot grubu (TAA), total heterozigot grubu (TAG) ve total G taşıyıcı grubu (TGT, TGT=AG+GG) incelendiğinde; TAA'nın PON1 ve PON2 değerleri TGT'ye göre anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p=0,001$) (Tablo 14). TAA'nın total kolesterol (TK) değeri TGT'ye göre anlamlı olarak daha küçük bulundu ($p=0,032$). TAA'nın LDL-K değeri TAG ve TGT'ye göre anlamlı olarak daha küçük bulundu (sırasıyla $p=0,027$ ve $p=0,047$) (Tablo 15).

Total PON2-311 genotiplemesine göre; total CC homozigot grubu (TCC), total heterozigot grubu (TSC) ve total S taşıyıcı grubu (TST, TST=SC+SS) incelendiğinde; TCC'nin HDL-K değeri TSC'ye göre anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p=0,001$) (Tablo 15).

Total eNOS3 4a/b genotiplemesine göre; total a homozigot grubu (Taa), total total ab heterozigot grubu (Tab), total bb homozigot grubu (Tbb) ve total a taşıyıcı grubu (TaT, TaT=aa+ab) incelendiğinde; aşağıda verilen tablolardaki (Tablo 14, 15, 16) parametreler açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 13. Total genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler (Ort±SD)

GRUPLAR	YAŞ (yıl)	BOY (cm)	VA (kg)	VKİ (kg/m ²)	Spor Geçmişi (yıl)	KH (m/s)
TQQ (n=50)	23,3±4,1	179,6±6,0	82,0±12,5	25,4±3,5	4,8±3,7 (n=26)	1,12±0,27
TQR (n=32)	21,9±3,5	178,5±7,0	77,8±14,0	24,4±4,2	4,2±2,9 (n=14)	1,11±0,24
TRR (n=3)	23,7±2,3	178,7±15,0	81,7±14,6	25,6±3,5	7,5±0,7 (n=2)	1,26±0,26
TRT (n=35)	22,1±3,5	178,5±7,6	78,1±13,8	24,5±4,1	4,6±2,9 (n=16)	1,12±0,24
TLL (n=29)	23,2±4,7	180,1±7,3	79,7±13,3	24,6±3,8	5,3±3,7 (n=14)	1,12±0,22
TLM (n=44)	22,3±3,4	179,0±6,3	80,7±14,1	25,1±3,9	4,0±2,5 (n=22)	1,10±0,27
TMM (n=12)	23,5±3,2	177,3±6,4	80,8±9,7	25,8±3,2	5,8±5,2 (n=6)	1,12±0,22
TMT (n=56)	22,6±3,3	178,6±6,3	80,8±13,2	25,3±3,7	4,4±3,2 (n=28)	1,13±0,28
TAA (n=49)	22,6±4,3	179,2±6,7	81,4±13,7	25,4±4,0	4,8±3,0 (n=24)	1,13±0,27
TAG (n=34)	23,1±3,2	179,4±6,7	79,2±12,8	24,6±3,4	4,5±3,9 (n=16)	1,11±0,25
TGG (n=2)	24,0±4,2	174,0±2,8	75,5±3,5	24,9±0,4	6,0±4,2 (n=2)	1,22±0,04
TGT (n=36)	23,1±3,2	179,1±6,7	79,0±12,4	24,6±3,3	4,7±3,9 (n=18)	1,12±0,25
TSS (n=6)	23,2±4,0	182,8±5,5	83,1±9,8	24,8±1,9	6,7±5,0 (n=3)	1,21±0,36
TSC (n=36)	23,0±4,1	179,4±6,0	79,5±12,5	24,7±3,7	4,5±4,2 (n=17)	1,10±0,24
TST (n=42)	23,0±4,1	179,9±6,0	80,0±12,1	24,7±3,5	4,8±4,3 (n=20)	1,12±0,26
TCC (n=43)	22,6±3,7	178,4±7,2	80,7±14,3	25,3±4,0	4,6±2,3 (n=22)	1,13±0,26
Taa (n=2)	20,0±4,2	176,0±7,1	85,5±2,1	27,6±1,5	6,0 (n=1)	1,13±0,02
Tab (n=16)	23,5±4,2	178,3±4,3	79,3±8,1	24,9±2,1	5,6±3,0 (n=8)	1,11±0,23
TaT (n=18)	23,1±4,2	178,0±4,4	80,0±7,9	25,2±2,1	5,7±2,8 (n=9)	1,11±0,22
Tbb (n=67)	22,7±3,8	179,4±7,1	80,5±14,3	25,0±4,1	4,5±3,5 (n=33)	1,13±0,27

TRT: R taşıyıcı genotip (QR+RR), **TMT:** M taşıyıcı genotip (LM+MM), **TGT:** G taşıyıcı genotip (AG+GG), **TST:** S taşıyıcı genotip (SC+SS), **Tat:** a taşıyıcı genotip (aa+ab), **VA:** Vücut Ağırlığı, **VKİ:** Vücut Kitle İndeksi, **KH:** Kritik hız.

Tablo 14. Total genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

GRUPLAR	PON1 (ng/mL)	PON2 (ng/mL)	PON3 (ng/mL)	oksLDL (pg/mL)	NO (µM)	TBARS (µM)
TQQ (n=50)	493,3±395,9	87,0±54,9	24,6±5,3	3794,2±682,1	43,9±12,9	13,9±4,4
TQR (n=32)	546,8±428,8	92,7±58,5	24,7±5,6	3872,5±765,1	42,2±9,5	12,2±2,7
TRR (n=3)	390,3±378,2	87,5±59,2	28,0±7,4	4146,6±779,7	46,5±9,8	15,2±3,8
TRT (n=35)	533,4±422,0	92,2±57,7	24,9±5,8	3896,0±758,7	42,5±9,5	12,4±2,9
TLL (n=29)	474,9±378,1	88,7±51,1	25,6±6,1	4072,8±774,0 ^c	43,7±11,5	13,6±4,6
TLM (n=44)	573,2±432,9	94,8±59,6	24,3±5,2	3737,9±589,1	42,4±11,8	13,3±3,7
TMM (n=12)	361,6±334,4	69,6±51,8	24,0±5,2	3624,1±868,6	46,0±11,3	12,4±2,5
TMT (n=56)	527,9±420,2	89,4±58,5	24,2±5,1	3713,5±651,5	43,2±11,7	13,1±3,5
TAA (n=49)	624,7±410,5 ^{a,b}	105,9±52,8 ^{a,b}	25,1±5,6	3928,2±737,0	44,2±12,1	13,3±4,4
TAG (n=34)	349,5±348,1	65,5±52,5	23,5±4,8	3647,5±628,6	42,3±11,0	13,2±3,2
TGG (n=2)	421,2±379,1	79,0±60,8	34,9±3,2	4786,8±193,6	39,9±10,3	15,4±1,2
TGT (n=36)	353,5±344,4	66,3±52,1	24,2±5,4	3710,8±666,1	42,2±10,8	13,3±3,1
TSS (n=6)	454,2±410,6	81,0±59,0	27,9±9,6	4154,7±1275,4	37,9±9,5	11,1±1,5
TSC (n=36)	548,2±428,5	91,9±57,8	24,2±5,5	3756,6±716,5	43,8±10,6	13,6±4,8
TST (n=42)	534,7±422,4	90,3±57,4	24,8±6,2	3813,4±810,2	43,0±10,6	13,3±4,6
TCC (n=43)	485,5±390,4	88,0±54,8	24,7±4,7	3858,3±609,9	43,7±12,6	13,3±3,1
Taa (n=2)	568,2±290,3	116,1±15,5	27,8±1,0	4166,8±279,9	44,5±14,3	12,4±0,1
Tab (n=16)	591,9±477,4	91,5±62,3	25,2±7,6	3842,6±913,5	45,1±15,7	14,1±5,3
TaT (n=18)	589,2±454,0	94,3±59,2	25,5±7,2	3878,6±867,1	45,1±15,2	13,9±5,0
Tbb (n=67)	488,5±391,6	87,8±55,2	24,5±4,9	3824,7±671,5	42,9±10,5	13,1±3,5

TRT: R taşıyıcı genotip (QR+RR), **TMT:** M taşıyıcı genotip (LM+MM), **TGT:** G taşıyıcı genotip (AG+GG), **TST:** S taşıyıcı genotip (SC+SS), **Tat:** a taşıyıcı genotip (aa+ab), **PON1:** Paraoksonaz 1, **PON2:** Paraoksonaz 2, **PON3:** Paraoksonaz 3, **oksLDL:** Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, **NO:** Nitrik oksit, **TBARS:** Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler. ^ap<0,01 AG'ye göre, ^bp<0,01 GT'ye göre, ^cp<0,05 MT'ye göre

Tablo 15. Total genotip gruplarına ait PON1, AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

GRUPLAR	PON1EA (U/L)	TSPON1 (U/L)	AREST (KU/L)	TK (mg/dL)	LDL-K (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL-K (mg/dL)
TQQ (n=50)	57,8±41,1	117,7±53,4	67,3±12,0	202,8±40,2	119,6±39,4	108,2±71,0	61,5±11,9
TQR (n=32)	56,3±46,1	116,8±69,1	65,7±13,6	188,8±40,1	112,5±33,0	90,6±54,0	58,1±16,9
TRR (n=3)	51,6±46,2	91,8±71,5	58,5±3,9	202,3±28,7	114,3±19,4	87,0±46,8	70,7±12,7
TRT (n=35)	55,9±45,4	114,6±68,5	65,0±13,2	189,9±39,1	112,7±31,8	90,3±52,8	59,2±16,8
TLL (n=29)	53,7±34,7	111,5±54,1	66,7±11,2	192,0±40,6	111,4±35,9	99,1±61,8	60,8±15,4
TLM (n=44)	52,3±35,5	113,3±58,8	65,4±13,4	195,9±37,9	116,4±33,9	97,9±65,2	59,9±14,0
TMM (n=12)	82,3±71,5	139,8±75,0	69,3±12,5	216,8±43,8	131,0±45,5	115,8±70,7	62,6±11,8
TMT (n=56)	58,7±46,5	119,0±62,8	66,2±13,2	200,4±39,8	119,6±36,7	101,7±66,2	60,4±13,5
TAA (n=49)	54,6±42,2	108,4±57,4	65,6±11,1	188,8±32,6 ^b	108,2±28,5 ^{a,b}	99,3±67,1	60,7±15,2
TAG (n=34)	55,8±39,4	124,0±61,2	66,1±13,3	209,5±47,4	128,5±44,0	106,5±61,2	59,6±11,5
TGG (n=2)	136,3±61,0	185,7±56,4	90,3±14,0	208,0±19,8	127,2±10,5	41,5±6,4	72,5±29,0
TGT (n=36)	60,3±43,8	127,4±61,9	67,5±14,3	209,4±46,1	128,4±42,7	102,9±61,3	60,4±12,6
TSS (n=6)	47,1±30,2	116,1±54,2	60,9±16,0	199,3±24,5	111,4±35,6	98,8±50,2	68,2±19,9
TSC (n=36)	62,4±48,2	124,0±67,2	66,6±13,5	192,3±43,2	117,5±36,2	102,4±66,7	54,4±13,3 ^c
TST (n=42)	60,2±46,1	122,8±65,0	65,8±13,8	193,3±40,9	116,6±35,8	101,9±64,1	56,3±14,9
TCC (n=43)	53,9±39,4	110,2±54,2	67,0±11,2	201,6±39,1	116,9±37,5	99,8±65,4	64,7±12,0
Taa (n=2)	33,2±1,8	81,3±25,3	66,0±7,7	225,5±30,4	121,4±38,5	175,5±96,9	69,0±11,3
Tab (n=16)	66,7±62,6	121,9±76,4	69,0±14,9	201,4±35,5	124,4±29,1	98,6±66,6	57,3±13,7
TaT (n=18)	63,0±59,8	117,4±73,2	68,7±14,1	204,1±35,0	124,0±28,9	107,1±71,3	58,6±13,7
Tbb (n=67)	55,4±37,3	116,2±56,2	65,8±12,1	195,7±41,3	114,8±38,2	99,1±62,9	61,1±14,3

TRT:R taşıyıcı genotip (QR+RR), **TMT:**M taşıyıcı genotip (LM+MM), **TGT:**G taşıyıcı genotip (AG+GG), **TST:**S taşıyıcı genotip (SC+SS), **Tat:**a taşıyıcı genotip (aa+ab), **PON1EA:**Paraoksonaz1 enzim aktivitesi, **TSPON1:**Tuzla stimüle paraoksonaz, **AREST:**Aril esteraz, **TK:** Total Kolesterol, **TG:** Trigliserit. ^ap<0,05 AG'ye göre, ^bp<0,05 GT'ye göre, ^cp<0,01 CC'ye göre.

Tablo 16. Total genotip gruplarına ait Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler (Ort±SD) ve karşılaştırılması

GRUPLAR	Kreatinin (mg/dL)	ALT (U/L)	AST (U/L)	WBC (10 ³ /μL)	RBC (10 ⁶ /μL)	Hct (%)	MCV (fL)	Hb (g/dL)	PLT (10 ³ /μL)
TQQ (n=50)	0,88±0,17	11,66±6,97	14,29±10,98	7,89±2,21	5,24±0,34	46,4±2,5	88,6±3,6	15,73±0,88 ^a	275,9±41,8
TQR (n=32)	0,90±0,15	11,39±5,01	17,51±19,30	8,77±2,17	5,31±0,41	45,5±3,2	86,1±7,2	15,15±1,26	285,0±55,6
TRR (n=3)	0,78±0,07	7,93±6,05	13,03±0,60	7,77±1,17	5,28±0,31	46,4±3,5	87,7±1,4	16,00±1,25	238,7±70,9
TRT (n=35)	0,89±0,15	11,10±5,10	17,12±18,47	8,68±2,11	5,31±0,39	45,6±3,2	86,3±6,9	15,23±1,26	281,0±57,4
TLL (n=29)	0,92±0,18	11,50±5,20	14,41±5,51	8,13±2,40	5,25±0,37	46,1±3,0	88,1±5,6	15,57±1,21	271,8±39,2
TLM (n=44)	0,86±0,15	11,54±7,38	16,95±19,50	8,23±1,93	5,28±0,35	45,9±2,7	87,2±5,6	15,46±1,06	284,5±53,5
TMM (n=12)	0,91±0,17	10,83±3,83	12,51±4,57	8,37±2,73	5,26±0,42	46,3±2,9	88,3±3,6	15,64±0,85	269,7±50,6
TMT (n=56)	0,87±0,15	11,39±6,75	16,00±17,46	8,26±2,10	5,28±0,36	46,0±2,7	87,4±5,2	15,50±1,01	281,3±52,8
TAA (n=49)	0,90±0,16	11,19±5,85	15,86±15,78	8,07±2,12	5,27±0,38	45,8±2,9	87,2±5,2	15,46±1,10	280,8±48,9
TAG (n=34)	0,88±0,16	12,05±6,88	15,49±12,86	8,46±2,34	5,27±0,35	46,4±2,8	88,3±5,6	15,61±1,08	271,8±48,4
TGG (n=2)	0,64±0,06	6,65±0,21	5,05±5,59	7,65±1,63	5,18±0,28	45,4±1,6	87,7±1,7	15,50±0,57	317,0±31,1
TGT (n=36)	0,87±0,17	11,75±6,80	14,91±12,76	8,42±2,29	5,27±0,34	46,4±2,7	88,3±5,5	15,61±1,06	274,3±48,5
TSS (n=6)	0,91±0,11	10,48±3,49	14,70±6,97	8,65±3,28	5,49±0,45	44,4±4,7	81,4±12,4	14,73±1,92	274,8±62,8
TSC (n=36)	0,90±0,18	12,86±7,24	18,14±21,09	8,49±2,25	5,27±0,30	46,5±2,4	88,2±3,7	15,64±0,86	287,4±52,9
TCC (n=43)	0,87±0,15	10,37±5,44	13,31±5,76	7,92±1,98	5,23±0,39	46,0±2,8	88,1±4,5	15,53±1,08	270,6±42,2
TST (n=42)	0,90±0,17	12,52±6,85	17,65±19,68	8,52±2,37	5,30±0,33	46,2±2,8	87,3±6,0	15,51±1,09	285,6±53,7
Taa (n=2)	0,89±0,01	11,65±6,86	9,95±4,74	9,05±4,45	5,75±0,42	48,6±3,9	84,4±0,4	16,20±1,27	284,0±29,7
Tab (n=16)	0,89±0,19	13,13±8,52	20,64±26,21	7,47±1,35	5,15±0,36	45,2±2,4	88,0±4,2	15,29±0,81	283,6±37,8
Tbb (n=67)	0,88±0,16	11,01±5,60	14,38±10,13	8,37±2,28	5,28±0,35	46,2±2,9	87,7±5,6	15,56±1,13	276,5±51,5
TaT (n=18)	0,89±0,18	12,97±8,19	19,45±24,89	7,64±1,74	5,22±0,41	45,6±2,7	87,6±4,1	15,39±0,87	283,7±36,2

ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, WBC: Lökosit, RBC: Kırmızı kan hücresi(eritrosit), Hct: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosithacmi, Hb: Hemoglobin, PLT (Platelet): Trombosit. ^ap<0,05 RT'ye göre

4.2.2. PON1-Q192R Genotiplemesine Göre Genotip Gruplarının Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular

Sporcu Ve Sedanter Genotip Grupları Karşılaştırıldığında:

Sporcu genotip grupları [sporcu QQ homozigot grubu (SQQ), sporcu QR heterozigot grubu (SQR) ve sporcu R taşıyıcı grubu (SRT, SRT=SQR+SRR)] ve kontrol genotip grupları [kontrol QQ homozigot grubu (KQQ), kontrol QR heterozigot grubu (KQR) ve kontrol R taşıyıcı grubu (KRT, KRT=KQR+RR)] incelendiğinde (Tablo 17 ve 18); SQQ'nun kritik hız (p=0,000), WBC (p=0,017), PON3 (p=0,000), oksLDL (p=0,002), PON1EA (p=0,005) ve TBARS (p=0,016) değerleri KQQ'dan anlamlı olarak daha büyük; kreatinin değeri ise daha küçük bulundu (p=0,000).

SQR'nin kritik hız (p=0,000), WBC (p=0,010), PLT (p=0,000) ve PON3 (p=0,000) değerleri KQR'ninkinden anlamlı olarak daha büyük bulunurken, kreatinin (p=0,001), MCV (p=0,014), TG (p=0,012) ve AREST değerleri (p=0,010) daha küçük bulundu.

SRT'nin kritik hız (p=0,001), WBC (p=0,014), PLT (p=0,002) ve PON3 (p=0,000) değerleri KRT'ninkinden anlamlı olarak büyük bulunurken, kreatinin (p=0,001), MCV (p=0,013), AREST (p=0,005) ve TG (p=0,040) değerleri daha küçük bulundu. SRT'nin oksLDL değeri KRT'ye göre %13,6 daha büyük bulunsa da aradaki fark anlamlı değildi (p=0,051).

Sporcu Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: Homozigot QQ grubunun MCV (p=0,029), Hb (p=0,020), AREST (p=0,034) ve TBARS (p=0,033) değerleri heterozigot QR grubuna göre anlamlı olarak daha büyük, PLT (p=0,003) ve WBC (p=0,027) değeri ise anlamlı olarak daha küçüktü. Homozigot QQ grubunun MCV (p=0,011) ve AREST (p=0,020) değeri R taşıyıcı grubuna göre anlamlı olarak daha büyük, PLT (p=0,045) ve WBC (p=0,049) değeri ise daha küçüktü.

Kontrol Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: R taşıyıcı (RT, RT=RR+QR) grubunun PON1EA (%46) ve PON1 protein düzeyi (%23) QQ homozigot grubununkinden anlamlı olmasa da (p>0,05) daha büyüktü.

PON1-Q192R genotiplemesine göre sporcu ve kontrol genotip grupları arasında diğer parametreler açısından anlamlı bir fark bulunmadı (p>0,05).

Tablo 17. PON1-Q192R genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Parametreler	SG				KG			
	SQQ (n=26)	SQR (n=14)	SRR (n=2)	SRT (n=16)	KQQ (n=24)	KQR (n=18)	KRR (n=1)	KRT (n=19)
YAŞ (yıl)	22,3±4,3	20,0±3,6	25,00±0,0	20,6±3,8	24,4±3,5	23,4±2,8	21,0	23,3±2,7
BOY (cm)	179,8±6,7	176,3±6,2	182,5±19,1	177,1±7,9	179,3±5,2	180,3±7,3	171,0	179,8±7,4
VA (kg)	83,5±15,1	76,9±11,1	89,5±7,8	78,5±11,4	80,3±9,1	78,4±16,1	66,0	77,7±15,9
VKİ (kg/m ²)	25,8±4,3	24,8±3,6	27,1±3,3	25,1±3,5	25,0±2,4	24,1±4,7	22,6	24,0±4,6
Spor Geçmişi (yıl)	4,8±3,7	4,2±2,9	7,5±0,7	4,6±2,9	-	-	-	-
Kritik Hız (m/s)	1,26±0,11 ^c	1,28±0,13 ^c	1,13±0,18	1,26±0,14 ^b	0,98±0,31	0,98±0,23	1,52	1,01±0,26
Kreatinin (mg/dL)	0,81±0,15 ^c	0,80±0,14 ^b	0,81±0,04	0,80±0,13 ^b	0,97±0,15	0,98±0,12	0,71	0,96±0,13
ALT (U/L)	10,4±6,3	10,2±5,7	10,9±4,5	10,3±5,5	13,0±7,5	12,3±4,3	2,0	11,7±4,8
AST (U/L)	14,8±14,4	19,2±28,6	13,4±0,4	18,5±26,7	13,7±5,6	16,2±6,9	12,4	16,0±6,8
WBC (10 ³ /μL)	8,46±2,31 ^{a,d,f}	9,85±2,24 ^a	8,00±1,56	9,62±2,22 ^a	7,28±1,94	7,92±1,75	7,30	7,89±1,70
RBC (10 ⁶ /μL)	5,21±0,33	5,38±0,50	5,30±0,44	5,37±0,48	5,27±0,35	5,26±0,32	5,24	5,25±0,31
Hct (%)	45,9±2,4	44,5±3,6	46,6±4,9	44,8±3,6	46,9±2,6	46,3±2,8	45,9	46,3±2,7
MCV (fL)	88,2±3,8 ^{d,f}	83,2±7,3 ^a	87,9±1,9	83,8±7,0 ^a	89,1±3,4	88,4±6,5	87,5	88,3±6,3
Hb (g/dL)	15,8±0,9 ^d	15,0±1,3	16,2±1,7	15,1±1,4	15,6±0,9	15,3±1,2	15,6	15,3±1,2
PLT (10 ³ /μL)	280,8±40,8 ^{e,f}	326,0±44,6 ^c	220,5±89,8	312,8±59,7 ^b	270,6±43,1	253,1±40,7	275,0	254,3±39,9

SQQ: Sporcu grubuna ait QQ genotipi, SQR: Sporcu grubuna ait QR genotipi, SRR: Sporcu grubuna ait RR genotipi, SRT: Sporcu grubuna ait R taşıyıcı genotip (QR+RR), KQQ: Kontrol grubuna ait QQ genotipi, KQR: Kontrol grubuna ait QR genotipi, KRR: Kontrol grubuna ait RR genotipi, KRT: Kontrol grubuna ait R taşıyıcı genotip (QR+RR), VA: Vücut Ağırlığı, VKİ: Vücut Kitle İndeksi, ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, WBC: Lökosit, RBC: Kırmızı kan hücresi (eritrosit), Hct: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, Hb: Hemogloblin, PLT (Platelet): Trombosit, a: p<0.05SG aynı genotip grubun KG ile, b: p<0.01 KG ile, c: p<0.001 KG ile, d: p<0.05 SQR'ye göre, e: p<0.01 SQR'ye göre, f: p<0.05 SRT'ye göre karşılaştırılması.

Tablo 18. PON1-192 genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS düzeyleri, paraoksonaz ve AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Parametreler	SG				KG			
	SQQ (n=26)	SQR (n=14)	SRR (n=2)	SRT (n=16)	KQQ (n=24)	KQR (n=18)	KRR (n=1)	KRT (n=19)
PON1 (ng/mL)	543,7±380,9	576,9±404,9	177,4±118,5	527,0±402,1	438,7±412,7	523,4±456,7	816,1	538,8±448,9
PON2 (ng/mL)	92,3±50,2	102,6±51,5	58,1±42,9	97,1±51,5	81,2±60,2	84,9±63,7	146,2	88,1±63,5
PON3 (ng/mL)	27,5±5,2 ^c	28,8±5,6 ^c	30,6±8,3	29,0±5,7 ^c	21,3±3,1	21,5±3,1	22,8	21,5±3,0
OksLDL (pg/mL)	4072,2±735,3 ^b	4129,6±720,8	4425,4±865,8	4166,6±714,5	3493,1±470,6	3672,5±757,2	3589,1	3668,1±736,1
NO (µM)	45,0±14,9	43,3±10,2	50,7±9,1	44,2±10,1	42,8±10,6	41,3±9,1	37,9	41,1±8,9
TBARS (µM)	15,4±5,2 ^{a,d}	12,2±2,3 ^c	17,2±2,4	12,8±2,8	12,2±2,3	12,1±3,0	11,3	12,1±3,0
PON1EA (U/L)	73,6±49,5 ^b	49,9±37,1	66,6±54,0	52,0±37,7	40,7±18,8	61,3±52,5	21,6	59,2±51,9
TSPON1 (U/L)	129,5±54,5	102,7±70,6	112,2±87,9	103,9±69,6	105,0±50,3	127,7±67,7	50,9	123,7±68,1
AREST (KU/L)	68,8±13,3 ^{d,f}	58,8±14,5 ^{b,d}	56,3±0,4	58,5±13,6 ^b	65,7±10,5	71,0±10,4	63,0	70,6±10,3
TK (mg/dL)	200,7±44,7	185,3±32,0	213,0±31,1	188,8±32,3	205,0±35,3	191,4±46,2	181,0	190,9±44,9
LDL-K (mg/dL)	118,5±44,0	109,5±30,2	125,0±7,6	111,5±28,7	120,9±34,6	114,9±35,7	92,8	113,7±35,1
TG (mg/dL)	100,6±77,8	63,4±30,7 ^a	107,5±43,1	68,9±34,2 ^a	116,4±63,3	111,8±59,3	46,0	108,3±59,6
HDL-K (mg/dL)	62,2±11,9	63,1±17,2	66,5±14,8	63,5±16,5	60,9±12,1	54,2±16,1	79,0	55,5±16,7

SQQ: Sporcu grubuna ait QQ genotipi, **SQR:** Sporcu grubuna ait QR genotipi, **SRR:** Sporcu grubuna ait RR genotipi, **SRT:** Sporcu grubuna ait R taşıyıcı genotip (QR+RR), **KQQ:** Kontrol grubuna ait QQ genotipi, **KQR:** Kontrol grubuna ait QR genotipi, **KRR:** Kontrol grubuna ait RR genotipi, **KRT:** Kontrol grubuna ait R taşıyıcı genotip (QR+RR), **PON1:** Paraoksonaz 1, **PON2:** Paraoksonaz 2, **PON3:** Paraoksonaz 3, **oksLDL:** Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, **NO:** Nitrik oksit, **TBARS:** Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, **PON1EA:** Paraoksonaz1 enzim aktivitesi, **TSPON1:** Tuzla stimüle paraoksonaz, **AREST:** Aril esteraz, **TK:** Total Kolesterol, **TG:** Trigliserit, **a:** $p<0.05$ SG aynı genotip grubun KG ile, **b:** $p<0.01$ KG ile, **c:** $p<0.001$ KG ile, **d:** $p<0.05$ SQR'ye göre, **e:** $p<0.01$ SQR'ye göre, **f:** $p<0.05$ SRT'ye göre karşılaştırılması.

4.2.3. PON1-L55M Genotiplemesine Göre Genotip Gruplarının Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular

Sporcu Ve Sedanter Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: Sporcu genotip grupları [sporcu LL homozigot grup (SLL), sporcu LM heterozigot grup (SLM), sporcu MM homozigot grup (SMM) ve sporcu M taşıyıcı grup SMT, SMT=SLM+SMM] ve kontrol genotip grupları [kontrol LL homozigot grup (KLL), kontrol LM heterozigot grup (KLM), kontrol MM homozigot grup (KMM) ve kontrol M taşıyıcı grup KMT, KMT=KLM+KMM] incelendiğinde (Tablo 19 ve 20); SLL'nin kritik hız ($p=0,001$) ve PON3 ($p=0,001$) değerleri KLL'ninkinden anlamlı olarak büyük; kreatinin ($p=0,000$) ve AREST ($p=0,002$) değerleri ise daha küçük bulundu.

SLM'nin kritik hız ($p=0,000$), WBC ($p=0,015$), PON3 ($p=0,000$), oksLDL ($p=0,000$) ve TBARS ($p=0,032$) değerleri KLM'ninkinden anlamlı olarak büyük bulunurken, kreatinin ($p=0,020$), HCT ($p=0,013$) ve trigliserid ($p=0,042$) değerleri daha küçük bulundu.

SMM'nin HDL-K değeri KMM'ninkinden anlamlı olarak büyük bulunurken ($p=0,014$), KMM'nin kreatinin değeri SMM'ninkinden anlamlı büyük bulundu ($p=0,008$). SMM'nin PON3 değeri KMM'ninkinden %26,4 büyük olmasına rağmen aradaki fark anlamlı değildi ($p=0,052$).

SMT'nin kritik hız ($p=0,000$), WBC ($p=0,003$), PLT ($p=0,023$), PON3 ($p=0,000$), oksLDL ($p=0,000$) ve HDL-K ($p=0,029$) KMT'ye göre anlamlı olarak büyük bulunurken, KMT'nin kreatinin ($p=0,001$), HCT ($p=0,008$) ve trigliserid ($p=0,016$) değerleri SMT'ye göre anlamlı olarak büyük bulundu.

Sporcu Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: Homozigot MM grubunun AREST ($p=0,009$) ve HDLK ($p=0,039$) değeri homozigot LL grubuna göre anlamlı olarak daha büyüktü.

Kontrol Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: Homozigot LL grubunun AREST aktivitesi ($p=0,033$) ve oksLDL ($p=0,003$) değeri MT grubundan daha büyüktü. MT grubunun PON1 protein düzeyi (%20) ve PON1EA (%16) LL homozigot grubununkinden anlamlı olmasa da daha büyüktü ($p>0,05$).

PON1-L55M genotiplemesine göre sporcu ve kontrol genotip grupları arasında diğer parametreler açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 19. PON1-L55M genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Parametreler	SG				KG			
	SLL (n=14)	SLM (n=22)	SMM (n=6)	SMT (n=28)	KLL (n=15)	KLM (n=22)	KMM (n=6)	KMT (n=28)
YAŞ (yıl)	22,0±5,3	21,0±3,3	23,3±4,3	21,5±3,6	24,4±4,0	23,6±2,9	23,7±2,0	23,6±2,7
BOY (cm)	181,4±8,2	178,1±6,1	174,8±7,4	177,4±6,4	178,9±6,3	179,9±6,6	179,8±4,6	179,8±6,1
VA (kg)	84,7±15,5	79,6±13,3	81,5±12,5	80,0±13,0	74,9±8,9	81,8±15,0	80,2±7,2	81,5±13,6
VKİ (kg/m ²)	25,8±4,8	25,0±3,4	26,7±4,0	25,4±3,6	23,4±2,1	25,3±4,4	24,8±2,2	25,2±4,0
Spor Geçmişi (yıl)	5,3±3,7	4,0±2,5	5,8±5,2	4,4±3,2	-	-	-	-
Kritik hız (m/s)	1,25±0,12 ^b	1,26±0,13 ^c	1,27±0,15	1,26±0,13 ^c	0,99±0,21	0,94±0,29	1,20±0,39	0,99±0,32
Kreatinin (mg/dL)	0,80±0,16 ^c	0,81±0,15 ^a	0,80±0,12 ^b	0,81±0,14 ^b	1,02±0,13	0,91±0,13	1,03±0,12	0,94±0,14
ALT (U/L)	10,0±4,6	10,6±7,1	10,4±4,4	10,5±6,6	12,9±5,5	12,5±7,7	11,2±3,6	12,2±7,0
AST (U/L)	12,5±4,4	19,7±26,8	12,3±4,9	18,1±23,9	16,2±6,0	14,2±6,6	12,8±4,6	13,9±6,2
WBC (10 ³ /μL)	8,72±2,87	8,93±1,99 ^a	9,23±2,42	8,99±2,05 ^b	7,58±1,78	7,54±1,62	7,50±2,96	7,53±1,91
RBC (10 ⁶ /μL)	5,32±0,47	5,27±0,30	5,15±0,56	5,25±0,36	5,19±0,25	5,29±0,39	5,36±0,22	5,30±0,36
Hct (%)	46,3±3,5	45,0±2,4 ^a	45,5±3,2	45,1±2,6 ^b	46,0±2,7	46,9±2,7	47,1±2,5	47,0±2,6
MCV (fL)	87,2±4,0	85,5±6,7	88,6±3,9	86,2±6,3	88,8±6,8	88,9±3,4	88,0±3,7	88,7±3,5
Hb (g/dL)	15,9±1,2	15,3±1,1	15,6±0,9	15,4±1,0	15,3±1,1	15,6±1,0	15,7±0,8	15,6±1,0
PLT (10 ³ /μL)	284,9±48,2	297,4±55,4	296,2±42,3	297,1±52,2 ^a	259,5±24,1	271,5±49,3	243,2±46,6	265,5±49,3

SLL: Sporcu grubuna ait LL genotipi, SLM: Sporcu grubuna ait LM genotipi, SMM: Sporcu grubuna ait MM genotipi, SMT: Sporcu grubuna ait M taşıyıcı genotip (LM+MM), KLL: Kontrol grubuna ait LL genotipi, KLM: Kontrol grubuna ait LM genotipi, KMM: Kontrol grubuna ait MM genotipi, KMT: Kontrol grubuna ait M taşıyıcı genotip (LM+MM), VA: Vücut Ağırlığı, VKİ: Vücut Kitle İndeksi, ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, WBC: Lökosit, RBC: Kırmızı kan hücresi (eritrosit), Hct: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosithacmi, Hb: Hemoglobin, PLT (Platelet): Trombosit, a: p<0.05 KG'ye ait aynı genotip grup ile karşılaştırılması, b: p<0.01 KG ile, c: p<0.001 KG ile karşılaştırılması.

Tablo 20. PON1-L55M genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS düzeyleri, paraoksonaz ve AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Parametreler	SG				KG			
	SLL (n=14)	SLM (n=22)	SMM (n=6)	SMT (n=28)	KLL (n=15)	KLM (n=22)	KMM (n=6)	KMT (n=28)
PON1 (ng/mL)	526,2±340,3	568,7±421,6	448,2±386,3	542,9±410,4	427,1±416,3	577,7±453,9	275,1±280,8	512,9±436,9
PON2 (ng/mL)	99,8±43,3	93,3±54,5	84,0±55,0	91,3±53,7	78,3±57,0	96,3±65,6	55,1±48,8	87,4±63,9
PON3 (ng/mL)	29,2±6,6 ^b	27,7±4,9 ^c	26,8±4,4	27,5±4,7 ^c	22,3±2,9	20,9±2,6	21,2±4,6	21,0±3,0
oksLDL (pg/mL)	4225,4±907,1	4047,9±592,9 ^c	4055,5±761,0	4049,5±617,0 ^c	3930,4±623,7	3428,0±397,1	3192,8±796,3	3377,6±499,7 ^e
NO (µM)	47,1±12,0	41,9±13,7	49,2±13,2	43,5±13,7	40,5±10,5	42,9±9,8	42,8±8,9	42,9±9,5
TBARS (µM)	15,2±5,8	14,6±4,2 ^a	12,4±1,8	14,1±3,9	12,1±2,3	12,1±2,7	12,5±3,2	12,2±2,8
PON1 (U/L)	63,7±40,9	61,6±42,3	82,7±71,7	66,1±49,2	44,3±25,6	43,0±24,7	81,9±78,2	51,3±43,3
TSPON1 (U/L)	118,3±64,0	118,4±65,0	127,9±47,2	120,4±60,9	105,2±44,2	108,3±52,9	151,8±99,1	117,6±65,8
AREST (KU/L)	60,4±7,2 ^b	65,6±17,2	72,7±11,4 ^e	67,1±16,2	72,5±11,2	65,2±8,5	65,9±13,6	65,4±9,5 ^d
TK (mg/dL)	193,0±50,1	190,2±25,7	225,5±53,9	197,8±35,6	191,0±31,1	201,6±47,0	208,0±33,6	203,0±44,0
LDL-K (mg/dL)	115,1±48,1	110,3±23,2	137,6±57,1	116,2±34,0	107,9±20,2	122,6±41,6	124,5±34,4	123,0±39,6
TG (mg/dL)	93,3±66,4	85,7±71,7 ^a	88,0±51,3	86,2±67,0 ^a	104,5±59,0	110,1±57,1	143,5±80,8	117,3±62,8
HDL-K (mg/dL)	59,3±14,0	62,7±14,3	70,3±7,3 ^{a,d}	64,4±13,4 ^a	62,2±17,0	57,0±13,4	54,8±10,4	56,5±12,7

SLL: Sporcu grubuna ait LL genotipi, SLM: Sporcu grubuna ait LM genotipi, SMM: Sporcu grubuna ait MM genotipi, SMT: Sporcu grubuna ait M taşıyıcı genotip (LM+MM), KLL: Kontrol grubuna ait LL genotipi, KLM: Kontrol grubuna ait LM genotipi, KMM: Kontrol grubuna ait MM genotipi, KMT: Kontrol grubuna ait M taşıyıcı genotip (LM+MM), PON: Paraoksonaz, oksLDL: Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, NO: Nitrik oksit, TBARS: Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, PONIEA: PON1 enzim aktivitesi, TSPON1: Tuzla stimüle PON1, AREST: Aril esteraz, TK: Total Kolesterol, TG: Trigliserit, a: p<0.05 KG'ye ait aynı genotip grup ile karşılaştırılması, b: p<0.01 KG'ye ait aynı genotip grup ile, c: p<0.001 KG ile, d: p<0.05 grup içindeki LL ile karşılaştırılması, e: p<0.01 grup içindeki LL ile karşılaştırılması.

4.2.4. PON2-A148G Genotiplemesine Göre Genotip Grupların Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular

Sporcu Ve Sedanter Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: Sporcu genotip grupları [sporcu AA homozigot grubu (SAA), sporcu AG heterozigot grubu (SAG), sporcu GG homozigot grubu (SGG) sporcu G taşıyıcı grup (SGT=SAG+SGG)] ve kontrol genotip grupları [kontrol AA homozigot grubu (KAA), kontrol AG heterozigot grubu (KAG), kontrol GG homozigot grubu (KGG) ve kontrol G taşıyıcı grup (KGT=KAG+KGG)] incelendiğinde (Tablo 21 ve 22); SAA'nın kritik hız ($p=0,000$) ve PON3 ($p=0,000$) değeri KAA'ya göre anlamlı olarak büyük bulunurken, kreatinin ($p=0,000$) ve trigliserid ($p=0,044$) değerleri ise KAA'ya göre anlamlı olarak daha küçük bulundu.

SAG'nin kritik hız ($p=0,003$), WBC ($p=0,006$), PLT ($p=0,000$), PON1 ($p=0,025$), PON2 ($p=0,016$), PON3 ($p=0,000$) ve oksLDL ($p=0,002$) değerleri KAG'ye göre anlamlı olarak büyük bulunurken, kreatinin ($p=0,007$) değeri ise daha küçük bulundu.

SGT'nin kritik hız ($p=0,002$), WBC ($p=0,009$), PLT ($p=0,000$), PON1 ($p=0,016$), PON2 ($p=0,010$), PON3 ($p=0,000$), oksLDL ($p=0,000$), TBARS ($p=0,043$) değerleri KGT'ye göre anlamlı olarak daha büyük; kreatinin ($p=0,002$) değeri ise daha küçüktü.

Sporcu Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: Homozigot AA grubunun LDL-K ($p=0,041$) ve TK ($p=0,028$) değerleri heterozigot AG grubuna göre anlamlı olarak daha küçüktü. Homozigot AA grubunun LDL-K ($p=0,027$) ve TK ($p=0,019$) değerleri G taşıyıcı grubuna göre anlamlı olarak daha küçüktü.

Kontrol Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: PON2 protein ($p=0,000$) ve oksLDL ($p=0,036$) düzeyleri homozigot AA grubunun G taşıyıcı (GT, GT=GG+AG) grubununkinden anlamlı olarak daha büyüktü.

PON2-148 genotiplemesine göre sporcu ve kontrol genotip grupları arasında diğer parametreler açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 21. PON2-A148G genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Parametreler	SG				KG			
	SAA (n=24)	SAG (n=16)	SGG (n=2)	SGT (n=18)	KAA (n=25)	KAG (n=18)	KGG (n=0)	KGT (n=18)
YAŞ (yıl)	21,3±4,3	21,9±4,0	24,0±4,2	22,2±4,0	23,8±3,9	24,1±1,9	-	24,1±1,9
BOY (cm)	179,3±7,9	178,5±6,6	174,0±2,8	178,0±6,4	179,0±5,6	180,2±7,0	-	180,2±7,0
VA (kg)	82,3±13,4	81,3±15,6	75,5±3,5	80,6±14,8	80,5±14,2	77,4±9,7	-	77,4±9,7
VKİ (kg/m²)	25,6±4,0	25,4±4,2	24,9±0,4	25,4±4,0	25,1±4,1	23,8±2,4	-	23,8±2,4
Spor Geçmişi (yıl)	4,8±3,0	4,5±3,9	6,0±4,2	4,7±3,9	-	-	-	-
Kritik hız (m/s)	1,3±0,1 ^c	1,2±0,1 ^b	1,2±0,0	1,2±0,1 ^b	0,99±0,29	1,00±0,29	-	1,00±0,29
Kreatinin (mg/dL)	0,82±0,12 ^c	0,80±0,17 ^b	0,64±0,06	0,79±0,17 ^b	0,98±0,15	0,95±0,13	-	0,95±0,13
ALT (U/L)	9,9±5,6	11,5±6,7	6,7±0,2	11,0±6,5	12,4±6,0	12,5±7,2	-	12,5±7,2
AST (U/L)	16,4±21,7	17,4±18,0	5,1±5,6	16,0±17,4	15,3±6,7	13,8±5,3	-	13,8±5,3
WBC (10³/μL)	8,52±1,99	9,64±2,72 ^b	7,65±1,63	9,42±2,67 ^b	7,64±2,19	7,42±1,27	-	7,42±1,27
RBC (10⁶/μL)	5,26±0,42	5,30±0,39	5,18±0,28	5,29±0,37	5,28±0,34	5,24±0,32	-	5,24±0,32
Hct (%)	45,3±3,0	45,8±3,0	45,4±1,6	45,8±2,9	46,4±2,7	47,0±2,5	-	47,0±2,5
MCV (fL)	86,3±4,7	86,7±7,2	87,7±1,7	86,9±6,8	88,1±5,6	89,7±3,4	-	89,7±3,4
Hb (g/dL)	15,5±1,1	15,7±1,2	15,5±0,6	15,7±1,2	15,4±1,1	15,5±1,0	-	15,5±1,0
PLT (10³/μL)	285,3±57,0	301,6±41,3 ^c	317,0±31,1	303,3±39,8 ^c	276,4±40,4	245,3±38,3	-	245,3±38,3

SAA: Sporcu grubuna ait AA genotipi, **SAG:** Sporcu grubuna ait AG genotipi, **SGG:** Sporcu grubuna ait GG genotipi, **SGT:** Sporcu grubuna ait G taşıyıcı genotip (AG+GG), **KAA:** Kontrol grubuna ait AA genotipi, **KAG:** Kontrol grubuna ait AG genotipi, **KGG:** Kontrol grubuna ait GG genotipi, **KGT:** Kontrol grubuna ait G taşıyıcı genotip (AG+GG), **VA:** Vücut Ağırlığı, **VKI:** Vücut Kitle İndeksi, **ALT:** Alanin aminotransferaz, **AST:** Aspartat aminotransferaz, **WBC:** Lökosit, **RBC:** Kırmızı kan hücresi (eritrosit), **Hct:** Hematokrit, **MCV:** Ortalama eritrosit hacmi, **Hb:** Hemogloblin, **PLT (Platelet):** Trombosit, **a:** p<0.05 KG'ye ait aynı genotip grup ile, **b:** p<0.01 KG'ye ait aynı genotip grup ile, **c:** p<0.001 KG'ye ait aynı genotip grup ile karşılaştırılması

Tablo 22. PON2-A148G genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS düzeyleri, paraoksonaz ve AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Parametreler	SG				KG			
	SAA (n=24)	SAG (n=16)	SGG (n=2)	SGT (n=18)	KAA (n=25)	KAG (n=18)	KGG (n=0)	KGT (n=18)
PON1 (ng/mL)	592,9±389,1	468,5±387,4 ^a	421,2±379,1	463,3±375,7 ^a	655,2±435,9	243,7±278,5	-	243,7±278,5
PON2 (ng/mL)	101,4±48,8	85,1±52,6 ^a	79,0±60,8	84,4±51,6 ^a	110,3±57,0	48,1±47,2	-	48,1±47,2 ^e
PON3 (ng/mL)	28,2±6,0 ^c	27,1±3,9 ^c	34,9±3,2	28,0±4,5 ^c	22,2±3,0	20,4±2,8	-	20,4±2,8
oksLDL (pg/mL)	4132,9±808,9	3986,2±577,5 ^b	4786,8±193,6	4075,2±602,9 ^c	3731,7±614,2	3346,4±518,3	-	3346,4±518,3 ^d
NO (µM)	44,7±14,0	45,2±12,7	39,9±10,3	44,6±12,3	43,7±10,3	39,8±8,7	-	39,8±8,7
TBARS (µM)	14,5±5,5	14,3±3,3	15,4±1,2	14,4±3,2 ^a	12,1±2,5	12,2±2,8	-	12,2±2,8
PON1 (U/L)	66,7±52,1	54,3±24,5	136,3±61,0	63,5±38,1	42,9±25,7	57,2±49,8	-	57,2±49,8
TSPON1 (U/L)	118,0±68,1	114,1±47,7	185,7±56,4	122,0±52,3	99,2±44,4	132,8±71,3	-	132,8±71,3
AREST (KU/L)	64,2±12,2	62,7±14,7	90,3±14,0	65,8±16,8	66,9±9,9	69,2±11,6	-	69,2±11,6
TK (mg/dL)	182,4±28,9	215,3±49,5 ^d	208,0±19,8	214,5±46,8 ^d	194,8±35,4	204,3±46,2	-	204,3±46,2
LDL-K (mg/dL)	103,4±27,9	133,0±48,0 ^d	127,2±10,5	132,3±45,2 ^d	112,8±28,9	124,6±41,1	-	124,6±41,1
TG (mg/dL)	87,2±72,0 ^a	96,5±60,1	41,5±6,4	90,4±59,2	110,9±61,3	115,4±62,4	-	115,4±62,4
HDL-K (mg/dL)	61,6±14,6	63,1±10,5	72,5±29,0	61,6±14,6	59,9±16,1	56,6±11,8	-	56,6±11,8

SAA: Sporcu grubuna ait AA genotipi, SAG: Sporcu grubuna ait AG genotipi, SGG: Sporcu grubuna ait GG genotipi, SGT: Sporcu grubuna ait G taşıyıcı genotip (AG+GG), KAA: Kontrol grubuna ait AA genotipi, KAG: Kontrol grubuna ait AG genotipi, KGG: Kontrol grubuna ait GG genotipi, KGT: Kontrol grubuna ait G taşıyıcı genotip (AG+GG), PON1: Paraoksonaz 1, PON2: Paraoksonaz 2, PON3: Paraoksonaz 3, oksLDL: Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, NO: Nitrik oksit, TBARS: Tiyobarbitürük asit ile reaksiyon veren maddeler, PON1EA: Paraoksonaz1 enzim aktivitesi, TSPON1: Tuzla stimüle paraoksonaz, AREST: Aril esteraz, TK: Total Kolesterol, TG: Trigliserit, a: p<0.05 KG'ye ait aynı genotip grup ile, b: p<0.01 KG'ye ait aynı genotip grup ile, c: p<0.001 ait aynı genotip grup ile, d: p<0.05 grup içindeki AA ile, e: p<0.001 grup içindeki AA ile karşılaştırılması.

4.2.5. PON2-S311C Genotiplemesine Göre Genotip Grupların Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular

Sporcu Ve Sedanter Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: Sporcu genotip grupları [sporcu SS homozigot grubu (SSS), sporcu SC heterozigot grubu (SSC), sporcu S taşıyıcı grubu (SST=SSC+SSS) ve sporcu CC homozigot grubu (SCC)] ve kontrol genotip grupları [kontrol SS homozigot grubu (KSS), kontrol SC heterozigot grubu (KSC), kontrol S taşıyıcı grubu (KST, KST=KSC+KSS) ve kontrol CC homozigot grubu (KCC)] incelendiğinde (Tablo 23 ve 24); SSC'nin kritik hız ($p=0,000$), PLT ($p=0,005$), PON3 ($p=0,000$), oksLDL ($p=0,005$) ve değerleri KSC'den anlamlı olarak büyük; kreatinin ($p=0,000$) ve HCT ($p=0,019$) değerleri ise daha küçük bulundu.

SST'nin kritik hız ($p=0,000$), PLT ($p=0,001$), PON3 ($p=0,000$) ve oksLDL ($p=0,004$) değerleri KST'ninkinden anlamlı olarak büyük bulundu. SST'nin PON1 değeri KST'ye göre anlamlı olmamasına rağmen %45,9 daha büyüktü ($p=0,054$). KST'nin kreatinin ($p=0,000$), trigliserid ($p=0,029$) ve MCV ($p=0,043$) değerleri SST'ye göre anlamlı olarak daha büyük bulundu.

SCC'nin kritik hız ($p=0,000$), WBC ($p=0,003$), PON3 ($p=0,000$), oksLDL ($p=0,039$) ve TBARS ($p=0,024$) değerleri KCC'ye göre anlamlı olarak büyük bulunurken KCC'nin kreatinin değeri SCC'ye göre anlamlı büyüktü ($p=0,005$).

Sporcu Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: Homozigot CC grubunun PLT değeri hem heterozigot SC grubuna ($p=0,024$) hem de S taşıyıcı grubuna göre anlamlı olarak daha küçüktü ($p=0,018$). Homozigot SS grubunun PON3 değeri homozigot CC grubuna göre anlamlı olarak daha büyüktü ($p=0,049$). Homozigot SS grubunun RBC ve KH değerleri heterozigot SC grubununkinden anlamlı olarak daha büyüktü (her iki $p=0,030$).

Kontrol Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: Homozigot CC grubunun HDL-K düzeyi S taşıyıcı grubununkinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p=0,028$).

PON2-S311C genotiplemesine göre sporcu ve kontrol genotip grupları arasında diğer parametreler açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 23. PON2-S311C genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Parametreler	SG				KG			
	SSS (n=3)	SSC (n=17)	SST (n=20)	SCC (n=22)	KSS (n=3)	KSC (n=19)	KST (n=22)	KCC (n=21)
YAŞ (yıl)	21,7±5,7	21,9±5,3	21,9±5,2	21,5±3,0	24,7±0,6	23,9±2,5	24,0±2,4	23,8±4,0
BOY (cm)	183,0±8,2	179,4±7,0	179,9±7,1	177,7±7,3	182,7±3,1	179,5±5,2	179,9±5,0	179,1±7,3
VA (kg)	79,5±13,3	81,8±16,1	81,4±15,4	81,8±12,6	86,7±4,9	77,5±7,8	78,7±8,1	79,7±16,1
VKİ (kg/m ²)	23,6±1,9	25,4±4,5	25,1±4,3	25,9±3,7	26,0±1,1	24,1±2,7	24,3±2,6	24,8±4,4
Spor Geçmişi (yıl)	6,7±5,0	4,5±4,2	4,8±4,3	4,6±2,3	-	-	-	-
Kritik hız (m/s)	1,37±0,14	1,23±0,05 ^c	1,25±0,08 ^c	1,27±0,15 ^c	1,04±0,47	0,99±0,29	1,00±0,30	0,98±0,27
Kreatinin (mg/dL)	0,83±0,09	0,79±0,18 ^c	0,80±0,16 ^c	0,81±0,12 ^b	0,98±0,08	1,00±0,12	1,00±0,12	0,94±0,16
ALT (U/L)	8,0±2,6	12,3±7,3	11,7±6,9	9,2±4,7	13,0±2,3	13,3±7,4	13,3±6,9	11,6±6,0
AST (U/L)	10,7±3,8	22,2±30,0	20,5±27,9	12,3±5,3	18,7±7,7	14,5±6,1	15,1±6,3	14,3±6,2
WBC (10 ³ /μL)	9,53±3,75	8,98±2,41	9,06±2,53	8,76±2,16 ^b	7,77±3,25	8,06±2,06	8,02±2,16	7,05±1,32
RBC (10 ⁶ /μL)	5,72±0,40	5,24±0,32	5,31±0,37	5,24±0,43	5,26±0,43	5,30±0,29	5,30±0,30	5,23±0,36
Hct (%)	44,9±4,8	45,5±2,1 ^a	45,4±2,5	45,5±3,3	43,8±5,6	47,3±2,3	46,8±3,0	46,4±2,2
MCV (fL)	79,0±12,6	87,0±4,6	85,8±6,5 ^a	87,2±4,7	83,7±14,5	89,3±2,4	88,5±5,4	89,0±4,3
Hb (g/dL)	15,1±2,0	15,6±0,9	15,5±1,0	15,6±1,2	14,3±2,2	15,7±0,9	15,5±1,2	15,4±0,9
PLT (10 ³ /μL)	314,7±50,6	312,8±46,9 ^{b,d}	313,1±46,1 ^{b,d}	274,8±48,4	235,0±50,2	264,7±48,2	260,7±48,4	266,2±35,1

SSS: Sporcu grubuna ait SS genotipi, SSC: Sporcu grubuna ait SC genotipi, SCC: Sporcu grubuna ait CC genotipi, SST: Sporcu grubuna ait S taşıyıcı genotip (SC+SS), KSS: Kontrol grubuna ait SS genotipi, KSC: Kontrol grubuna ait SC genotipi, KCC: Kontrol grubuna ait CC genotipi, KST: Kontrol grubuna ait S taşıyıcı genotip (SC+SS), VA: Vücut Ağırlığı, VKİ: Vücut Kitle İndeksi, ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, WBC: Lökosit, RBC: Kırmızı kan hücresi, Hct: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, Hb: Hemoglobin, PLT (Platelet): Trombosit, a: p<0.05 KG'ye ait aynı genotip grup ile, b: p<0.01 KG'ye ait aynı genotip grup, c: p<0.001 KG'ye ait aynı genotip grup ile, d: p<0.05 grup içindeki CC ile karşılaştırılması.

Tablo 24. PON2-S311C genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS düzeyleri, paraoksonaz ve AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Parametreler	SG				KG			
	SSS (n=3)	SSC (n=17)	SST (n=20)	SCC (n=22)	KSS (n=3)	KSC (n=19)	KST (n=22)	KCC (n=21)
PON1 (ng/mL)	780,4±317,9	622,9±432,4	646,5±414,0	438,1±334,0	128,1±37,1	481,3±425,3	433,1±413,0	535,2±444,8
PON2 (ng/mL)	131,7±29,0	97,7±52,0	102,8±50,2	86,3±49,9	30,2±11,5	86,7±63,5	79,0±62,2	89,7±60,8
PON3 (ng/mL)	34,1±10,4 ^d	28,3±4,8 ^c	29,2±5,9 ^c	27,1±4,7 ^c	21,8±3,1	20,6±2,9	20,7±2,9	22,2±3,0
oksLDL (pg/mL)	4498,7±1435,6	4121,5±717,6 ^b	4178,1±818,4 ^b	4044,6±630,6 ^a	3810,6±1284,6	3430,0±549,5	3481,9±658,7	3663,1±534,3
NO (µM)	34,4±7,9	45,6±11,4	44,0±11,5	45,3±14,7	41,3±11,4	42,2±9,9	42,1±9,8	42,1±10,0
TBARS (µM)	11,4±1,6	15,1±6,1	14,6±5,7	14,4±3,3 ^a	10,7±1,6	12,3±2,9	12,1±2,8	12,3±2,4
PON1 (U/L)	56,9±41,9	69,7±45,4	67,8±44,1	63,1±48,8	37,2±15,4	55,8±50,9	53,3±47,8	44,2±23,8
TSPON1 (U/L)	95,5±61,0	127,0±63,0	122,3±62,2	117,4±61,6	136,7±48,2	121,3±72,4	123,4±68,9	102,7±45,4
AREST (KU/L)	51,7±9,3	65,7±16,3	63,6±16,1	66,1±12,4	70,1±17,3	67,4±10,7	67,8±11,3	67,9±10,0
TK (mg/dL)	185,3±17,9	192,0±40,5	191,0±37,7	200,9±43,1	213,3±24,2	192,6±46,6	195,5±44,4	202,3±35,5
LDL-K (mg/dL)	108,1±46,7	115,6±35,8	114,5±36,3	117,0±41,5	114,7±30,9	119,1±37,5	118,5±36,0	116,8±33,8
TG (mg/dL)	79,7±46,0	88,6±71,0	87,3±66,9 ^a	89,7±66,8	118,0±55,6	114,8±61,8	115,2±59,8	110,3±63,8
HDL-K (mg/dL)	61,3±25,4	58,6±14,2	59,1±15,4	66,0±11,1	75,0±14,2	50,5±11,5	53,9±14,4 ^d	63,4±13,0

SSS: Sporcu grubuna ait SS genotipi, SSC: Sporcu grubuna ait SC genotipi, SCC: Sporcu grubuna ait CC genotipi, SST: Sporcu grubuna ait S taşıyıcı genotip (SC+SS), KSS: Kontrol grubuna ait SS genotipi, KSC: Kontrol grubuna ait SC genotipi, KCC: Kontrol grubuna ait CC genotipi, KST: Kontrol grubuna ait S taşıyıcı genotip (SC+SS), PONI: Paraoksonaz 1, PON2: Paraoksonaz 2, PON3: Paraoksonaz 3, oksLDL: Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, NO: Nitrik oksit, TBARS: Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, PONI EA: Paraoksonaz 1 enzim aktivitesi, TSPON1: Tuzla stimüle paraoksonaz, AREST: Aril esteraz, TK: Total Kolesterol, TG: Trigliserit, a: $p < 0.05$ KG'ye ait aynı genotip grup ile, b: $p < 0.01$ KG'ye ait aynı genotip grup, c: $p < 0.001$ KG'ye ait aynı genotip grup ile, d: $p < 0.05$ grup içindeki CC ile karşılaştırılması.

4.2.6. eNOS3 intron 4a/b Genotiplemesine Göre Genotip Grupların Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular

Sporcu Ve Sedanter Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: Sporcu genotip grupları [sporcu aa homozigot grubu (Saa), sporcu ab heterozigot grubu (Sab), sporcu a taşıyıcı grup (SaT, SaT=Saa+Sab) ve sporcu bb homozigot grubu (Sbb)] ve kontrol genotip grupları [kontrol aa homozigot grubu (Kaa), kontrol ab heterozigot grubu (Kab), kontrol a taşıyıcı grup (KaT, KaT=Kaa+Kab) ve kontrol bb homozigot grubu (Kbb)] incelendiğinde (Tablo 25 ve 26); Sab'nin PON3 (p=0,000) ve oksLDL (p=0,002) değerleri Kab'ye göre anlamlı olarak büyük; kreatinin değeri ise daha küçüktü (p=0,003).

SaT'nin WBC (p=0,038), PON3 (p=0,000) ve oksLDL (p=0,001) değerleri KaT'ye göre anlamlı olarak büyük; kreatinin (p=0,004) ve ALT (p=0,038) değerleri ise daha küçüktü.

Sbb'nin kritik hız (p=0,000), PLT (p=0,010), PON3 (p=0,000), oksLDL (p=0,025), WBC (p=0,012), PON1EA (p=0,008) ve TBARS (p=0,030) değerleri Kbb'ye göre anlamlı olarak büyük; kreatinin (p=0,000) ve MCV (p=0,013) değerleri ise daha küçüktü.

Kontrol Genotip Grupları Karşılaştırıldığında: a taşıyıcı (aT, aT=aa+ab) grubunun PON1EA (%65), TSPON1 (%25) ve TG (%28) değerleri homozigot bb grubununkinden anlamlı olmasa da daha büyüktü (p>0,05).

eNOS3 intron 4a/b genotiplemesine göre sporcu ve kontrol genotip grupları arasında diğer parametreler açısından anlamlı bir fark bulunmadı (p>0,05).

Tablo 25. eNOS3 intron 4a/b genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Parametreler	SG				KG			
	S4a/a (n=1)	S4a/b (n=8)	S4aT (n=9)	S4b/b (n=33)	K4a/a (n=1)	K4a/b (n=8)	K4aT (n=9)	K4b/b (n=34)
YAŞ (yıl)	17,0	23,0±5,0	22,3±5,1	21,5±3,9	23,0	24,0±3,4	23,9±3,8	23,9±3,3
BOY (cm)	171,0	178,8±4,9	177,9±5,2	179,0±7,7	181,0	177,8±3,9	178,2±3,8	179,9±6,6
VA (kg)	84,0	79,0±6,8	79,6±6,5	82,2±15,3	87,0	79,6±9,7	80,4±9,4	78,9±13,3
VKİ (kg/m ²)	28,7	24,8±2,2	25,2±2,5	25,6±4,3	26,6	25,1±2,0	25,3±1,9	24,4±3,8
Spor Geçmişi (yıl)	6,0	5,6±3,0	5,7±2,8	4,5±3,5	-	-	-	-
Kritik hız (m/s)	1,11	1,22±0,08	1,20±0,08	1,28±0,13 ^c	1,14	1,01±0,29	1,02±0,28	0,98±0,29
Kreatinin (mg/dL)	0,90	0,77±0,17 ^b	0,78±0,16 ^b	0,81±0,14 ^c	0,88	1,02±0,12	1,00±0,12	0,96±0,14
ALT (U/L)	6,8	11,1±7,9	10,6±7,5 ^a	10,3±5,6	16,5	15,2±9,2	15,3±8,6	11,7±5,6
AST (U/L)	6,6	24,6±37,6	22,6±35,7	14,5±13,0	13,3	16,7±5,1	16,3±4,9	14,3±6,4
WBC (10 ³ /μL)	12,20	7,94±1,24	8,41±1,84 ^a	9,04±2,44 ^a	5,90	7,00±1,37	6,88±1,33	7,72±1,94
RBC (10 ⁶ /μL)	6,05	5,08±0,37	5,18±0,47	5,30±0,38	5,45	5,22±0,37	5,25±0,35	5,27±0,33
Hct (%)	51,3	44,4±1,9	45,2±2,9	45,6±3,0	45,8	46,0±2,7	46,0±2,5	46,8±2,7
MCV (fL)	84,7	87,7±4,0	87,3±3,9	86,3±6,0 ^a	84,1	88,3±4,6	87,8±4,5	89,0±4,9
Hb (g/dL)	17,1	15,3±0,7	15,5±0,9	15,6±1,2	15,3	15,2±0,9	15,2±8,6	15,5±1,1
PLT (10 ³ /μL)	305	293,1±40,2	294,4±37,8	292,6±54,1 ^a	263,0	274,1±35,2	272,9±33,1	260,9±44,2

Saa: Sporcu grubuna ait aa genotipi, Sab: Sporcu grubuna ait ab genotipi, Sbb: Sporcu grubuna ait bb genotipi, SaT: Sporcu grubuna ait a taşıyıcı genotip (aa+ab), Kaa: Kontrol grubuna ait aa genotipi, Kab: Kontrol grubuna ait ab genotipi, Kbb: Kontrol grubuna ait bb genotipi, KaT: Kontrol grubuna ait 4a taşıyıcı genotip (aa+ab), VA: Vücut Ağırlığı, VKİ: Vücut Kitle İndeksi, ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, WBC: Lökosit, RBC: Kırmızı kan hücresi (eritrosit), Hct: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, Hb: Hemogloblin, PLT (Platelet): Trombosit, a: p<0.05 KG'ye ait aynı genotip grup ile, b: p<0.01 KG'ye ait aynı genotip grup ile, c: p<0.001 KG'ye ait aynı genotip grup ile karşılaştırılması.

Tablo 26. eNOS intron 4a/b genotip gruplarına ait PON1, PON2, PON3, oksLDL, NO ve TBARS düzeyleri, paraoksonaz ve AREST enzim aktiviteleri ve KKH klasik risk faktörleri değerleri (Ort±SD) ve karşılaştırılması

Parametreler	SG				KG			
	S4a/a (n=1)	S4a/b (n=8)	S4aT (n=9)	S4b/b (n=33)	T4a/a (n=1)	T4a/b (n=8)	K4aT (n=9)	T4b/b (n=34)
PON1 (ng/mL)	362,9	679,2±424,2	644,1±410,6	508,2±378,1	773,5	504,6±539,5	534,4±512,5	469,3±409,0
PON2 (ng/mL)	105,1	106,2±49,2	106,1±46,0	90,9±51,4	127,1	76,8±73,5	82,4±70,8	84,7±59,4
PON3 (ng/mL)	28,5	30,9±5,8 ^c	30,7±5,4 ^c	27,4±5,2 ^c	27,0	19,4±3,9	20,3±4,4	21,7±2,5
oksLDL (pg/mL)	3968,8	4533,2±678,7 ^b	4470,5±662,2 ^b	4009,3±712,6 ^a	4364,7	3151,9±487,0	3286,7±609,0	3645,5±584,9
NO (µM)	34,4	46,9±18,3	45,5±17,6	44,4±12,0	54,6	43,3±13,7	44,6±13,3	41,4±8,7
TBARS (µM)	12,4	15,9±6,7	15,5±6,4	14,2±4,0 ^a	12,3	12,2±2,5	12,2±2,3	12,1±2,7
PON1EA (U/L)	31,9	57,8±54,7	54,9±51,9	68,2±44,9 ^b	34,5	75,6±72,3	71,0±69,0	43,0±22,4
TSPON1 (U/L)	99,2	99,3±64,7	99,3±60,5	125,3±61,1	63,4	144,4±84,6	135,4±83,6	107,9±50,5
AREST (KU/L)	71,4	67,6±19,1	68,0±17,9	64,0±13,2	60,6	70,4±10,2	69,3±10,1	67,5±10,8
TK (mg/dL)	247,0	189,0±33,1	195,4±36,5	196,4±42,0	204,0	213,8±35,4	212,7±33,3	195,1±41,3
LDL-K (mg/dL)	148,6	114,8±26,8	118,5±27,5	115,0±41,5	94,2	134,0±29,7	129,5±30,8	114,6±35,3
TG (mg/dL)	107,0	74,4±58,8	78,0±56,1	91,4±69,0	244,0	122,8±68,5	136,2±75,8	106,6±56,3
HDL-K (mg/dL)	77,0	59,4±16,0	61,3±16,0	63,0±13,2	61,0	55,3±11,7	55,9±11,1	59,2±15,2

Saa: Sporcu grubuna ait aa genotipi, **Sab:** Sporcu grubuna ait ab genotipi, **Sbb:** Sporcu grubuna ait bb genotipi, **SaT:** Sporcu grubuna ait taşıyıcı genotip (aa+ab), **Kaa:** Kontrol grubuna ait aa genotipi, **Kab:** Kontrol grubuna ait ab genotipi, **Kbb:** Kontrol grubuna ait bb genotipi, **KaT:** Kontrol grubuna ait 4a taşıyıcı genotip (aa+ab), **PON1:** Paraoksonaz 1, **PON2:** Paraoksonaz 2, **PON3:** Paraoksonaz 3, **OksLDL:** Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, **NO:** Nitrik oksit, **TBARS:** Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, **PON1EA:** Paraoksonaz1 enzim aktivitesi, **TSPON1:** Tuzla stimüle paraoksonaz, **AREST:** Aril esteraz, **TK:** Total Kolesterol, **TG:** Trigliserit. **a:** p<0.05 SG'nin KG ile karşılaştırılması, **b:** p<0.01 SG'nin KG ile karşılaştırılması, **c:** p<0.001 KG'ye ait aynı genotip grup ile karşılaştırılması.

İki-yönlü ANOVA yöntemi ile PON1-192 genotipleri ve egzersiz [(QQ ve RT grupları)x(sporcu ve kontrol grupları)] arasında PON1 enzim aktivitesi ($F(1,81)=4,792$; $p=0,031$) ve AREST ($F(1,81)=8,231$; $p=0,005$) üzerine anlamlı etkileşimler bulundu. PON1-55 genotipleri ve egzersiz [(LL ve MT grupları)x(sporcu ve kontrol grupları)] arasında AREST üzerine anlamlı bir etkileşim bulundu ($F(1,81)= 6,196$; $p=0,015$). PON2-148 genotipleri ve egzersiz [(AA ve GT grupları)x(sporcu ve kontrol grupları)] arasında PON2 üzerine anlamlı bir etkileşim bulundu ($F(1,81)=3,990$; $p=0,049$). eNOS intron 4a/b genotipleri ve egzersiz [(bb ve aT grupları)x(sporcu ve kontrol grupları)] arasında oksLDL üzerine anlamlı bir etkileşim bulundu ($F(1,81)=5,680$; $p=0,020$).

4.3. Sporcu Grubunun Korelasyon Analiz Sonuçları:

Yaş ile kreatinin ($r=0,438$; $p=0,004$), LDL-K ($r=0,356$; $p=0,021$), oksLDL arasında ($r=0,431$; $p=0,004$) ve AREST ($r=0,323$; $p=0,037$) arasında; boy ile NO ($r=0,329$; $p=0,033$) arasında; vücut ağırlığı (VA) ile kreatinin ($r=0,517$; $p=0,000$), AST ($r=0,325$; $p=0,036$), ALT ($r=0,429$; $p=0,005$) ve AREST ($r=0,471$; $p=0,002$) arasında; VKİ ile kreatinin ($r=0,504$; $p=0,001$), ALT ($r=0,523$; $p=0,000$), TK ($r=0,577$; $p=0,000$), LDL-K ($r=0,440$; $p=0,004$), TG ($r=0,455$; $p=0,002$), ve AREST ($r=0,512$; $p=0,001$) arasında; Spor geçmişi (SG) ile kreatinin ($r=0,409$; $p=0,007$), TK ($r=0,430$; $p=0,005$), LDL-K ($r=0,462$; $p=0,002$), MCV ($r=-0,336$; $p=0,029$), PON3 ($r=0,381$; $p=0,013$), oksLDL ($r=0,423$; $p=0,005$) arasında; kritik hız ile PLT ($r=0,358$; $p=0,020$) ve TBARS ($r=-0,353$; $p=0,022$) arasında anlamlı ilişkiler bulundu (Tablo 27).

TG ile PON2 ($r=-0,315$; $p=0,042$) ve TBARS ($r=0,364$; $p=0,018$) arasında; WBC ile PON2 ($r=0,318$; $p=0,040$) ve PON1EA ($r=-0,375$; $p=0,014$) arasında; PON1 ile PON2 ($r=0,882$; $p=0,000$) arasında; PON3 ile oksLDL ($r=0,872$; $p=0,000$) arasında; PON1EA ile TSPON1 ($r=0,870$; $p=0,000$) arasında; oksLDL ile kreatinin ($r=0,305$; $p=0,049$) arasında anlamlı ilişkiler bulundu (Tablo 28).

Tablo 27. Sporcu grubunun fiziksel ve fizyolojik parametreleri ile biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi (n=42).

	KRE	AST	ALT	TK	HDLK	LDLK	TG	WBC	Hb	RBC	HCT	MCV	PLT	PON1	PON2	PON3	oks LDL	PON EA	TS PON1	NO	TBARS	AREST
yaş	,438**	,073	,200	,294	-,094	,356*	,020	-,009	-,040	-,055	-,114	-,110	-,237	-,159	-,131	,301	,431**	,053	,023	-,007	,178	,323*
boy	,077	,221	,009	-,016	-,447**	,148	-,009	-,170	,120	-,057	,031	,152	-,355*	,039	-,025	,109	,090	-,059	,016	,329*	,109	-,124
VA	,496**	,325*	,429**	,499**	-,256	,460**	,433**	,085	,265	,167	,253	,010	-,219	-,072	-,144	,079	,184	-,014	,173	,028	,287	,404**
VKİ	,487**	,263	,523**	,577**	-,042	,440**	,455**	,164	,230	,221	,261	-,099	-,066	-,073	-,112	,034	,153	,040	,210	-,069	,216	,502**
SG	,409**	,167	,207	,430**	-,127	,462**	,188	,008	-,073	,127	-,085	-,336*	-,109	-,115	-,029	,381*	,423**	-,147	-,071	,097	,020	,128
KH	,126	-,103	-,053	-,176	,207	-,213	-,054	,053	-,213	-,028	-,140	-,014	,358*	-,101	-,015	,025	,136	-,092	-,264	,050	-,353*	,028

VA: Vücut Ağırlığı, **VKİ:** Vücut Kitle İndeksi, **SG:** Spor Geçmişi, **KH:** Kritik Hız, **KRE:** Kreatinin, **ALT:** Alanin amino transferaz, **AST:** Aspartat amino transferaz, **TK:** Total Kolesterol, **TG:** Trigliserit, **WBC:** Lökosit, **RBC:** Kırmızı kan hücresi(eritrosit), **Hct:** Hematokrit, **MCV:** Ortalama eritrosithacmi, **Hb:** Hemoglobin, **PLT (Platelet):** Trombosit, **PON1:** Paraoksonaz 1, **PON2:** Paraoksonaz 2, **PON3:** Paraoksonaz 3, **oksLDL:** Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, **NO:** Nitrik oksit, **TBARS:** Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, **PONIEA:** Paraoksonaz1 enzim aktivitesi, **TSPON1:** Tuzla stimüle paraoksonaz, **AREST:** Aril esteraz, *p<0.05. **p<0.001.

Tablo 28. Sporcu grubunun biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi (n=42)

	KRE	AST	ALT	TK	HDLK	LDLK	TG	WBC	Hb	RBC	HCT	MCV	PLT	PON1	PON2	PON3	oks LDL	PON1EA	TS PON1	NO	TBARS	AREST
KRE	1,000	,239	,388*	,194	-,113	,096	,367*	,018	,028	,227	,078	-,318*	-,098	-,122	,013	,129	,305*	-,255	-,243	-,321*	,096	,167
AST	,239	1,000	,748**	,062	-,504**	,080	,431**	,135	,075	-,184	-,008	,237	,138	,050	,086	,117	,250	-,091	-,134	,217	,062	-,092
ALT	,388*	,748**	1,000	,291	-,262	,241	,491**	,109	,251	,144	,240	,008	,236	-,208	-,171	,157	,279	,012	-,049	,186	,031	-,002
TK	,194	,062	,291	1,000	,111	,856**	,350*	-,165	,399**	,111	,337*	-,002	-,284	-,260	-,221	-,047	-,024	-,019	,092	,035	,097	,371*
HDLK	-,113	-,504**	-,262	,111	1,000	-,171	-,181	-,061	-,053	,262	,005	-,190	,009	-,055	,052	-,185	-,114	,095	,064	-,216	-,006	-,031
LDLK	,096	,080	,241	,856**	-,171	1,000	,063	-,062	,298	,003	,212	,027	-,285	-,280	-,242	,011	-,058	-,065	,055	,158	-,126	,272
TG	,367*	,431**	,491**	,350*	-,181	,063	1,000	-,166	,456**	,142	,493**	,114	-,018	-,245	-,315*	,153	,234	,046	,028	-,017	,364*	,094
WBC	,018	,135	,109	-,165	-,061	-,062	-,166	1,000	-,049	,244	-,005	-,094	,537**	,276	,318*	-,093	-,066	-,375*	-,285	,008	-,060	-,067
Hb	,028	,075	,251	,399**	-,053	,298	,456**	-,049	1,000	,408**	,961**	,260	-,232	-,102	-,240	-,195	-,171	,101	,128	,038	,294	,062
RBC	,227	-,184	,144	,111	,262	,003	,142	,244	,408**	1,000	,533**	-,619**	,089	,103	,061	-,022	-,035	-,109	-,024	-,032	,041	-,333*
HCT	,078	-,008	,240	,337*	,005	,212	,493**	-,005	,961**	,533**	1,000	,164	-,140	-,182	-,313*	-,162	-,142	,102	,116	,028	,288	,037
MCV	-,318*	,237	,008	-,002	-,190	,027	,114	-,094	,260	-,619**	,164	1,000	-,082	-,102	-,164	-,220	-,137	,120	,064	,108	,236	,321*
PLT	-,098	,138	,236	-,284	,009	-,285	-,018	,537**	-,232	,089	-,140	-,082	1,000	,209	,266	,151	,234	-,198	-,328*	,027	-,159	-,173
PON1	-,122	,050	-,208	-,260	-,055	-,280	-,245	,276	-,102	,103	-,182	-,102	,209	1,000	,882**	-,135	-,105	-,162	-,091	-,125	,050	-,056
PON2	,013	,086	-,171	-,221	,052	-,242	-,315*	,318*	-,240	,061	-,313*	-,164	,266	,882**	1,000	-,178	-,116	-,285	-,219	-,201	-,035	-,084
PON3	,129	,117	,157	-,047	-,185	,011	,153	-,093	-,195	-,022	-,162	-,220	,151	-,135	-,178	1,000	,872**	,201	,001	-,135	,121	-,082
oksLDL	,305*	,250	,279	-,024	-,114	-,058	,234	-,066	-,171	-,035	-,142	-,137	,234	-,105	-,116	,872**	1,000	,112	-,127	-,064	,263	,071
PON1EA	-,255	-,091	,012	-,019	,095	-,065	,046	-,375*	,101	-,109	,102	,120	-,198	-,162	-,285	,201	,112	1,000	,870**	-,008	,037	,213
TSPON1	-,243	-,134	-,049	,092	,064	,055	,028	-,285	,128	-,024	,116	,064	-,328*	-,091	-,219	,001	-,127	,870**	1,000	-,002	,054	,278
NO	-,321*	,217	,186	,035	-,216	,158	-,017	,008	,038	-,032	,028	,108	,027	-,125	-,201	-,135	-,064	-,008	-,002	1,000	-,181	-,144
TBARS	,096	,062	,031	,097	-,006	-,126	,364*	-,060	,294	,041	,288	,236	-,159	,050	-,035	,121	,263	,037	,054	-,181	1,000	,292
AREST	,167	-,092	-,002	,371*	-,031	,272	,094	-,067	,062	-,333*	,037	,321*	-,173	-,056	-,084	-,082	,071	,213	,278	-,144	,292	1,000

4.4. Kontrol Grubunun Korelasyon Analiz Sonuçları:

Yaş ile PON1 ($r=-0,485$; $p=0,001$) ve PON2 ($r=-0,461$; $p=0,002$) arasında; VKİ ile TK ($r=0,470$; $p=0,001$), HDL-K ($r=0,338$; $p=0,026$), TG ($r=0,370$; $p=0,015$) ve PLT ($r=0,317$; $p=0,038$) arasında; kritik hız ile kreatinin ($r=0,361$; $p=0,017$) anlamlı ilişkiler bulundu (Tablo 29).

TK ile LDL-K ($r=0,890$; $p=0,000$), TG ($r=0,476$; $p=0,001$) arasında; HDL-K ile oksLDL ($r=0,343$; $p=0,24$), PON3 ($r=0,345$; $p=0,023$) ve PON1EA ($r=-0,310$; $p=0,043$) arasında; TG ile TBARS ($r=0,497$; $p=0,001$) arasında; HCT ile NO ($r=-0,403$; $p=0,007$) arasında; PON1 ile PON2 ($r=0,972$; $p=0,000$) arasında; PON3 ile oksLDL ($r=0,830$; $p=0,000$) arasında; oksLDL ile TSPON1 ($r=-0,309$; $p=0,044$) arasında; PON1EA ile TSPON1 ($r=0,869$; $p=0,000$) ve AREST ($r=0,373$; $p=0,014$) arasında; TSPON1 ile AREST ($r=0,315$; $p=0,040$) arasında anlamlı ilişkiler bulundu (Tablo 30).

Tablo 29. Kontrol grubunun fiziksel ve fizyolojik parametreleri ile biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi ($n=43$).

	KRE	AST	ALT	TK	HDLK	LDLK	TG	WBC	Hb	RBC	HCT	MCV	PLT	PON1	PON2	PON3	oksLDL	PONEA	TS PON1	NO	TBARS	AREST
yaş	-,069	-,072	,019	,111	,135	,046	-,007	-,129	,033	-,088	,059	,177	-,136	-,485**	-,461**	,004	-,050	,113	,187	-,209	-,028	,168
boy	,198	-,104	-,060	-,131	,079	-,185	,018	-,177	-,136	-,258	-,037	,341*	-,377*	-,239	-,301*	-,134	-,182	,151	,312*	,157	-,082	,005
kilo	-,098	,104	,291	,329*	,334*	,161	,321*	-,045	-,254	-,095	-,149	,035	,087	-,129	-,122	,117	,003	-,010	,136	,235	,101	,050
VKİ	-,148	,203	,377*	,470**	,338*	,293	,370*	,036	-,244	,002	-,185	-,191	,317*	,072	,106	,212	,112	-,113	-,056	,205	,184	,108
KH	,361*	-,021	-,100	,023	,066	-,029	,078	-,089	-,016	-,059	,022	,126	-,150	-,248	-,272	-,255	-,231	,176	,105	-,018	,079	,175

VKİ: Vücut Kitle İndeksi, **KH:** Kritik Hız, **KRE:** Kreatinin, **ALT:** Alanin amino transferaz, **AST:** Aspartat amino transferaz, **TK:** Total Kolesterol, **TG:** Trigliserit, **WBC:** Lökosit, **RBC:** Kırmızı kan hücresi(eritrosit), **Hct:** Hematokrit, **MCV:** Ortalama eritrosithacmi, **Hb:** Hemoglobin, **PLT (Platelet):** Trombosit, **PON1:** Paraoksonaz 1, **PON2:** Paraoksonaz 2, **PON3:** Paraoksonaz 3, **oksLDL:** Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, **NO:** Nitrik oksit, **TBARS:** Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, **PONIEA:** Paraoksonaz1 enzim aktivitesi, **TSPON1:** Tuzla stimüle paraoksonaz, **AREST:** Aril esteraz, * $p<0.05$. ** $p<0.001$.

Tablo 30. Kontrol grubunun biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi (n=43)

	KRE	AST	ALT	TK	HDLK	LDLK	TG	WBC	Hb	RBC	HCT	MCV	PLT	PON1	PON2	PON3	Oks LDL	PONEA	TS PON1	NO	TBARS	AREST
KRE	1,000	,145	,044	,010	-,086	,071	,120	-,004	-,066	-,270	-,030	,314*	,069	-,023	-,053	-,187	-,146	,013	,043	,035	,095	,121
AST	,145	1,000	,767**	,212	-,140	,158	,483**	,285	,064	,126	,002	,008	,221	,139	,128	-,109	-,034	-,065	,007	-,037	,264	,073
ALT	,044	,767**	1,000	,288	-,211	,188	,743**	,229	,053	,124	,043	-,018	,206	-,041	-,055	-,048	-,031	-,058	-,006	,074	,458**	,164
TK	,010	,212	,288	1,000	,210	,890**	,476**	-,018	,087	,134	,075	-,259	,328*	-,167	-,115	-,009	-,110	,026	,056	,084	,145	,210
HDLK	-,086	-,140	-,211	,210	1,000	-,147	-,074	-,131	-,330*	-,197	-,360*	,007	,007	-,192	-,165	,345*	,343*	-,310*	-,243	,099	,092	,066
LDLK	,071	,158	,188	,890**	-,147	1,000	,264	-,025	,153	,127	,133	-,244	,306*	-,034	,017	-,160	-,224	,185	,169	,039	-,057	,139
TG	,120	,483**	,743**	,476**	-,074	,264	1,000	,216	,248	,271	,286	-,062	,137	-,255	-,279	-,035	-,100	,016	,066	,001	,497**	,252
WBC	-,004	,285	,229	-,018	-,131	-,025	,216	1,000	,206	,315*	,181	-,133	,275	-,124	-,155	,181	,249	,023	,074	-,221	,114	,187
Hb	-,066	,064	,053	,087	-,330*	,153	,248	,206	1,000	,529**	,956**	,068	-,124	-,109	-,107	-,052	-,064	,130	,156	-,437**	,098	-,113
RBC	-,270	,126	,124	,134	-,197	,127	,271	,315*	,529**	1,000	,567**	-,579**	,032	-,100	-,091	,124	,121	,084	,096	,044	,076	-,071
HCT	-,030	,002	,043	,075	-,360*	,133	,286	,181	,956**	,567**	1,000	,122	-,191	-,178	-,188	-,089	-,096	,153	,212	-,403**	,130	-,056
MCV	,314*	,008	-,018	-,259	,007	-,244	-,062	-,133	,068	-,579**	,122	1,000	-,347*	-,102	-,149	-,282	-,217	,106	,220	-,357*	,068	,051
PLT	,069	,221	,206	,328*	,007	,306*	,137	,275	-,124	,032	-,191	-,347*	1,000	,335*	,350*	,392**	,300	-,159	-,289	,262	,080	-,029
PON1	-,023	,139	-,041	-,167	-,192	-,034	-,255	-,124	-,109	-,100	-,178	-,102	,335*	1,000	,972**	,231	,219	-,025	-,193	,180	-,113	-,039
PON2	-,053	,128	-,055	-,115	-,165	,017	-,279	-,155	-,107	-,091	-,188	-,149	,350*	,972**	1,000	,216	,206	-,074	-,238	,174	-,148	-,099
PON3	-,187	-,109	-,048	-,009	,345*	-,160	-,035	,181	-,052	,124	-,089	-,282	,392**	,231	,216	1,000	,857**	-,163	-,264	,210	,051	,131
oksLDL	-,146	-,034	-,031	-,110	,343*	-,224	-,100	,249	-,064	,121	-,096	-,217	,300	,219	,206	,857**	1,000	-,228	-,309*	,088	-,027	,149
PONEA	,013	-,065	-,058	,026	-,310*	,185	,016	,023	,130	,084	,153	,106	-,159	-,025	-,074	-,163	-,228	1,000	,869**	-,086	-,192	,373*
TSPON1	,043	,007	-,006	,056	-,243	,169	,066	,074	,156	,096	,212	,220	-,289	-,193	-,238	-,264	-,309*	,869**	1,000	-,155	-,187	,315*
NO	,035	-,037	,074	,084	,099	,039	,001	-,221	-,437**	,044	-,403**	-,357*	,262	,180	,174	,210	,088	-,086	-,155	1,000	,191	-,034
TBARS	,095	,264	,458**	,145	,092	-,057	,497**	,114	,098	,076	,130	,068	,080	-,113	-,148	,051	-,027	-,192	-,187	,191	1,000	,141
AREST	,121	,073	,164	,210	,066	,139	,252	,187	-,113	-,071	-,056	,051	-,029	-,039	-,099	,131	,149	,373*	,315*	-,034	,141	1,000

Tartışma

Her üç PON enziminin de antiaterosklerotik ve antioksidan özellikte olduğu ve LDL oksidasyonunu önlediği belirtilmektedir. Ancak bunlar farklı lokasyon ve farklı enzim aktiviteleri ve fonksiyonlara sahiptir. Bu nedenle oksidan strese karşı farklı cevap verebilirler. Ayrıca PON1, PON2 ve PON3 enzim polimorfizmlerinin hipoksik egzersizde bu olası antioksidan tepkide rolü belirsizdir.

Diğer bir KKH risk faktörü olan NO, antioksidan, vazodilatör ve bir çok metabolik regülatör özelliklere sahip bir gazdır. Tüm izoformlarının salınımı hipoksi ile transkripsiyonel olarak regüle edilebilir. Bu nedenle Sualtı ragbisi gibi hipoksik stres koşullarındaki egzersizlerde NO çokça üretilebilir ve KKH risk faktörleri üzerinde diğer sporlardan farklı rolleri olabilir. Ayrıca hipoksik egzersizin NO üzerindeki etkisi ve eNOS intron 4a/b polimorfizminin rolü belirsizdir.

Bu çalışmada iyi antrene sağlıklı erkek sporcularda USAR antrenmanlarının PON1, PON2 ve PON3 enzimleri, PON1, TSPON1 ve AREST enzim aktiviteleri, oksLDL ve NO düzeyleri üzerine etkilerini ve bu muhtemel etkilerde PON1-Q192R, PON1-L55M, PON2-A148G ve PON2-S311C ile eNOS3 intron 4a/b polimorfizmlerinin rollerini araştırmayı planladım.

Bu çalışmanın temel bulguları: Polimorfizm gözönüne alınmadığında; SG'nin PON3, oksLDL ve TBARS değerleri, KG'ninkilerden anlamlı olarak daha büyüktü ($p<0,05$). Bu bulgular USAR antrenmanlarının oksidatif stres yarattığını gösterir. Ayrıca SG'nin PON1 aktivitesi KG'ninkinden % 25,1 daha büyük ancak anlamlı değildi ($p=0,052$). PON1 değerleri açısından ise sporcu ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Genotip grupları dahil tüm gruplarda sporcuların PON3 değerleri kontrol gruplarına göre anlamlı olarak daha büyük bulundu. İncelenen temel parametreler için kontrol genotip grupları arasındaki önemli farklılıklar aşağıda ilgili bölümlerde tartışılmıştır.

Sporcularda PON2-A148G'nin G taşıyıcı grubu (GT, GT=AG+GG)'nin PON1 ve PON2 düzeyleri kontrolünkinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0,05$). PON2'deki bu farklılıkta PON2-A148G polimorfizminin rolü saptandı ($p<0,05$). Total PON2-A148G genotiplemesine göre; TAA'nın PON2 değerleri TGT'ye göre anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0,05$). Sporcuların PON1 aktivitesi PON1-Q192R'nin QQ homozigot grubunda kontrolünkinden anlamlı olarak daha büyük ve bu farklılık belirtilen polimorfizmle ilişkiliydi ($p<0,05$). Sporcuların AREST

aktivitesi PON1-Q192R'nin R taşıyıcı grubunda (RT, RT=QR+RR) ve PON1-L55M'in LL homozigot grubunda kontrolünkinden anlamlı olarak daha küçüktü ($p<0,05$). Bu farklılıklar belirtilen polimorfizmlerle ilintiliydi ($p<0,05$).

5.1. USAR Antrenmanlarının PON Ailesi (PON1, PON2 ve PON3) Protein Düzeylerine ve PON1 Aktivitesi Üzerine Etkisi

Polimorfizm göz önüne alınmadığında: Akut hipobarik hipoksi (yükseklik 9754 m)'ye maruz bırakılan ratlarda bu çalışmadan farklı olarak PON1 protein seviyelerinin arttığı bulundu (Padhy, Sethy, Ganju, & Bhargava, 2013). Belirtilen çalışmada glutatyon peroksidaz (GPx) gibi artan antioksidan proteinler ile birlikte hipoksiye duyarlılığın tersine hipoksiye toleransı artan ratlarda PON1 seviyesinde (bu çalışmadan farklı olarak) ve PON1 aktivitesinde bu çalışmaya benzer olarak artış meydana geldi. Belirtilen çalışmada artan antioksidanların hipoksiye toleransa katkıda bulunması önemliydi. İki çalışma arasındaki farkta hipoksik bir egzersiz olgusu yanısıra oksidatif, fizyolojik stres düzeyinin ve ona maruz kalma süresinin farklı olması gibi farklılıkların rolü olabilir.

Zira Romani ve ark'ları (Romani et al., 2009), ratlarda yaptıkları bir çalışmada 10 haftalık orta düzeyde aerobik koşu bandı antrenmanının, bu çalışmadakine benzer olarak kan PON3 protein seviyelerini anlamlı olarak arttırdığını ve PON1 ekspresyonunun ise değişmediğini buldular. Aynı çalışmada aynı ratlarda 30 dakika ılık suda akut yüzme egzersizi sonrasında PON1 aktiviteleri inhibe olurken karaciğerde PON3 protein içeriğinin arttığını buldular.

Bir çalışmada (Roberts, Ng, Hama, Eliseo, & Barnard, 2006); çoğu metabolik sendromlu obez erkeklerde kısa süreli (3 haftalık) diyet ve aerobik egzersizin (koşu bandı yürüyüşü) oksidatif stresi anlamlı düzeyde düşürmesine rağmen, PON1-spesifik aktivitesi, PON1 ve PON3 protein seviyeleri üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmadı. Bu çalışmada ise anaerobik egzersiz olması ve oksidatif stres düzeyinin yüksek olmasına rağmen PON3 düzeylerinde artış bulundu. PON3'deki bu artış bu çalışmada hipoksik antrenmana antioksidan bir cevap olarak meydana gelmiş olabilir.

PON3'ün makrofajlardan kolesterol çıkışını arttırdığı LDL oksidasyonunu düşürdüğü böylece HDL'nin antioksidan özelliğini arttırarak atherom lezyonu oluşumuna karşı koruduğu belirtilmektedir (Ng et al., 2007). Bu çalışmada tersine sporcuların

oksLDL düzeyleri yüksek olmasına rağmen TK ve LDL-K düzeyleri kontrol grubundan farklı değildi. Bunda yüksek PON3 düzeylerinin de rolü olabilir. Aerobik egzersizle HDL-K düzeyinde düşme olmasına rağmen HDL'nin antiaterojenik özelliğinin arttığı tespit edilmiştir (Roberts et al., 2006). Bu nedenle bu çalışmada da HDL-K da anlamlı bir artış olmasa da HDL ile ilişkili bir enzim olan PON3'deki artış aracılı bir iyileşme mümkün olabilir.

PON1 ile karşılaştırıldığında, PON3'de sınırlı arilesteraz aktivitesi bulunurken, paraoksonaz aktivitesi bulunmamaktadır fakat lakton'ları çok hızlı hidrolize etmektedir (Dragomir I. Draganov et al., 2000; Reddy et al., 2001). Bununla birlikte tavşan serum PON3'ü LDL'yi oksidasyona karşı korumada PON1'den daha etkilidir (Dragomir I. Draganov et al., 2000). Bu nedenle PON3'ün temel antiaterosklerotik fonksiyonda ilk savunma hattını oluşturabileceği buna karşın PON1'in koruyucu etkisinin değişebileceği, görüşü ile bu çalışma bulguları ile örtüşmektedir.

Düzenli egzersiz lipoprotein metabolizmasını etkileyerek plazma TG düzeylerini düşürdüğü ve HDL konsantrasyonunu (Haskell et al., 2007) ve HDL ile ilişkili PON1 aktivitesini arttırdığı belirtilmektedir (Navab et al., 1998). Bu çalışmada da her ne kadar sporcu ve kontrol arasında HDL-K açısından anlamlı bir fark görülme de sporcuların TG düzeyleri anlamlı olarak düşüktü ($p<0,05$).

Ayrıca sporcularda PON3 değerleri ile spor geçmişi ve sedanterlerde PON3 değeri ile HDL-K arasında pozitif ilişki bulundu ($p<0,05$). Bu son bulgu literatürdeki konfirme etmektedir (Reddy et al., 2001).

Bu sonuçlar her ne kadar HDL-K'da anlamlı bir artış olmasa da HDL-K ve TG metabolizmasındaki iyileşmenin PON3 düzeylerini olumlu yönde etkileyebileceğine işaret eder.

Bundan başka hem sporcu hem de kontrol gruplarda PON3 ile oksLDL arasında anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p<0,05$). Bu nedenle bu bulgular PON3'deki artışın USAR antrenmanlarına bir adaptasyonun sonucu olarak meydana gelmiş olabileceği görüşümü destekler niteliktedir.

PON2 ve PON3'ün oksidatif strese karşı koruyucu olduğu, fakat PON2'nin spesifik olarak hücresel düzeyde etki gösterdiği buna karşın PON1 ve PON3'ün inaktive olduğu fakat makrofaj PON2 ekspresyonunu ve aktivitesinin oksidatif stres altında arttığı belirtilmektedir (Michael Aviram & Rosenblat, 2004): Ancak bu sonuçlar bu çalışmada PON1 ve PON2 bulguları ile örtüşmekle birlikte PON3 bulgularıyla

çelişmektedir. Çünkü PON3 tüm sporcu gruplarda kontrollerinkinden anlamlı olarak daha büyüktü. PON2 düzeyleri tüm gruplardan sadece sporcu grubunun PON2-A148G polimorfizminin G taşıyıcılarında kontrolden daha büyüktü ve egzersizle bu artış polimorfizmle ilişkiliydi.

Sporcu AA grubunun serum TK ve LDL-K düzeyleri sporcu GT grubununkinden anlamlı olarak daha küçük bulundu. Bu son bulgu hipoksik antrenmanların G taşıyıcı grubunu atheroskleroz riski (artmış serum kolesterol düzeyi) açısından homozigot AA gruba göre kötü etkilendiğini gösterir. Bu farklılıkta belirtilen polimorfizmin rolü olabilir.

PON2 hemen hemen tüm dokularda üretilebilir ancak küçük bir miktarı hücre dışına salınır ve bu enzim sekresyondan sonra hızla yıkılır (Thompson, 1990). Ancak PON2, HDL ya da LDL ile ilişkili değildir (Li et al., 2003). PON2 proteini diğer esterazlara (PON1 ve PON3) benzer fakat antioksidan fonksiyonunu hücresel düzeyde gösterir (Ng et al., 2001). PON2'nin mitokondrial membranda lokalize olduğu ve bu nedenle mitokondrial oksidatif strese rol oynayabileceği belirtilmektedir (Devarajan et al., 2011; Madamanchi & Runge, 2007). Bilindiği gibi mitokondri egzersiz kaynaklı oksidatif stresin temel kaynağıdır (Tomás et al., 2002). Ayrıca sadece sporcu grubunda TG ile PON2 arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon bulundu ($p < 0,05$). Kontrol grubunun TG düzeyinin sporculardan büyük olduğu göz önüne alınırsa egzersiz nedeni ile artan TG katabolizmasının PON2 üretiminde rolü olabilir. Ayrıca homozigot AA kontrol grubunun PON2 protein ve oksLDL düzeyleri GT grubununkinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p < 0,05$). Sporcu GT grubunda PON2 protein düzeyinin kontrole göre daha büyük olmasında USAR antrenmanlarının rolü olabilir. Kısaca egzersiz stresine cevapta PON2'deki artış şeklindeki bu cevap diğer PON'lardan farklı olabilir. Bu bulgular hipoksik egzersizin PON2 üzerine etkisinde ilgili polimorfizmin rolünü gösterir. Bu sonuç bildiğim kadarıyla literatürde ilktir. Zira egzersizin PON2 polimorfizmine etkisini ve ilgili polimorfizmlerinin rolünü inceleyen tek insan çalışmasıdır.

Literatürde sağlıklı kişilerde kombine PON proteinleri üzerinde egzersizin etkisini inceleyen benzer bir çalışma bulunamadığından tartışma yukarıdaki örneklerle sınırlı kalmıştır.

Bir çalışmada; yaşlı japon popülasyonunda altı ay ve haftada iki kez yapılan şiddetli ılımlı düzeyden orta düzeyde bir fiziksel aktivitenin (yürüme şeklinde) PON1 aktivesini anlamlı düzeyde değiştirmediği saptandı (Kotani et al., 2012).

Mahdirejei ve ark.'ları (Mahdirejei et al., 2015), obez erkeklerde endurans antrenmanının PON1 seviyesini anlamlı olarak arttırırken, direnç antrenmanının bu çalışmaya benzer olarak PON1 protein seviyelerinde anlamlı bir değişiklik yaratmadığını gözlemlediler.

Ancak Rector ve ark.'ları (Rector et al., 2007), ortalama 6 aylık aerobik egzersiz ve kalori kısıtlamasının sedanter ve obez bireylerde PON1 protein seviyeleri, PON1 aktivitesi ve oksLDL'nin bu çalışmadan farklı olarak anlamlı olarak azaldığını, AREST aktivitesinin değişmediğini buldular.

Akut egzersiz lipid peroksidasyonunu arttırarak oksidatif strese neden olur, bu da PON1 aktivitesini düşürür. Yani PON1, LDL'yi oksidasyona karşı korurken kendi de inaktive olabilir. (M Aviram et al., 1999). Bu çalışmada yüksek oksLDL ve TBARS düzeyine rağmen belirtilen çalışmadan farklı olarak PON1 aktivitesinin anlamlı olmasa da önemli düzeyde arttığı bulundu. Bu nedenle oksidatif strese rağmen başta PON3 değerleri ve polimorfizme bağlı da olsa PON2 ve PON1 aktivitesindeki artışın nedeni sualtı ragbi antrenmanlarına adaptasyonun bir sonucu olabilir. Çünkü antrenmanla antioksidan proteinlerdeki artışın hipoksiye toleransı arttırdığı bulunmuştur (Neubauer, 2001; Padhy et al., 2013).

Tomas ve ark.'ları (Tomás et al., 2002) ise PON1 aktivitesinde egzersize bağlı değişikliklerin PON1-Q192R genotipine bağlı olarak değiştiğini buldular. Düzenli egzersiz QQ katılımcılarda oksLDL düzeylerinin düşüşü ve PON1 aktivitesinin artışı ile bağlantılı ve R taşıyıcılarda ise PON1 aktivitesinin düşüşü ile bağlantılı buldular.

İn vitro çalışmalarda oksidan strese karşı koymada Q grubunun, R grubuna göre daha iyi bir koruma sağladığı gösterilmiştir (Michael Aviram et al., 2000). Bu çalışmada da sadece QQ homozigot grubunun PON1 aktivitesi kontrol grubununkine göre anlamlı olarak daha büyüktü ve bu farklılık Tomas ve ark.'ları (2002)'ninkine benzer olarak PON1-Q192R polimorfizmi ile ilişkiliydi.

Benzer şekilde, Rudarlı ve ark.'ları (Nalcakan et al., 2016), orta yaşlı bayanlarda, aerobik sağlıklı yaşam egzersizi yapan grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında sporcu QQ fenotip grubunun PON1 aktivitesininin belirtilen fenotipe bağlı olarak anlamlı düzeyde daha büyük olduğunu buldular.

Orta yaşlı erkeklerde sağlıklı yaşam amacıyla yapılan düzenli (jogging ve futbol) egzersizin etkisinin incelendiği çalışmada (Turgay, İşlekel, & Halil, 2011); QQ egzersiz grubunun PON1 aktivitesi kontrol grubununkine göre daha yüksek, R taşıyıcı gruplarının ise Tomas ve ark.'larının çalışmasına benzer şekilde anlamlı olarak daha düşük bulunmuş ($p < 0.005$). PON1-55 genotipi ile sınıflandırılmış katılımcıların antrenmandan ötürü PON1 aktivitelerinde anlamlı bir değişim gözlemlenmemiş ve belirtilen polimorfizm ile de bir ilişki saptanmamış. İspanyol toplumunda yapılan belirtilen çalışmanın (Tomás et al., 2002) PON1-192 polimorfizmiyle ilişkili olarak PON1 aktivitesindeki değişiklikler yukarıda tartışılan ve Türk toplumunda yapılan iki çalışmanın bulgularına benzerdi. Bu çalışmanın PON1-L55M (PON1-192 hariç) genotipine ilişkin bulguları belirtilen çalışma ile örtüşmektedir.

Turgay ve ark.'ları (Turgay, Şişman, & Aksu, 2015), judocu bayanlarda anaerobik antrenmanın PON1 enzim aktivitesini yukarıdaki iki çalışma bulgularından farklı olarak fenotipten bağımsız şekilde, TSPON1 aktivitesini ise fenotipe bağımlı olarak (R taşıyıcı grubunda) arttırdığını buldular. Bu son bulgular Türk toplumunda egzersize bağlı PON1 aktivite değişikliklerinde de PON1-Q192R polimorfizminin rolünü teyit eder. Ayrıca HDL2-AREST aktivitesinin R taşıyıcı grubunda PON1-192 fenotipine bağlı olarak arttığı bulundu.

Bu çalışmada ise tersine PON1-Q192R'nin R taşıyıcı grubunda ve PON1-L55M'in LL homozigot grubunda AREST aktivitesi kontrolünkinden belirtilen polimorfizmler ile ilişkili olarak daha küçüktü. Bu iki (PON1 ve AREST) enzim aktivitesindeki farklı değişiklik, bu enzimin PON1 ve AREST aktivitesinin egzersize verdiği yanıtta hassasiyette bir farklılıkla ilişkili olabilir. Ancak beklenilenin tersine polimorfizme bağımlı olması ilginçtir. Bu çalışmada aktivite ölçümlerinde farklı metodların kullanımı da sonuçları etkileyebilir. Egzersiz stresine AREST cevabı fenilasetatın hidrolizindeki farklılıkla açıklanabilir: AREST'in hidroliz hızı paraoksondan 1000 kat daha yüksektir (H Robert Superko et al., 2012). Ayrıca diğer genetik ve genetik olmayan faktörler (beslenme ve farmakolojik düzenleyiciler gibi) PON1 aktivitelerini etkileyebilir (Friedewald, Levy, & Fredrickson, 1972).

AREST aktivitesi PON1-192 polimorfizmine bağlı değildir (Gan et al., 1991), ancak PON gen ailesi ya da 7q kromozomu üzerindeki diğer genlerdeki bir mutasyonlar belirtilen etkileşimlere neden olabilir (Tomás et al., 2002) ve bu etkileşimler fenotip

farklılıklar yaratabilir. Bu çalışmada da PON1-Q192R'nin RT grubunun AREST değeri homozigot QQ grubuna göre daha küçük ve PON1-L55M'nin homozigot LL grubunun AREST değeri de homozigot MM grubuna göre anlamlı olarak daha küçüktü ($p<0,05$). Sonuçta bu tip bir egzersize uzun süreli olarak maruz kalan PON1-Q192R'nin RT grubunda ve PON1-L55M'in LL homozigot grubunda oksidatif strese yanıt olarak AREST aktivitesindeki düşme nedeniyle ilave bir aterosklerotik risk yaratabileceği söylenebilir. Çünkü AREST ve PON1 aynı enzimin farklı aktiviteleridir ve LDL'yi oksidasyondan korumada farklı etkileri vardır (Reddy et al., 2001).

PON2 ve PON3 ise bu bahsedilen aktiviteler açısından eksiktir (D I Draganov & La Du, 2004; Fuhrman, Volkova, & Aviram, 2005). Bu çalışmada homozigot LL kontrol grubunun AREST aktivitesi ve oksLDL değeri MT grubundan daha büyüktü ($p<0,05$). AREST aktivitesinin kontrol grubunda daha yüksek bulunmasına rağmen sporcuların AREST aktivitesinin kontrole göre düşük çıkmasının nedeni yapılan hipoksik antrenmanın oksidatif stresi (oksLDL) arttırması olabilir.

Bir çalışmada da (da Silva et al., 2011) düzenli direnç antrenmanı yapan grubun PON1 aktivitesi kontrolünkinden anlamlı olarak farklı değildi.

Ruta ve ark.'ları (Ruta, Otocka-Kmiecik, Nowak, & Kujawa, 2012) (ortalama $18\pm 2,74$ yaş; 13 erkek+2kadın) fiziksel aktivite düzeylerine bağlı olmaksızın maksimal egzersizin (koşubandında) hemen sonunda PON1 aktivitesini dinlenik değerlerine göre yükselttiğini bulmuşlar. PON aktivitesi egzersizden 2 saat sonra dinlenime göre daha yüksek ancak fark anlamlı bulunmamış. Ayrıca PON1 aktivitesi ile yaş, VA, VKİ ve yağsız vücut kütlesi ve fiziksel performans arasında arasında bu çalışmaya benzer olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Kmiecik ve ark.'ları (Otocka-Kmiecik, Bortnik, Szkudlarek, Nowak, & Orłowska-Majdak, 2013) genç elit ragbi sporcularında bisiklet ergometresinde maksimal egzersizin PON1 aktivitesini arttırdığını, AREST aktivitesini ise bu çalışmaya benzer olarak değiştirmedini bulmuşlar. Ayrıca Ragbi oyuncularında PON1 aktivitesinin yaşa, vücut kompozisyonuna ve antrenman geçmişine bağlı olduğu bulunmuştur. Bu çalışma sonuçlarında; PON ile ilgili parametreler yaş, vücut kompozisyonu gibi parametrelerle anlamlı bir ilişki bulunmadı ancak antrenman geçmişinin bu çalışmada da iyileştirici rolü olabilir.

Kujiraoka ve ark.'larının çalışmasında (Kujiraoka et al., 2000), sağlıklı Japon katılımcıların bizimkinden farklı olarak QQ genotip grubunun PON1 konsantrasyonu QR genotip grubundan daha yüksek buldular. Serum paraoksonaz aktivitesi ise bu çalışmaya benzer olarak QR genotip grubunda, QQ genotip grubundan daha büyüktü. Ayrıca PON1 dahil antioksidanlardaki artışın hipoksiye toleransı arttırdığı belirtilmektedir (Padhy et al., 2013). Bu nedenle PON düzeylerindeki artışın hipoksik tolerans kazandırarak olumlu etkiler göstermesi mümkün görülmektedir.

Çalışmalar arasındaki farklılıklarda, yapılan egzersizin şiddeti, süresi, tipi katılımcıların yaşı, antrenman seviyeleri, diyet ve çalışma dizaynındaki farklılıklar ve ilişkili polimorfizmler ve ırklar arasındaki allel farklılıklarının da rolü olabilir.

Sonuç olarak her ne kadar hipoksik ve oksidatif stres özelliği taşısa da USAR antrenmanlarının PON3 düzeylerini başta olmak üzere polimorfizme bağlı olarak PON2 miktarı, PON1 aktivitesi ve TG düzeyleri üzerinde iyileştirici etkisi olduğu söylenebilir.

5.2. USAR antrenmanlarının Klasik KKH risk faktörleri (kan lipid ve lipoproteinleri) üzerine etkisi ve PON1 ve PON2 polimorfizmlerinin rolü

Sporcu grubunun serum TG düzeyleri KG'ninkinden anlamlı olarak daha düşük, TBARS düzeyleri ise daha büyüktü ($p<0,05$). Fakat her iki grupta da TBARS düzeyleriyle TG arasında pozitif korelasyonlar bulundu ($p<0,05$). Bu ilişkiler sporcularda TG değeri düşük olmasına rağmen hem TBARS hem de oksLDL değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek bulunması belirtilen antrenmanın ilave etkisini gösterebilir.

TK, LDL-K ve HDL-K değerleri için SG ve KG arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Klasik KKH risk faktörleri incelendiğinde hepsi de normal değerleri içinde bulundu.

Sporcu ve kontrol grupları arasında KKH ile ilişkili oldukları bilinen (Mahley RW., 1993; H R Superko, 1991; Thompson, 1990) VA ve VKİ açısından anlamlı bir fark bulunmadı (yaş hariç). Sporcu grubunun fizyolojik performans düzeyi (kritik hız) kontrolünkinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p<0,01$). Bu bulgular sporcu grubunun antrene olduklarını gösterir.

Bailey ve ark.'ları (Bailey, Davies, & Baker, 2000) hem normoksik hem de hipoksik koşullarda yapılan 4 haftalık bisiklet egzersiz antrenmanından (haftada 3 gün, 20-30

dk, %70-85 maksimum kalp atım hızı) sonra plazma total kolesterol, HDL ve LDL'nin anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir. Her iki çalışmada hipoksik olmasına rağmen bu çalışma sonuçları belirtilen çalışmadan farklıydı. Bu farklılıkta yapılan egzersizin şiddeti, süresi, tipi, çalışma dizaynı gibi faktörlerin rolü olabilir.

Senti ve ark.'ları (Senti et al., 2000) yaptıkları kesitsel bir çalışmada bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde günlük fiziksel aktivite ve aerobik egzersizin, serum TG değerlerini düşürdüğü ve HDL-K değerlerini arttırdığı gösterilmiştir.

Bir diğer aerobik çalışmada; Nalçakan ve ark.'ları (Nalcakan et al., 2016), orta yaşlı Türk kadınlarında, düzenli aerobik egzersiz yapan sporcu grubunun kan lipid ve lipoprotein düzeylerinin kontrol grubuna göre bu çalışmadan farklı olarak daha antiaterojenik olduğunu bulmuşlar.

Turgay ve ark.'ları, 5 aylık anaerobik judo antrenmanı sonrası bu çalışmadan farklı olarak HDL-K seviyelerinin anlamlı düzeyde arttığını buldular (Turgay et al., 2011).

Bu çalışmada sporcu R, M ve S taşıyıcı gruplarının TG değerleri kontrol gruplarınınkinden anlamlı olarak daha küçüktü ($p<0,05$). Sporcu homozigot MM grubu ve sporcu M taşıyıcı grubu'nun HDL-K değeri kontrol gruplarınınkinden anlamlı olarak büyüktü ($p<0,05$). Bu farklılıklarda ilgili polimorfizmlerin herhangi bir rolü bulunmadı. Sporcularda oksidatif strese (oksLDL) rağmen belirtilen egzersizin bu genotip gruplarda lipid ve lipoprotein metabolizmasını iyileştirdiği söylenebilir. Bunun nedeni muhtemelen artan antioksidan nitelikteki PON3 ve benzeri proteinlerin hipoksiye toleranstaki olumlu rollerinin etkisi olabilir (Bailey et al., 2000). Böylece hipoksik ve anaerobik özellikteki sualtı ragbi antrenmanları lipoprotein lipaz aktivitesini arttırmak suretiyle TG katabolizmasını artırarak HDL'yi iyileştirebilir (Sgouraki, Tsopanakis, & Tsopanakis, 2001). Bu bulgular USAR antrenmanlarının TG metabolizmasını iyileştirerek HDL-K metabolizmasını iyileşirebileceği görüşünü destekler niteliktedir (Haskell et al., 2007; M. Murphy, Nevill, Neville, Biddle, & Hardman, 2002). Dolayısıyla HDL ile ilişkili PON1 ve PON3 gibi antioksidan proteinlerin artmasına aracılık edebilir. Literatürde anaerobik hipoksik antrenmanlarının kan lipid ve lipoproteinleri üzerine etkileri ve ilgili polimorfizmlerin (PON2 ve PON3) rolünü inceleyen bir çalışmaya rastlanmadığından bildiğim kadarıyla bu çalışma Türk popülasyonunda yapılmış bu konudaki ilk çalışmadır.

PON1-Q192R polimorfizminin aerobik egzersizin PON1 aktivitesi (Tomás et al., 2002) ve klasik KKH risk faktörleri üzerindeki etkilerinde modifiye edici rolü olduğu belirtilmektedir (Sentí et al., 2000).

Tomas ve ark.'larının (Tomás et al., 2002) çalışmasında homozigot QQ ve R taşıyıcı kontrol grupları klasik KKH risk faktörleri açısından karşılaştırıldığında; bu çalışmaya benzer şekilde HDL-K, LDL-K ve TG açısından anlamlı bir fark bulunmazken, bu çalışmadan farklı olarak homozigot QQ grubunun TK değeri R taşıyıcı grubundan anlamlı olarak daha küçük bulunmuş. Aynı çalışmada PON1-55 genotip kontrol grupları arasında klasik KKH risk faktörleri açısından bu çalışmaya benzer olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Diyabetik hastalardan oluşan bir popülasyonda yapılan bir çalışmada (MC et al., 1997) PON1-L55M polimorfizminin üç genotip grubunda (LL, LM ve MM) da bu çalışmaya benzer olarak plazma lipid ve lipoprotein konsantrasyonları (TG, HDL-K ve kolesterol) arasında anlamlı bir farklılık bulunmamış.

Sanghera ve ark.'ları (Sanghera, Aston, Saha, & Kamboh, 1998) PON2-S311C polimorfizminin (hint popülasyonunda) KKH ile anlamlı ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada kontrol grupları klasik KKH risk faktörleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu bulgulardan farklı olarak bu çalışmada homozigot CC kontrol grubunun HDL-K düzeyi S taşıyıcı grubunkinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p<0,05$).

Bu çalışmada belirtilen egzersiz antrenmanının klasik KKH risk faktörleri üzerine etkisinde belirtilen çalışmalardan farklı olarak, PON1-Q192R ve PON1-L55M polimorfizmlerinin anlamlı bir etkisi bulunmadı.

Sonuç olarak: USAR antrenmanları TG metabolizmasını iyileştirmek suretiyle HDL-K metabolizmasını etkileyebilir. Ancak egzersizin bu etkilerinde belirtilen diğer polimorfizmlerin anlamlı bir rolü bulunmadı. Sadece PON2-S311C polimorfizminde bazal HDL-K düzeyleri polimorfizme göre farklılık gösterdi.

5.3. USAR antrenmanlarının kan NO düzeyleri üzerine etkisi ve eNOS intron 4a/b polimorfizminin rolü

Nitrit NO'nun plazmadaki temel oksidasyon ürünüdür. Nitrit sağlıklı kişilerde NOS aktivitesindeki akut ve kronik değişiklikleri duyarlı bir şekilde yansıtır. Dolaşımdaki nitritin çoğu insanda ve diğer memelilerde eNOS aktivitesinden türemektedir

(Kleinbongard et al., 2003). Bu nedenle bu çalışmada kan total nitrit düzeyleri NO olarak ifade edilmiştir. Bu çalışmada hipoksik antrenmanların kan NO düzeyleri üzerine etkisi ve bu muhtemel etkide eNOS3 intron 4a/b polimorfizminin rolü araştırıldı.

Aerobik egzersizin kan NO düzeylerini arttırdığı, anaerobik egzersizin ise herhangi bir anlamlı etkisi olmadığı belirtilmektedir (Kingwell, 2000; Özkol et al., 2012; Reid, 2001).

Bir çalışmada (Turgay et al., 2006) kan NO ve TBARS düzeyleri incelendiğinde, egzersiz ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamakla birlikte, futbol grubunun NO değerleri kontrol ve jogging gruplarınınkinden daha büyük, futbol grubu TBARS değerleri ise sadece kontrol grubununkinden daha büyük olarak belirlendi. Total deneklerde, fiziksel fitness (MaxVO₂) düzeyleri ve dinlenik kan NO düzeyleri arasında bu çalışmadan farklı olarak pozitif bir korelasyon bulunmuş. (p<0.05).

Moriguchi ve ark.'ları (Moriguchi et al., 2002) da, 3 günlük hentbol takımı antrenman programına katılan (19-21 yaş arası) 6 sağlıklı bayan atletin egzersiz boyunca üriner NO metabolitlerinin seviyelerinin değişmediğini, egzersizi takiben dinlenme boyunca ise üriner NO seviyelerinde anlamlı bir artış bulmuşlardır. Bundan yola çıkarak kan NO seviyelerinin egzersiz boyunca değişmeyebileceğini ancak periferik kan damarlarının dilatasyonunun egzersiz boyunca kardiyak çıktıdaki artışla birlikte artabileceğini öne sürmüşlerdir.

Bir diğer çalışmada (Jungersten, Ambring, Wall, & Wennmalm, 1997) bazal kan NO düzeyleri ile fitness düzeyi (VO₂ max) arasında bu çalışmadan farklı olarak anlamlı ilişkiler bulunmuş.

Bir diğer çalışmada ise ortalama plazma NO düzeyleri koroner kalp hastalığına sahip kişilerde kontrollere göre daha büyüktü ancak eNOS3 4a/b polimorfizmi bu çalışmadakine benzer olarak NO düzeyi ile ilişkili bulunmamış (Salimi et al., 2008).

Bu çalışmada genotip gruplar (ab, aT ve bb) arasında NO konsantrasyonu açısından anlamlı bir farklılık ve belirtilen polimorfizmin de herhangi bir rolü bulunmadı. Her üç sporcu genotip grup sedanter gruplarıyla karşılaştırıldığında sporcuların oksLDL düzeyleri anlamlı olarak daha büyüktü.

Wang ve ark.'ları (Wang et al., 2011) oksLDL'nin koroner arterlerde endotele bağı NO aracılı vasodilatör fonksiyonu eNOS ekspresyonu değişimsiz inhiye ettiğini bulmuşlar.

Sağlıklı kişilerde orta yoğunluktaki bir aerobik egzersizin NO artışı ile yüksek yoğunluklu endotele bağı vazodilatasyonu artırırken, bunun tersine yüksek yoğunluklu aerobik bir egzersizin (%70-80VO₂maks) oksidatif stresi arttırmak suretiyle endotele bağı vazodilatasyonu bozduğu belirtilmektedir (Goto et al., 2003). Gene buna benzer bir çalışmada (Förstermann, 2010); oksidatif stresin NO biyoyararlılığını düşürdüğü belirtilmektedir.

NOS'un tüm izoformlarının hipoksi ile transkripsiyonel olarak düzenlendiği, nNOS ekspresyonunun ezilme, şidetli yaralanma ve kassal aktivite ile arttığı, vasküler ve kas nNOS'unun ise kronik egzersizle arttığı belirtilmektedir (Kingwell, 2000). Ancak bu çalışma sonuçları belirtilen çalışma bulgularıyla örtüşmemektedir. Bu çalışmada sualtı ragbi hipoksik olması yanı sıra yüksek düzede oksidatif stres üretiyor olması bu NO daki iyileşmeyi engelliyor olabilir. Çünkü sualtı ragbi antrenmanları hipoksik doğası gereği oksidatif stres yaratarak NO düzeylerini etkileyebilir. Bu nedenle bu çalışmada da sporcu ve kontrol grupları arasında serum NO düzeyleri için anlamlı bir farklılığın bulunmamasında sporculardaki hipoksik antrenman kaynaklı yüksek oksLDL ve oksidatif stresin de rolü olabilir.

PON1 aktivitesinin, endotelin HDL tarafından antiaterosklerotik olarak korunmasında onun endotelyal NO üretimini arttırmak suretiyle iyileştirici bir rolü olabileceği belirtilmektedir (Besler et al., 2011).

Bir çalışmada (Sang et al., 2015) yürüme ve koşu şeklindeki 10 haftalık bir egzersizin HDL'deki PON1 aktivitesini arttırdığı ve eNOS'a bağımlı NO üretimini iyileştirdiği belirtilmektedir.

NO'nun oksidatif stresin çok fazla arttığı koşullar altında oksidan maddelere dönüşebildiği ve ayrıca oksidatif stresin hem NO'nun (Kingwell, 2000; B. Mackness et al., 1998) biyoyararlılığını azalttığı hem de PON1 aktivitesini düşürdüğü belirtilmektedir (Tomás et al., 2002).

Bu çalışmada sporcu eNOS bb homozigot grubunda oksLDL'ye ilave olarak TBARS ve PON1 aktivite düzeyleri de anlamlı olarak daha büyüktü ve bu grupta oksLDL'deki bu farklılık genotiple ilişkiliydi. Özellikle oksidatif stresin daha büyük

olduğu bu grupta PON1 aktivitesi'nin sporcularda daha büyük bulunması yukarıdaki çalışma sonuçları ile çelişmektedir.

Tüm genotip gruplarda ve intron 4a/b polimorfizm gruplarında serum PON3 düzeyleri sporcularda anlamlı olarak daha büyük bulundu. Bunun antioksidan olarak ilave bir katkısı düşünülebilir ancak PON3, PON1 aktivitesi'nin artmadığı diğer tüm sporcu gruplarında da anlamlı olarak daha büyüktü.

Ayrıca PON1 ya da PON3 ile NO arasında herhangi bir ilişki bulunmadı. Bu nedenle yukarıda bahsedilen çalışmadakine benzer olarak PON1 aktivitesi ve NO arasında direkt bir nedensel ilişkinin olması mümkün olmayabilir.

Ayrıca a taşıyıcı (aT, aT=aa+ab) kontrol grubunun PON1 aktivitesi (%65), TSPON1 aktivitesi (%25) ve TG (%28) değerleri bb grubununkinden anlamlı olmasa da daha büyük bulundu ($p>0,05$). aT kontrol grubunun PON1 aktivitesi bb homozigot grubundan büyük olmasına rağmen sporcu bb homozigot grubunda bu aktivitenin kontrole göre daha yüksek olmasının nedeni de uygulanan antrenmanların antioksidan proteinleri (PON3 gibi) artırması şeklinde bir adaptasyonun sonucu olabilir.

Bir çalışmada eNOS intron 4a/b polimorfizminin plazma NO konsantrasyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Ekmekçi et al., 2013). Bu çalışmada benzer bir ilişki bulunmadı. Çalışmalar arasındaki farklılıklarda egzersizin şiddeti, süresi, tipi, katılımcıların ırkı ve çalışma dizaynlarının farklı olmasının rolü olabilir.

Özetle bu çalışmada USAR antrenmanının kan NO düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi ve bazal kan NO düzeyleri üzerinde eNOS3 intron 4a/b polimorfizminin herhangi bir rolü görülmedi. Literatürde bu çalışmadaki parametreleri içeren bir çalışma bulunamadığından tartışma çok sınırlı kalmıştır. Bu nedenle bu çalışma literatürdeki ilk çalışma olacaktır.

Sonuç ve Öneriler

Sonuç olarak; USAR gibi hipoksik antrenmanların:

- ✓ Anlamlı düzeyde oksidatif stres yarattığı (hipoteze uygun olmayarak) ve buna ilk antioksidan yanıtın PON3 düzeyindeki bir artış şeklinde olduğu (hipoteze uygun olarak) ve PON1 düzeyinin değişmediği (hipoteze uygun olmayarak),
- ✓ Hipoteze uygun olarak PON2 miktarını arttırdığı ve bu artışın PON2-A148G polimorfizmi ile ilişkili olduğu,
- ✓ Hipoteze uygun olarak PON1 aktivitesini arttırdığı ve bu artışın PON1-Q192R polimorfizmi ile ilişkili olduğu,
- ✓ Hipoteze uygun olmayarak AREST aktivitesini düşürdüğü ve bu etkide PON1-L55M polimorfizminin rolü olduğu,
- ✓ Lipid ve lipoprotein düzeyleri üzerinde (TG düzeyleri) olumlu etkisi olduğu ve bu etkilerde herhangi bir polimorfizminin rolü olmadığı,
- ✓ Hipoteze uygun olmayarak kan NO düzeyleri üzerine herhangi bir anlamlı etkisi olmadığı ve bu sonuçlarda eNOS3 intron 4a/b polimorfizminin rolü olmadığı söylenebilir.

Ayrıca kontrol grupları göz önüne alındığında:

- ✓ Genotip AA grubunun PON2 protein ve oksLDL düzeyleri homozigot G taşıyıcı grubununkinden farklı bulunmasında PON2-A148G polimorfizminin,
- ✓ Genotip homozigot LL grubunun AREST aktivitesi ve oksLDL değerinin M taşıyıcı grubunda farklı olmasında PON1-L55M polimorfizminin,
- ✓ Lipid ve lipoprotein düzeyleri açısından karşılaştırıldığında sadece homozigot CC grubunda bazal HDL-K düzeyleri S taşıyıcı gruba göre farklı bulunmasında PON2-S311C polimorfizmin rolü bulundu.
- ✓ Kan NO düzeyleri ve diğer parametreler için gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Benzer çalışmaların daha çok katılımcı ile yapılması önerilir.

Kaynaklar

- Adkins, S., Gan, K. N., Modyt, M., & Dut, B. N. La. (1993). Molecular Basis for the Polymorphic Forms of Human Serum Paraoxonase/Arylesterase: Glutamine or Arginine at Position 191, for the Respective A or B Allozymes. *Am. J. Hum. Genet*, 52, 598–608.
- Albrecht, E. W., Stegeman, C. A., Heeringa, P., Henning, R. H., & van Goor, H. (2003). Protective role of endothelial nitric oxide synthase. *The Journal of Pathology*, 199(1), 8–17.
- Alderton, W. K., Cooper, C. E., & Knowles, R. G. (2001). Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *The Biochemical Journal*, 357(Pt 3), 593–615.
- Aviram, M, Rosenblat, M., Billecke, S., Erogul, J., Sorenson, R., Bisgaier, C. L., ... La Du, B. (1999). Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(7–8), 892–904.
- Aviram, Michael, Hardak, E., Vaya, J., Mahmood, S., Milo, S., Hoffman, A., ... Rosenblat, M. (2000). Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation*, 101(21), 2510–2517.
- Aviram, Michael, & Rosenblat, M. (2004). Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radical Biology & Medicine*, 37(9), 1304–1316.
- Bailey, D. M., Davies, B., & Baker, J. (2000). Training in hypoxia: modulation of metabolic and cardiovascular risk factors in men. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32(6), 1058–1066.
- Bellini, M. H., Figueira, M. N., Piccoli, M. F., Marumo, J. T., Cendoroglo, M. S., Neto, M. C., ... Schor, N. (2007). Association of endothelial nitric oxide synthase gene intron 4 polymorphism with end-stage renal disease. *Nephrology (Carlton, Vic.)*, 12(3), 289–293.
- Besler, C., Heinrich, K., Rohrer, L., Doerries, C., Riwanto, M., Shih, D. M., ... Landmesser, U. (2011). Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(7), 2693–2708.

- Brady, A. J., & Poole-Wilson, P. A. (1993). Circulatory failure in septic shock. Nitric oxide: too much of a good thing? *British Heart Journal*, *70*(2), 103–105.
- Brookes, P. S., Levonen, A.-L., Shiva, S., Sarti, P., & Darley-Usmar, V. M. (2002). Mitochondria: regulators of signal transduction by reactive oxygen and nitrogen species. *Free Radical Biology & Medicine*, *33*(6), 755–764.
- Broomfield, C., & Ford, K. (1991). *Hydrolysis of nerve gasses by plasma enzymes. Proceedings of the 3rd International Meeting on Cholinesterases*. 161.
- Cavas, L. (2005). Does underwater rugby stimulate the over-production of reactive oxygen species? *Cell Biochemistry and Function*, *23*(1), 59–63.
- Chen, K., Piknova, B., Pittman, R. N., Schechter, A. N., & Popel, A. S. (2008). Nitric oxide from nitrite reduction by hemoglobin in the plasma and erythrocytes. *Nitric Oxide*, *18*(1), 47–60.
- Chen, K., Pittman, R. N., & Popel, A. S. (2008). Nitric oxide in the vasculature: where does it come from and where does it go? A quantitative perspective. *Antioxidants & Redox Signaling*, *10*(7), 1185–1198.
- CMAS. About Underwater Rugby. (n.d.). Retrieved from <https://www.cmas.org/underwater-rugby/about-2012032626>
- Cooke, J. P. (1996). Role of nitric oxide in progression and regression of atherosclerosis. *The Western Journal of Medicine*, *164*(5), 419–424.
- Cortas, N. K., & Wakid, N. W. (1990). Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clinical Chemistry*, *36*(8 Pt 1), 1440–1443.
- Crook, M. A. (2018). Clinical Biochemistry & Metabolic Medicine. In *Clinical Biochemistry & Metabolic Medicine*.
- da Silva, J. L., Vinagre, C. G. C. M., Morikawa, A. T., Alves, M. J. N. N., Mesquita, C. H., & Maranhão, R. C. (2011). Resistance training changes LDL metabolism in normolipidemic subjects: a study with a nanoemulsion mimetic of LDL. *Atherosclerosis*, *219*(2), 532–537.
- Dasgupta, A., & Zdunek, T. (1992). In vitro lipid peroxidation of human serum catalyzed by cupric ion: Antioxidant rather than prooxidant role of ascorbate. *Life Sciences*, *50*(12), 875–882.
- Davies, H. G., Richter, R. J., Keifer, M., Broomfield, C. A., Sowalla, J., & Furlong, C. E. (1996). The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is

- reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nature Genetics*, 14(3), 334–336.
- Davies, K. J. A., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A., & Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 107(4), 1198–1205.
- Devarajan, A., Bourquard, N., Hama, S., Navab, M., Grijalva, V. R., Morvardi, S., ... Reddy, S. T. (2011). Paraoxonase 2 Deficiency Alters Mitochondrial Function and Exacerbates the Development of Atherosclerosis. *Antioxidants & Redox Signaling*, 14(3), 341–351.
- Draganov, D I, & La Du, B. N. (2004). Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 369(1), 78–88.
- Draganov, Dragomir I., Stetson, P. L., Watson, C. E., Billecke, S. S., & La Du, B. N. (2000). Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. *Journal of Biological Chemistry*, 275(43), 33435–33442.
- Draganov, Dragomir I., Teiber, J. F., Speelman, A., Osawa, Y., Sunahara, R., & La Du, B. N. (2005). Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *Journal of Lipid Research*, 46(6), 1239–1247.
- Durrington, P. N., Mackness, B., & Mackness, M. I. (2001). Paraoxonase and atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, Vol. 21, pp. 473–480.
- Eckerson, H. W., Romson, J., Wyte, C., & La Du, B. N. (1983). The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *American Journal of Human Genetics*, 35(2), 214–227.
- Eckerson, H. W., Wyte, C. M., & La Du, B. N. (1983). The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *American Journal of Human Genetics*, 35, 1126–1138.
- Ekmekçi, A., Özcan, K. S., Güngör, B., Abaci, N., Osmonov, D., Zencirci, A., ... Eren, M. (2013). The relationship between endothelial nitric oxide synthase 4a/4b gene polymorphism and premature coronary artery disease. *Acta Cardiologica*, 68(5), 464–468.
- Erdös, E. G., Debay, C. R., & Westerman, M. P. (1960). Arylesterases in blood: Effect of calcium and inhibitors. *Biochemical Pharmacology*, 5(3), 173–186.

- Fielding, C. J., Shore, V. G., & Fielding, P. E. (1972). A protein cofactor of lecithin:Cholesterol acyltransferase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 46(4), 1493–1498.
- Förstermann, U. (2010). Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflugers ArchivEuropean Journal of Physiology*, 459(6), 923–939.
- Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6), 499–502.
- Fuhrman, B., Volkova, N., & Aviram, M. (2005). Paraoxonase 1 (PON1) is present in postprandial chylomicrons. *Atherosclerosis*, 180(1), 55–61.
- Furchgott, R. F., & Zawadzki, J. V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288(5789), 373–376.
- Gallo, L. L. (Ed.). (1987). *Cardiovascular Disease*.
- Gan, K. N., Smolen, A., Eckerson, H. W., & La Du, B. N. (1991). Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 19(1), 100–106.
- Geldmacher-von Mallinckrodt, M., Pétényi, M., Flügel, M., Burgis, H., Dietzel, B., Metzner, H., ... Renner, O. (1973). [On the specificity of human serum paraoxonase (author's transl)]. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift Fur Physiologische Chemie*, 354(3), 337–340.
- Ghafourifar, P., & Cadenas, E. (2005). Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends in Pharmacological Sciences*, Vol. 26, pp. 190–195.
- Glomset, J. A. (1968). The plasma lecithins:cholesterol acyltransferase reaction. *Journal of Lipid Research*, 9(2), 155–167.
- Gordon, T., Castelli, W. P., Hjortland, M. C., Kannel, W. B., & Dawber, T. R. (1977). High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham study. *The American Journal of Medicine*, 62(5), 707–714.
- Goto, C., Higashi, Y., Kimura, M., Noma, K., Hara, K., Nakagawa, K., ... Nara, I. (2003). Effect of Different Intensities of Exercise on Endothelium-Dependent Vasodilation in Humans. *Circulation*, 108(5), 530–535.

- Grange, R. W., ISOTANI, E., LAU, K. S., KAMM, K. E., HUANG, P. L., & STULL, J. T. (2001). Nitric oxide contributes to vascular smooth muscle relaxation in contracting fast-twitch muscles. *Physiological Genomics*, 5(1), 35–44.
- Grdic Rajkovic, M., Rumora, L., & Barisic, K. (2011). The paraoxonase 1, 2 and 3 in humans. *Biochemia Medica*, 21(2), 122–130.
- Gutteridge, J. M. C. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41(12 Pt 2), 1819–1828.
- Hall, J. E. (2011). Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology (12e).
- Halliwell, B. (1989). Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *British Journal of Experimental Pathology*, 70(6), 737–757.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 219(1), 1–14.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (fifth).
- Harel, M., Aharoni, A., Gaidukov, L., Brumshtein, B., Khersonsky, O., Meged, R., ... Tawfik, D. S. (2004). Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nature Structural & Molecular Biology*, 11(5), 412–419.
- Haskell, W. L., Lee, I.-M., Pate, R. R., Powell, K. E., Blair, S. N., Franklin, B. A., ... Bauman, A. (2007). Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 39(8), 1423–1434.
- Hassett, C., Richter, R. J., Humbert, R., Chapline, C., John Crabb, O. W., Curtis Omiecinski, O. J., & Furlong, C. E. (1991). Characterization of cDNA Clones Encoding Rabbit and Human Serum Paraoxonase: The Mature Protein Retains Its Signal Sequence^{+,*}. *Biochemistry*, 30(101), 41–1.
- Hegele, R. A., Harris, S. B., Connelly, P. W., Hanley, A. J., Tsui, L.-C., Zinman, B., & Scherer, S. W. (2008). Genetic variation in paraoxonase-2 is associated with variation in plasma lipoproteins in Canadian Oji-Cree. *Clinical Genetics*, 54(5), 394–399.

- Hibbs, J. B., Taintor, R. R., Vavrin, Z., & Rachlin, E. M. (1988). Nitric oxide: A cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 157(1), 87–94.
- Hogg, N., & Kalyanaraman, B. (1999). Nitric oxide and lipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1411(2–3), 378–384.
- Humbert, R., Adler, D. A., Disteché, C. M., Hassett, C., Omiecinski, C. J., & Furlong, C. E. (1993). The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nature Genetics*, 3(1), 73–76.
- Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E., & Chaudhuri, G. (1987). Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(24), 9265–9269.
- Jonas, A. (2000). Lecithin cholesterol acyltransferase. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1529(1–3), 245–256.
- Jungersten, L., Ambring, A., Wall, B., & Wennmalm, A. (1997). Both physical fitness and acute exercise regulate nitric oxide formation in healthy humans. *Journal of Applied Physiology*, 82(3), 760–764.
- Kingwell, B. A. (2000). Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and. *FASEB J.*, 14, 1685–1696.
- Kingwell, B. A. (2002). Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *The FASEB Journal*, 14(12), 1685–1696.
- Kleinbongard, P., Dejam, A., Lauer, T., Rassaf, T., Schindler, A., Picker, O., ... Kelm, M. (2003). Plasma nitrite reflects constitutive nitric oxide synthase activity in mammals. *Free Radical Biology & Medicine*, 35(7), 790–796.
- Knowles, R. G., & Moncada, S. (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *Biochemical Journal*, 298(2), 249–258.
- Kotani, K., Caccavello, R., Mutou, T., Yamada, T., Taniguchi, N., & Gugliucci, A. (2012). Association between reactive oxygen metabolites and paraoxonase 1 activity during a physical activity increase intervention with older Japanese people. *Australasian Journal on Ageing*, 31(4), 222–226.
- Kujiraoka, T., Oka, T., Ishihara, M., Egashira, T., Fujioka, T., Saito, E., ... Hattori, H. (2000). A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for human serum

- paraoxonase concentration. *Journal of Lipid Research*, 41(8), 1358–1363.
- Kuo, C. L., & La Du, B. N. (1995). Comparison of purified human and rabbit serum paraoxonases. *Drug Metabolism and Disposition*, 23(9), 935–944.
- Kuo, C. L., & La Du, B. N. (1998). Calcium binding by human and rabbit serum paraoxonases. Structural stability and enzymatic activity. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 26(7), 653–660.
- La Du, B. N., Adkins, S., Kuo, C. L., & Lipsig, D. (1993). Studies on human serum paraoxonase/arylesterase. *Chemico-Biological Interactions*, 87(1–3), 25–34.
- Li, H. L., Liu, D. P., & Liang, C. C. (2003). Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. *Journal of Molecular Medicine*, Vol. 81, pp. 766–779.
- Mackness, B., Durrington, P. N., & Mackness, M. I. (1998). Human Serum Paraoxonase. *General Pharmacology*, Vol. 31, pp. 329–336.
- Mackness, M. I., Hallam, S. D., Peard, T., Warner, S., & Walker, C. H. (1985). The separation of sheep and human serum “A”-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry And*, 82(4), 675–677.
- Mackness, Michael I., Arrol, S., Abbott, C., & Durrington, P. N. (1993). Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis*, 104(1–2), 129–135.
- Mackness, Michael I., Mackness, B., Durrington, P. N., Connelly, P. W., & Hegele, R. A. (1996). Paraoxonase: Biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Current Opinion in Lipidology*, Vol. 7, pp. 69–76.
- Madamanchi, N. R., & Runge, M. S. (2007). Mitochondrial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation Research*, 100(4), 460–473.
- Mahdirejei, T. A., Razi, M., Barari, A., Farzanegi, P., Mahdirejei, H. A., Shahrestani, Z., & Ahmadi, M. (2015). A comparative study of the effects of endurance and resistance exercise training on PON1 and lipid profile levels in obese men. *Sport Sciences for Health*, 11(3), 263–270.
- Mahley, R. W., Innerarity, T. L., Rall, S. C., & Weisgraber, K. H. (1984). Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *Journal of Lipid Research*, 25(12), 1277–1294.
- Mahley RW. (1993). *Aterogenezin Hücresel ve Moleküler Biyolojisi Kolesterol*

- Taşınması ve Lipoprotein Metabolizması.* (O. Gökdemir & K.E.Palaoğlu, Eds.). Merck Sharp.
- Marsden, P. A., Heng, H. H., Scherer, S. W., Stewart, R. J., Hall, A. V, Shi, X. M., ... Schappert, K. T. (1993). Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(23), 17478–17488.
- MC, G., RW, J., P, D., H, B., P, P., P, F., & J, R. (1997). Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and. *The Journal of Clinical Investigation*, 99(1), 62–66.
- Meijer, E. P., Goris, A. H. C., van Dongen, J. L. J., Bast, A., & Westerterp, K. R. (2002). Exercise-induced oxidative stress in older adults as a function of habitual activity level. *Journal of the American Geriatrics Society*, 50(2), 349–353.
- Miller, G. J., & Miller, N. E. (1975). Plasma-High-Density-Lipoprotein Concentration and Development of Ischæmic Heart-Disease. *The Lancet*, 305(7897), 16–19.
- Mochizuki, H., Scherer, S. W., Xi, T., Nickle, D. C., Majer, M., Huizenga, J. J., ... Prochazka, M. (1998). Human PON2 gene at 7q21.3: cloning, multiple mRNA forms, and missense polymorphisms in the coding sequence. *Gene*, 213(1–2), 149–157.
- Moncada, S., & Higgs, A. (1993). The L-arginine-nitric oxide pathway. *The New England Journal of Medicine*, 329(27), 2002–2012.
- Moncada, S., & Higgs, E. A. (2006). The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British Journal of Pharmacology*, Vol. 147.
- Moriguchi, T., Shimomitsu, T., Odagiri, Y., Ichimura, S., Fukuda, J., & Tomoda, A. (2002). Circadian changes in urinary bicarbonate, nitric oxide metabolites and pH in female player during handball camp involved in an exercise, rest and sleep cycle. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 196(4), 281–291.
- Murphy, M., Nevill, A., Neville, C., Biddle, S., & Hardman, A. (2002). Accumulating brisk walking for fitness, cardiovascular risk, and psychological health. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 34(9), 1468–1474.
- Murphy, S. D. (1980). Toxic effects of pesticides. In L. J. Casarett, J. Doull, C. D.

- Klassen, & M. O. Amdur (Eds.), *Toxicology: The basic science of poisons* (Third).
- Nalcakan, G. R., Varol, S. R., Turgay, F., Nalcakan, M., Ozkol, M. Z., & Karamizrak, S. O. (2016). Effects of aerobic training on serum paraoxonase activity and its relationship with PON1-192 phenotypes in women. *Journal of Sport and Health Science*, 5(4), 462–468.
- Nathan, C. (1992). Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 6(12), 3051–3064.
- Navab, M., Hama, S. Y., Hough, G. P., Hedrick, C. C., Sorenson, R., La Du, B. N., ... Fogelman, A. M. (1998). High density associated enzymes: their role in vascular biology. *Current Opinion in Lipidology*, 9(5), 449–456.
- Neubauer, J. A. (2001). Invited review: Physiological and pathophysiological responses to intermittent hypoxia. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 90(4), 1593–1599.
- Ng, C. J., Bourquard, N., Hama, S. Y., Shih, D., Grijalva, V. R., Navab, M., ... Reddy, S. T. (2007). Adenovirus-Mediated Expression of Human Paraoxonase 3 Protects Against the Progression of Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27(6), 1368–1374.
- Ng, C. J., Wadleigh, D. J., Gangopadhyay, A., Hama, S., Grijalva, V. R., Navab, M., ... Reddy, S. T. (2001). Paraoxonase-2 Is a Ubiquitously Expressed Protein with Antioxidant Properties and Is Capable of Preventing Cell-mediated Oxidative Modification of Low Density Lipoprotein. *Journal of Biological Chemistry*, 276(48), 44444–44449.
- Otocka-Kmiecik, A., Bortnik, K., Szkudlarek, U., Nowak, D., & Orłowska-Majdak, M. (2013). Effect of exercise on plasma paraoxonase1 activity in rugby players: dependance on training experience. *Redox Report: Communications in Free Radical Research*, 18(3), 113–119.
- Özkol, M. Z., Turgay, F., Varol, S. R., Özçaldıran, B., Vural, F., Akşit, T., & Rudarlı Nalçakan, G. (2012). The Effects of Chronic Aerobic and Anaerobic Exercise on Blood Nitric Oxide Levels. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 32(6), 1607–1617.

- Padhy, G., Sethy, N. K., Ganju, L., & Bhargava, K. (2013). Abundance of Plasma Antioxidant Proteins Confers Tolerance to Acute Hypobaric Hypoxia Exposure. *High Altitude Medicine & Biology*, *14*(3), 289–297.
- Palmer, R. M. J., Ashton, D. S., & Moncada, S. (1988). Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, *333*(6174), 664–666.
- Passarge, E. (2009). *Renkli Genetik Atlası*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
- Playfer, J. R., Eze, L. C., Bullen, M. F., & Evans, D. A. (1976). Genetic polymorphism and interethnic variability of plasma paraoxonase activity. *Journal of Medical Genetics*, *13*(5), 337–342.
- Primo-Parmo, S. L., Sorenson, R. C., Teiber, J., & La Du, B. N. (1996). The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics*, *33*(3), 498–507.
- Radák, Z. (2000). *Free Radicals in Exercise and Aging* (1st ed.; Z. Radák, Ed.). Champaign, III: Human Kinetics.
- Ray, P. D., Huang, B.-W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*, *24*(5), 981–990.
- Rector, R. S., Warner, S. O., Liu, Y., Hinton, P. S., Sun, G. Y., Cox, R. H., ... Thomas, T. R. (2007). Exercise and diet induced weight loss improves measures of oxidative stress and insulin sensitivity in adults with characteristics of the metabolic syndrome. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, *293*(2), E500-6.
- Reddy, S. T., Wadleigh, D. J., Grijalva, V., Ng, C., Hama, S., Gangopadhyay, A., ... Fogelman, A. M. (2001). Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *21*(4), 542–547.
- Reid, M. B. (2001). Nitric oxide, reactive oxygen species, and skeletal muscle contraction. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *33*(3), 371–376.
- Roberts, C. K., Ng, C., Hama, S., Eliseo, A. J., & Barnard, R. J. (2006). Effect of a short-term diet and exercise intervention on inflammatory/anti-inflammatory properties of HDL in overweight/obese men with cardiovascular risk factors. *Journal of Applied Physiology*, *101*(6), 1727–1732.



- Romani, R., De Medio, G. E., di Tullio, S., Lapalombella, R., Pirisinu, I., Margonato, V., ... Rosi, G. (2009). Modulation of paraoxonase 1 and 3 expression after moderate exercise training in the rat. *Journal of Lipid Research*, 50(10), 2036–2045.
- Ruta, B., Otocka-Kmiecik, A., Nowak, D., & Kujawa, J. (2012). Antiatherosclerotic effect of exercise on the antioxidant properties of paraoxonase – A preliminary examination. *Polish Annals of Medicine*, 19(1), 84–88.
- Salimi, S., Firoozzrai, M., Nourmohammadi, I., Shabani, M., Shafiee, S. M., Mohebbi, A., & Tavailani, H. (2008). Lack of evidence for contribution of intron4a/b polymorphism of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene to plasma nitric oxide levels. *Acta Cardiologica*, 63(2), 229–234.
- Sang, H., Yao, S., Zhang, L., Li, X., Yang, N., Zhao, J., ... Qin, S. (2015). Walk-run training improves the anti-inflammation properties of high-density lipoprotein in patients with metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(3), 870–879.
- Sanghera, D. K., Aston, C. E., Saha, N., & Kamboh, M. I. (1998). DNA polymorphisms in two paraoxonase genes (PON1 and PON2) are associated with the risk of coronary heart disease. *American Journal of Human Genetics*, 62(1), 36–44.
- Schettler, G. (Ed.). (1987). *Molecular Biology of the Arterial Wall*.
- Sentí, M., Aubó, C., Elosua, R., Sala, J., Tomás, M., & Marrugat, J. (2000). Effect of physical activity on lipid levels in a population-based sample of men with and without the Arg192 variant of the human paraoxonase gene. *Genetic Epidemiology*, 18(3), 276–286.
- Sgouraki, E., Tsopanakis, A., & Tsopanakis, C. (2001). Acute exercise: response of HDL-C, LDL-C lipoproteins and HDL-C subfractions levels in selected sport disciplines. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 41(3), 386–391.
- Sies, H., Cadenas, E., Symons, M. C. R., & Scott, G. (1985). Oxidative Stress: Damage to Intact Cells and Organs [and Discussion]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 311(1152), 617–631.
- Sorenson, R. C., Primo-Parmo, S. L., Kuo, C. L., Adkins, S., Lockridge, O., & La Du, B. N. (1995). Reconsideration of the catalytic center and mechanism of

- mammalian paraoxonase/arylesterase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(16), 7187–7191.
- Sorenson, Robert C., Bisgaier, C. L., Aviram, M., Hsu, C., Billecke, S., & La Du, B. N. (1999). Human Serum Paraoxonase/Arylesterase's Retained Hydrophobic N-Terminal Leader Sequence Associates With HDLs by Binding Phospholipids. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 19(9), 2214–2225.
- Stamler, J. S., & Meissner, G. (2001). Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiological Reviews*, 81(1), 209–237.
- Stuehr, D. J., Santolini, J., Wang, Z.-Q., Wei, C.-C., & Adak, S. (2004). Update on Mechanism and Catalytic Regulation in the NO Synthases. *Journal of Biological Chemistry*, 279(35), 36167–36170.
- Superko, H R. (1991). Exercise Training, Serum-Lipids, and Lipoprotein Particles - Is There a Change Threshold. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 23(6), 677–685.
- Superko, H Robert, Pendyala, L., Williams, P. T., Momary, K. M., King, S. B., & Garrett, B. C. (2012). High-density lipoprotein subclasses and their relationship to cardiovascular disease. *Journal of Clinical Lipidology*, 6(6), 496–523.
- Thompson, G. R. (1990). *Hiperlipidemi el kitabı*. Uycan Yayınlar AŞ İstanbul.
- Timbrell, J. A. (2002). *Introduction to toxicology* (Thirt).
- Tomás, M., Elosua, R., Sentí, M., Molina, L., Vila, J., Anglada, R., ... Marrugat, J. (2002). Paraoxonase1-192 polymorphism modulates the effects of regular and acute exercise on paraoxonase1 activity. *Journal of Lipid Research*, 43(5), 713–720.
- Turgay, F., İşlekel, H., & Halil, H. (2011). Düzenli Egzersizin Kan Paraoksonaz Ve Aril Esteraz Aktiviteleri Üzerine Etkileri Ve Paraoksonaz 1-192 Polimorfizmi İle İlişkisi. *Spor Hekimliği Dergisi*, 46(1), 11–20.
- Turgay, F., İşlekel, H., Karamızrak, S. O., Yenisey, Ç., Kocahan, T., & Selamoğlu, S. (2006). Orta Yaşlı Erkeklerde İki Farklı Sağlıklı Yaşam Sporunun Serum Nitrik Oksit Düzeyleri Üzerine Etkileri. *Spor Hekimliği Dergisi*, 41(4), 105–112.
- Turgay, F., Karamızrak, S. O., İşleğen, Ç., Sessiz, H., & Acarbay, Ş. (2002). Aerobik ve anaerobik eşik hızlarında yapılan iki değişik egzersizin kan lipid ve lipoproteinleri üzerine etkisi. *Ege Üniversitesi Spor Hekimliği Dergisi*, 37(1), 7–

8.

- Turgay, F., Şişman, A. R., & Aksu, A. Ç. (2015). Effects of anaerobic training on paraoxonase-1 enzyme (PON1) activities of high density lipoprotein subgroups and its relationship with PON1-Q192R phenotype. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 22(3), 313–326.
- Wakayoshi, K., Ikuta, K., Yoshida, T., Udo, M., Moritani, T., Mutoh, Y., & Miyashita, M. (1992). Determination and validity of critical velocity as an index of swimming performance in the competitive swimmer. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 64(2), 153–157.
- Walker, C. H., & Mackness, M. I. (1987). “A” esterases and their role in regulating the toxicity of organophosphates. *Archives of Toxicology*, Vol. 60, pp. 30–33.
- Wang, W., Hein, T. W., Zhang, C., Zawieja, D. C., Liao, J. C., & Kuo, L. (2011). Oxidized low-density lipoprotein inhibits nitric oxide-mediated coronary arteriolar dilation by up-regulating endothelial arginase I. *Microcirculation*, 18(1), 36–45.

Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi

T.C. EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU					
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR Tel: 0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34 e-mail: aetikk@mail.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr					
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ					
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Uzun Süreli Sualtı Ragbi Antrenmanlarının Serum Paraoksonaz Enzimleri Üzerine Etkileri ve PON1 ve PON2 Polimorfizminin Rolü			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Faruk TURGAY			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	E.Ü Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	Ebiltem / Diakim Diagnostik Ürünler San. Ve Tic. Ltd. Şti.			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 <input type="checkbox"/>	FAZ 2 <input type="checkbox"/>	FAZ 3 <input type="checkbox"/>	FAZ 4 <input type="checkbox"/>
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Gözlemsel İlaç Çalışması <input type="checkbox"/>		Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması <input type="checkbox"/>		
	İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları İle Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları <input type="checkbox"/>		İlaç Dışı Klinik Araştırma <input checked="" type="checkbox"/>		
Diğer ise belirtiniz					
TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>		ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	01.03.2017	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama			
	SİGORTA Poliçe Süresi / Poliçe Nu	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>	İmza Tarihi:		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>			
	İLAN	<input type="checkbox"/>			
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>			
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>			
DİĞER:	<input type="checkbox"/>				
03.03.2017 tarihli Etik Kurul Bilgilendirme Formu ile başvurusu yapılan bildirim.					
KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 17-3.1/21	Tarih: 21.03.2017			
	Kurulumuzdan 03.04.2014 tarih ve 14-4/17 numaralı karar ile onayı alınan ve yukarıda adı verilen çalışmaya ilişkin Araştırma Protokolü Değişikliğinin uygunluğuna oy birliği ile karar verilmiştir.				
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU					
ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Ayşenur OKTAY				
 ASLI GİBİDİR Sumru ÇESMEOĞLU EÜTF Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Sekreteri					
Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA 	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 1/2



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 17-3.1/21				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ayşenur OKTAY Başkan	Radyodiagnostik	EÜ. Tıp Fakültesi Radyoloji AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Aytül ÖNAL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Suna TOKSAVUL Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Sarenur GÖKBEN Üye	Çocuk Nörolojisi	EÜ. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Abdullah SAYINER Üye	Göğüs Hastalıkları	EÜ. Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Süheyla ALTUĞ ÖZSOY Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	EÜ. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyofizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E. Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Doç. Dr. Ayşe EROL Üye	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yard. Doç. Dr. Gülsün AYGÖRMEZ UĞURLUBAY Üye	Ceza Hukuku	Serbest	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Üye	Eczacı	E.U. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Uzm. Dr. Özlem EKER Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Serbest	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

ASLI GİBİDİR
Sumru ERGİL
EÜTF Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Sekreteri

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA 	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 2/2
--	----------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------

Ek 2. Gönüllü Onam Formu (Çocuklar için)

Araştırmanın Adı: Uzun süreli Sualtı Ragbi antrenmanlarının serum paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 17) (Çocuklar için)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Koroner kalp hastalığı (KKH) dünyada ve ülkemizde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Pasif yaşam biçimi, obezite, sigara alışkanlığı, hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabet ve genetik yatkınlık gibi klasik risk faktörlerinin yanı sıra, çoğu yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)'in yapısında yer alan ve KKH'ı engelleyen paraoksonaz isimli bir enzim ailesi [PON1, PON2 ve PON3] mevcuttur. Bu hastalıktan koruyucu bir diğer madde de kas dahil birçok dokudan salınan nitrik oksit (NO)'dir. NO damarlarımızı korur ve egzersiz yaparken onların genişlemesini sağlayarak kan akımımızı artırır. NO'nun hipoksik koşullarda arttığı belirtilmektedir, ancak uzun süreli hipoksik özellikteki sualtı ragbi antrenmanlarının uzun süreli etkileri belirsizdir. Egzersiz yaparken artan enerji ihtiyacını karşılamak için çok fazla oksijen kullanılır. Ancak bu esnada oksidan ismi verilen ve hücremizin bütünlüğünü bozan bazı maddeler de üretilir. Bu maddeler aşırı bir seviyeye ulaştınca iyi ve kötü huylu kolesterolümüzün yapısını bozar onu oksidasyona uğratarak damarlarımızın iç cidarını bozan ve orada kolesterolün çok fazla birikmesine neden olacak bir çevre oluşturur. Aerobik egzersizlerin bu durumu tersine çevirdiği, iyi huylu kolesterolü attırdığı ve KKH'dan koruduğu belirtilen paraoksonaz 1 enzimlerinin aktivitesini de artırdığı bulunmuştur. Ancak Sualtı Ragbi gibi fazlaca hipoksik (oksijen almamızı kısıtlayan) fazlaca yoğun egzersizlerin bu enzimler üzerindeki etkileri belirsizdir. Ayrıca bu enzimlerin yapısında bazı etkilerle oluşan genetik bozukluklara polimorfizm ismi verilmektedir. Belirtilen polimorfizm diğer nesillere genetik olarak taşınmaktadır. Bazı genetik gruplar KKH'a daha yatkın olurken bazılarının ise daha dirençli oldukları gözlenmiştir. NO için de aşağıda belirtilen polimorfizmin benzer özelliklerinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bazı çalışmalarda egzersizlerden görülen yararların da bu genetik farklılıklara göre değişiklik gösterdiği bulunmuştur. Ancak sizin yaptığınız bu sporda bu belirtilen etkiler ve bu olası etkilerde belirtilen polimorfizmlerin rolü henüz aydınlatılmış değildir. Spor yapmayan kişiler de sahip oldukları paraoksonaz enzim ve NO polimorfizmlerine göre KKH için hangi gruba girdikleri ve egzersiz yaptıklarında nasıl bir yarar görebilecekleri şeklindeki sorulara cevap bulabileceklerdir. Ayrıca kan şekerinizi, yağlarınızı, iyi ve kötü huylu kolesterolünüz dahil birçok kan tahlilinizi de öğrenmiş olacaksınız.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Gönüllüler, düzenli sigara, alkol, herhangi bir ilaç ve antioksidan maddeyi düzenli olarak kullanmayan, anemi (kansızlık olarak da bilinen, kanda alyuvar, hemoglobin veya ikisinin birden eksikliğine bağlı olarak gelişen bir durum), enfeksiyon, obezite (şişmanlık) ya da herhangi bir kronik (uzun zaman boyunca süren) hastalığı ya da sakatlığı bulunmayan, 16-40 yaş arasında, 20-40 sualtı ragbi oyuncusu ve aynı sayıda spor yapmayan (sedanter) kişiler bu gruba seçileceklerdir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Gönüllüler önce tıbbi muayeneleri yapıp boy, kilo ve vücut kitlesi belirlenecektir. Araştırmanın toplam süresi 18 aydır. Çalışmaya kabul edilecek katılımcılar, herhangi bir hastalığı veya sakatlığı olmayan, herhangi bir ilacı veya antioksidan bir maddeyi düzenli olarak kullanmayan ve obez olmayan (vücut kitle indeksi (VKİ) <30 olması), en az 3-4 aydır düzenli olarak antrenmanlarını yapan 16-40 yaş arası antrene erkek Sualtı Ragbi oyuncusu (Sporcu grubu) ve benzer sayı ve özelliklerde düzenli olarak en az 3-4 aydır egzersiz yapmayan sağlıklı erkeklerden (Kontrol grubu) oluşturulacaktır. Bu çalışmaya katılacak sağlıklı yaklaşık 50-80 kişinin seçimi için yaklaşık 100 kişinin önce tıbbi muayeneleri yapıp bazı biyokimyasal parametrelerine bakılarak, boy, kilo ve VKİ belirlenecektir. Sağlıklı olduğu ve kriterlerimize uyduğu belirlenen kişiler çalışmaya dahil edilecektir.

Tarih/ Versiyon:

İlaç Dışı Çalışmalar için Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EUTF00	1/4

Araştırmanın Adı: Uzun süreli Sualtı Ragbi antrenmanlarının serum paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü

Yapılacak Diğer Fizyolojik Testler: Sporcu ve kontrol gruplarında, aerobik dayanıklılık kapasitesinin kriteri olarak kullanılan kritik hız (KH) belirlenecektir. Sporcularda KH'in ölçülmesi; 2 gün arayla yapılan maksimal 50m ve 100m serbest yüzme zamanları kullanılarak $KH_{yüzme} = (100-50)/(100T-50T)$. Kontrol grubunda ise: iki gün arayla yapılan maksimal 50m ve 100m serbest yüzme zamanları temel alınarak hesaplanacaktır. $KH_{kontrol} = (100-50)/(100T-50T)$, sonuçlar m/sn olarak verilecektir (T=zaman,s)

Tıbbi muayenelerin yapılması ve boy, kilo, VKI ölçümü 1 günde toplam 2 saat zamanınızı alacaktır. Diğer bir gün kritik hızı belirlemek amacıyla havuzda 50 m maksimal serbest stil yüzme ve yine aynı amaçla 2 gün sonra 100 m maksimal serbest stil yüzme yapılacak olup bu testlerin her birinde bu yerde geçireceğiniz zaman ısınma, teste katılma ve soğuma egzersizi olmak üzere 2 saattir. Kısaca kritik hız ölçümü için geçireceğiniz toplam zaman miktarı 4 saattir. Bu testlerden 3 gün sonra biyokimyasal ölçümler için hemşirelerce venöz kan alımı için laboratuvara gelecek ve kan vereceksiniz. Burada kan alımı için geçecek toplam süre 30 dakikadır. Bu çalışmaya katılmayı kabul ettiğinizde toplam 4 farklı günde ziyaretiniz esnasında geçecek toplam zaman süresi 6,5 saat'tir.

Yapılacak Testler/Laboratuvar Tetkikleri :

Kan Numunelerinin Alınması, Saklanması ve Analizleri:

Yukarıdaki testlerden en az 3 gün sonra katılımcılardan sabah 7:00 de kahvaltı yapmaları ve 9:30-10:00 arasında kol venasından kan vermek üzere laboratuvara gelmeleri istenecektir. Gönüllülerden soğutulmuş, vakumlu, biri mor kapaklı EDTA'lı 2 tüpe toplam 7,5 mL, diğeri 9 ml kırmızı kapaklı boş tüpe alınan venöz kanlardan sağlık kontrolleri ve araştırma amacıyla aşağıda belirtilen parametreler bakılacaktır.

Alınan düz kan örnekleri 20 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000g'de 15 dk santrifüjlenerek serumları ayrılacaktır. Serum numuneleri analizler yapılincaya kadar derin dondurucuda (-20°C'de) saklanacaktır. Analizler bir ay içerisinde gerçekleştirilecektir. EDTA'lı 1. tüpteki kan Tiobarbitrik asid ile reaksiyon veren maddeler (TBARS), aynı gün içerisinde hemogram, diğer EDTA'lı tüpteki kan ise paraoksonaz ve eNOS3 polimorfizmleri belirlemede kullanılacaktır. Serum numunelerinden: PON1, TSPON1 ve AREST aktiviteleri ve PON1, PON2, PON3 ve okside LDL ve NO düzeyleri ve ayrıca sağlık kontrolü amacıyla: Hemogram, biyokimyasal parametreleri; kreatinin, total kolesterol (T-K), yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K), düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K), trigliserid (TG) düzeyleri, alanin amino transferaz (ALT) ve aspartat amino transferaz (AST) aktivitesi ölçümleri bir ay içerisinde hizmet alımı şeklinde özel bir laboratuvar da bir otoanalizörde gerçekleştirilecektir.

PON1-Q192R, PON1-L55M-55, PON2-A148G, PON2-S311C ve eNOS3 intron 4a/b polimorfizmleri: Örneklerden; Hemogram tüplerine alınan EDTA'lı kandan tuzla çöktürme yöntemi ile DNA izolasyonları yapılacak. Daha sonra bu verilere göre belirtilen paraoksonaz ve anoa polimorfizmleri DEÜ-Tıp fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD'de gerçekleştirilecektir.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma kapsamındaki ölçüm ve testlere dinlenmiş olarak gelmek, en az 3 saat önce yemek yemiş olmak, son üç gün fast food tarzı besinlerle, alkol, sigara, antioksidan madde ya da diğer ilaçlardan kesinlikle kullanmamak sizin sorumluluğunuzdur. Bu koşullara uymadığınız durumlarda araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 50-80 kişidir.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre yaklaşık 4-6 saat'tir.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Gerçekleştirilen ölçümler bir sualtı ragbi maçının temel fizyolojik gereksinimleri hakkında bilgiler elde edilecektir. Kan analizleri ve polimorfizm bilgileri KKH için herhangi bir riske sahip olup olmadığınız, size uygulanan sualtı ragbi antrenmanlarının uzun dönemde sizde KKH için bir risk yaratıp yaratmadığı hakkında bilgi verecektir. Bu çalışma sonuçları; bu spor dalında KKH için ve performansınız için daha yararlı antrenman yöntemleri ve planlarının yapılmasına katkıda bulunacaktır.

Tarih/ Versiyon:

İlaç Dışı Çalışmalar için Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EUTF0 0	2/4

Araştırmanın Adı: Uzun süreli Sualtı Ragbi antrenmanlarının serum paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü
ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında nadiren bayılma, kan alınan yerlerde ağrı ve/veya morama sayılabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİLEN İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

Çalışma süresince fast food tarzı besinlerle, alkol, sigara, antioksidan madde ya da diğer ilaçlar kesinlikle kullanılmamalıdır.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

1. Araştırma kapsamında yapılacak çalışmaların tamamına katılmıyor olmak
2. Test ve ölçümler için gerekli protokollere uyum sağlayamamak
3. Ölçümler sırasında hastalanmak veya sakatlanmak
4. Alınan kan örneklerinden yapılan biyokimyasal analizlerin sonuçlarının belirlenen aralıkların dışında çıkması

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?

Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu olduğunda ortaya çıkan masraflar araştırmacılar tarafından karşılanacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Uygulama süresi boyunca, zorunlu olarak araştırma dışı ilaç almak durumunda kaldığınızda Sorumlu Araştırmacıyı önceden bilgilendirmek için, araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için için (+90) 5324130420 no.lu telefondan Dr. Mesut Nalçakan'a ve (+90) 5385260425 no.lu telefondan da Yrd. Doç. Dr. Faruk TURGAY'a başvurabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir. Giderler araştırmacılar tarafından ve daha önce gerçekleştirilmiş araştırma projelerinden kalan malzemelerden sağlanacaktır.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR?

Ege Üniversitesi EBİLTEM'e başvurulacaktır. Ayrıca dışarıdan bir özel şirket destekte bulunacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır. Araştırmacı, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle isteğiniz dışında ancak bilginiz dahilinde sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu durumda da sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Tarih/ Versiyon:

Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Form 17	03.11.2010/EUTF00
		3/4

Araştırmanın Adı: Uzun süreli Sualtı Ragbi antrenmanlarının serum paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 4 sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasiinin		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Faruk Turgay	
TARİH		

GEREKİTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI	Oya Yiğittürk	
GÖREVİ		
TARİH		

Tarih/ Versiyon:

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EUTF00	4/4

Ek 3. Gönüllü Onam Formu (yetişkinler için)

Araştırmanın Adı: Uzun süreli Sualtı Ragbi antrenmanlarının serum paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 17) (Yetişkinler için)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Koroner kalp hastalığı (KKH) dünyada ve ülkemizde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Pasif yaşam biçimi, obezite, sigara alışkanlığı, hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabet ve genetik yatkınlık gibi klasik risk faktörlerinin yanı sıra, çoğu yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)'in yapısında yer alan ve KKH'ı engelleyen paraoksonaz isimli bir enzim ailesi [PON1, PON2 ve PON3] mevcuttur. Bu hastalıktan koruyucu bir diğer madde de kas dahil birçok dokudan salınan nitrik oksit (NO)'dir. NO damarlarımızı korur ve egzersiz yaparken onların genişlemesini sağlayarak kan akımımızı artırır. NO'nun hipoksik koşullarda arttığı belirtilmektedir, ancak uzun süreli hipoksik özellikteki sualtı ragbi antrenmanlarının uzun süreli etkileri belirsizdir. Egzersiz yaparken artan enerji ihtiyacını karşılamak için çok fazla oksijen kullanılır. Ancak bu esnada oksidan ismi verilen ve hücremizin bütünlüğünü bozan bazı maddeler de üretilir. Bu maddeler aşırı bir seviyeye ulaştığında iyi ve kötü huylu kolesterolümüzün yapısını bozar onu oksidasyona uğratarak damarlarımızın iç cidarını bozan ve orada kolesterolün çok fazla birikmesine neden olacak bir çevre oluşturur. Aerobik egzersizlerin bu durumu tersine çevirdiği, iyi huylu kolesterolü artırdığı ve KKH'dan koruduğu belirtilen paraoksonaz 1 enzimlerinin aktivitesini de artırdığı bulunmuştur. Ancak Sualtı Ragbi gibi fazlaca hipoksik (oksijen almamızı kısıtlayan) fazlaca yoğun egzersizlerin bu enzimler üzerindeki etkileri belirsizdir. Ayrıca bu enzimlerin yapısında bazı etkilerle oluşan genetik bozukluklara polimorfizm ismi verilmektedir. Belirtilen polimorfizm diğer nesillere genetik olarak taşınmaktadır. Bazı genetik gruplar KKH'a daha yatkın olurken bazılarının ise daha dirençli oldukları gözlenmiştir. NO için de aşağıda belirtilen polimorfizmin benzer özelliklerinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bazı çalışmalarda egzersizlerden görülen yararların da bu genetik farklılıklara göre değişiklik gösterdiği bulunmuştur. Ancak sizin yaptığınız bu sporda bu belirtilen etkiler ve bu olası etkilerde belirtilen polimorfizmlerin rolü henüz aydınlatılmıştır. Spor yapmayan kişiler de sahip oldukları paraoksonaz enzim ve NO polimorfizmlerine göre KKH için hangi gruba girdikleri ve egzersiz yaptıklarında nasıl bir yarar görebilecekleri şeklindeki sorulara cevap bulabileceklerdir. Ayrıca kan şekerinizi, yağlarınızı, iyi ve kötü huylu kolesterolünüz dahil birçok kan tahlilinizi de öğrenmiş olacaksınız.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Gönüllüler, düzenli sigara, alkol, herhangi bir ilaç ve antioksidan maddeyi düzenli olarak kullanmayan, anemi (kansızlık olarak da bilinen, kanda alyuvar, hemoglobin veya ikisinin birden eksikliğine bağlı olarak gelişen bir durum), enfeksiyon, obezite (şişmanlık) ya da herhangi bir kronik (uzun zaman boyunca süren) hastalığı ya da sakatlığı bulunmayan, 18-40 yaş arasında, 20-40 sualtı ragbi oyuncusu ve aynı sayıda spor yapmayan (sedanter) kişiler bu gruba seçileceklerdir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Gönüllüler önce tıbbi muayeneleri yapıp boy, kilo ve vücut kitlesi belirlenecektir. Araştırmanın toplam süresi 18 aydır. Çalışmaya kabul edilecek katılımcılar, herhangi bir hastalığı veya sakatlığı olmayan, herhangi bir ilacı veya antioksidan bir maddeyi düzenli olarak kullanmayan ve obez olmayan (vücut kitle indeksi (VKİ) <30 olması), en az 3-4 aydır düzenli olarak antrenmanlarını yapan 18-40 yaş arası antrene erkek Sualtı Ragbi oyuncusu (Sporcu grubu) ve benzer sayı ve özelliklerde düzenli olarak en az 3-4 aydır egzersiz yapmayan sağlıklı erkeklerden (Kontrol grubu) oluşturulacaktır. Bu çalışmaya katılacak sağlıklı yaklaşık 50-80 kişinin seçimi için yaklaşık 100 kişinin önce tıbbi muayeneleri yapıp bazı biyokimyasal parametrelerine bakılarak, boy, kilo ve VKİ belirlenecektir. Sağlıklı olduğu ve kriterlerimize uyduğu belirlenen kişiler çalışmaya dahil edilecektir.

Tarih/ Versiyon:

Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su.	Sayfa
İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Form 17	03.11.2010/EUTF0 0	1/4

Araştırmanın Adı: Uzun süreli Sualtı Ragbi antrenmanlarının serum paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü

Yapılacak Diğer Fizyolojik Testler: Sporcu ve kontrol gruplarında, aerobik dayanıklılık kapasitesinin kriteri olarak kullanılan kritik hız (KH) belirlenecektir. Sporcularda KH'nin ölçülmesi; 2 gün arayla yapılan maksimal 50m ve 100m serbest yüzme zamanları kullanılarak $KH_{yüzme} = (100-50)/(100T-50T)$. Kontrol grubunda ise: iki gün arayla yapılan maksimal 50m ve 100m serbest yüzme zamanları temel alınarak hesaplanacaktır. $KH_{kontrol} = (100-50)/(100T-50T)$, sonuçlar m/sn olarak verilecektir (T=zaman,s)

Tıbbi muayenelerin yapılması ve boy, kilo, VKI ölçümü 1 günde toplam 2 saat zamanınızı alacaktır. Diğer bir gün kritik hızı belirlemek amacıyla havuzda 50 m maksimal serbest stil yüzme ve yine aynı amaçla 2 gün sonra 100 m maksimal serbest stil yüzme yapılacak olup bu testlerin her birinde bu yerde geçireceğiniz zaman ısınma, teste katılma ve soğuma egzersizi olmak üzere 2 saattir. Kısaca kritik hız ölçümü için geçireceğiniz toplam zaman miktarı 4 saattir. Bu testlerden 3 gün sonra biyokimyasal ölçümler için hemşirelerce venöz kan alımı için laboratuvara gelecek ve kan vereceksiniz. Burada kan alımı için geçecek toplam süre 30 dakikadır. Bu çalışmaya katılmayı kabul ettiğinizde toplam 4 farklı günde ziyaretiniz esnasında geçecek toplam zaman süresi 6,5 saattir.

Yapılacak Testler/Laboratuvar Tetkikleri :

Kan Numunelerinin Alınması, Saklanması ve Analizleri:

Yukarıdaki testlerden en az 3 gün sonra katılımcılardan sabah 7:00 de kahvaltı yapmaları ve 9.30-10.00 arasında kol venasından kan vermek üzere laboratuvara gelmeleri istenecektir. Gönüllülerden soğutulmuş, vakumlu, biri mor kapaklı EDTA'lı 2 tüpe toplam 7,5 mL, diğeri 9 ml kırmızı kapaklı boş tüpe alınan venöz kanlardan sağlık kontrolleri ve araştırma amacıyla aşağıda belirtilen parametreler bakılacaktır.

Alınan düz kan örnekleri 20 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000g'de 15 dk santrifüjlenerek serumları ayrılacaktır. Serum numuneleri analizler yapılincaya kadar derin dondurucuda (-20°C'de) saklanacaktır. Analizler bir ay içerisinde gerçekleştirilecektir. EDTA'lı 1. tüpteki kan Tiobarbitrik asid ile reaksiyon veren maddeler (TBARS), aynı gün içerisinde hemogram, diğer EDTA'lı tüpteki kan ise paraoksonaz ve eNOS3 polimorfizmleri belirlemede kullanılacaktır. Serum numunelerinden: PON1, TSPON1 ve AREST aktiviteleri ve PON1, PON2, PON3 ve okside LDL ve NO düzeyleri ve ayrıca sağlık kontrolü amacıyla: Hemogram, biyokimyasal parametreleri; kreatinin, total kolesterol (T-K), yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K), düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K), trigliserid (TG) düzeyleri, alanin amino transferaz (ALT) ve aspartat amino transferaz (AST) aktivitesi ölçümleri bir ay içerisinde hizmet alımı şeklinde özel bir laboratuvar da bir otoanalizörde gerçekleştirilecektir.

PON1-Q192R, PON1-L55M-55, PON2-A148G, PON2-S311C ve eNOS3 intron 4a/b polimorfizmleri: Örneklerden; Hemogram tüplerine alınan EDTA'lı kandan tuzla çöktürme yöntemi ile DNA izolasyonu yapılacak. Daha sonra bu verilere göre belirtilen paraoksonaz ve anoa polimorfizmleri DEÜ-Tıp fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD'de gerçekleştirilecektir.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma kapsamındaki ölçüm ve testlere dinlenmiş olarak gelmek, en az 3 saat önce yemek yemiş olmak, son üç gün fast food tarzı besinlerle, alkol, sigara, antioksidan madde ya da diğer ilaçlardan kesinlikle kullanmamak sizin sorumluluğunuzdur. Bu koşullara uymadığınız durumlarda araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 50-80 kişidir.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre yaklaşık 4-6 saattir.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Gerçekleştirilen ölçümler bir sualtı ragbi maçının temel fizyolojik gereksinimleri hakkında bilgiler elde edilecektir. Kan analizleri ve polimorfizm bilgileri KKH için herhangi bir riske sahip olup olmadığınız, size uygulanan sualtı ragbi antrenmanlarının uzun dönemde sizde KKH için bir risk yaratıp yaratmadığı hakkında bilgi verecektir. Bu çalışma sonuçları; bu spor dalında KKH için ve performansınız için daha yararlı antrenman yöntemleri ve planlarının yapılmasına katkıda bulunacaktır.

Tarih/ Versiyon:

Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa	
İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Form 17	03.11.2010/EUTF0 0	2/4

Araştırmanın Adı: Uzun süreli Sualtı Ragbi antrenmanlarının serum paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında nadiren bayılma, kan alınan yerlerde ağrı ve/veya morarma sayılabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİLEN İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

Çalışma süresince fast food tarzı besinlerle, alkol, sigara, antioksidan madde ya da diğer ilaçlar kesinlikle kullanılmamalıdır.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

1. Araştırma kapsamında yapılacak çalışmaların tamamına katılmıyor olmak
2. Test ve ölçümler için gerekli protokollere uyum sağlayamamak
3. Ölçümler sırasında hastalanmak veya sakatlanmak
4. Alınan kan örneklerinden yapılan biyokimyasal analizlerin sonuçlarının belirlenen aralıkların dışında çıkması

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?

Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu olduğunda ortaya çıkan masraflar araştırmacılar tarafından karşılanacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Uygulama süresi boyunca, zorunlu olarak araştırma dışı ilaç almak durumunda kaldığınızda Sorumlu Araştırmacıyı önceden bilgilendirmek için, araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için için (+90) 5324130420 no.lu telefondan Dr. Mesut Nalçakan'a ve (+90) 5385260425 no.lu telefondan da Yrd. Doç. Dr. Faruk TURGAY'a başvurabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir. Giderler araştırmacılar tarafından ve daha önce gerçekleştirilmiş araştırma projelerinden kalan malzemelerden sağlanacaktır.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR?

Ege Üniversitesi EBİLTEM'e başvurulacaktır. Ayrıca dışarıdan bir özel şirket destekte bulunacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır. Araştırmacı, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle isteğiniz dışında ancak bilginiz dahilinde sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu durumda da sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MIDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Tarih/ Versiyon:

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EUTF0 0	3/4

Araştırmanın Adı: Uzun süreli Sualtı Ragbi antrenmanlarının serum paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 4 sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Faruk Turgay	
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI	Oya Yiğittürk	
GÖREVİ		
TARİH		

Tarih/ Versiyon:

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EUTF0 0	4/4

Ek 4. Olgu Rapor Formu

Uzun süreli Sualtı Ragbi antrenmanlarının serum paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü	Tarih 28.06.2016	Belge Kodu Olgu rapor formu	Rev. Tarihi / No.su: 03.11.2010/05	Sayfa 1/1
---	---------------------	--------------------------------	---------------------------------------	--------------

Uzun süreli Sualtı Ragbi antrenmanlarının serum Paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü

GÖNÜLLÜ 1

Adı/Soyadı:	Not
Yaş (Yıl):	
Boy (cm):	
Vücut Ağırlığı (kg):	
Vücut Kütle İndeksi (kg/m ²):	
Spor geçmişi (yıl):	
Kritik Yüzme Hızı (m/sn):	

GÖNÜLLÜ (1):	Tokluk Kan Değeri	TARİH
Eritrosit (milyon/mm ³)		
Hematokrit (%)		
Hemoglobin (g/dL)		
Ortalama eritrosit hacmi (fL)		
Trombosit (10 ³ /mm ³)		
Lökosit (10 ³ /mm ³)		
NO (µM)		
Kreatinin (mg/dL)		
Alanin amino transferaz (ALT) (U/L)		
Aspartat amino transferaz (AST) (U/L)		
Total kolesterol (mg/dL)		
Trigliserid (mg/dL)		
HDL-kolesterol (mg/dL)		
LDL-kolesterol (mg/dL)		
Ariesteraz (AREST) aktivitesi (U/L)		
TBARS (µmol/L)		
Paraoksonaz 1 (PON1) aktivitesi (ng/mL)		
Tuzla stimüle PON1(TSPON1) aktivitesi (U/L)		
Paraoksonaz 1 (PON1) düzeyi (ng/mL)		
Paraoksonaz 2 (PON2) düzeyi (ng/mL)		
Paraoksonaz 3 (PON3) düzeyi (ng/mL)		
Okside LDL (pg/mL)		

Uzun süreli Sualtı Ragbi antrenmanlarının serum Paraoksonaz enzimleri üzerine etkileri ve PON1 ve PON2 polimorfizminin rolü	Belge Kodu Olgu rapor formu	Rev. Tarihi / No.su: 03.11.2010/05	Sayfa 1/1
---	--------------------------------	---------------------------------------	--------------

Ek 5.EBİLTEM Proje Final Raporu Kabul Yazısı

Ege Ün. Evrak Tarih ve Sayısı: 24/11/2017-E.302841



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
BİLİM TEKNOLOJİ UYGULAMA VE ARAŞTIRMA
MERKEZİ MÜDÜRLÜĞÜ



Sayı : 78886088-604.01.02
Konu : Proje Final Raporu Kabul

Sayın Yrd. Doç. Dr. Faruk TURGAY

2014/BİL/033 no'lu projenizin kesin sonuç raporunun kabulü, Rektörlüğümüz Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun 18.09.2017 tarih ve 44 sayılı kararıyla uygun görülmüştür. Bilgilerinize arz ederim.

e-İmzadır
Doç. Dr. Serdal TEMEL
Müdür V.

T.C. Ege Üniversitesi Bilim-Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi
(EÜ EBİLTEM-TTO)
Ege Üniversitesi Kampüsü, 35100 Bornova-İZMİR
Telefon No: +90 232 343 44 00/1877-1871 Faks No: +90 232 374 42 89
E-Posta: ebiltem@biltem.ege.edu.tr İnternet Adresi: ebiltem.ege.edu.tr

Bilgi İçin: Furda Kocua

Uzman:
Telefon No: 0 232 343 44 00/12

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Teşekkür

Doktora eğitimimde ve tez çalışmamın tüm sürecinde bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendirerek çok önemli katkılar sağlayan, ilgi, anlayış ve hoşgörüsü ile daima desteğini gördüğüm tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Faruk TURGAY'a,
Çalışmamın istatistiksel değerlendirmesinde desteklerini gördüğüm Doç. Dr. Ekim PEKÜNLÜ ve Arş. Gör. Yasin YÜZBAŞIOĞLU'na,
Katılımları için Ege Üniversitesi Sualtı Ragbi Takımı, İzmir Büyükşehir Belediyesi Sualtı Ragbi Takımı ve Ege Sualtı Ragbi Takımı'na,
Tez çalışmam boyunca her türlü desteği sağlayan Arş. Gör. Dr. Görkem Aybars BALCI ve doktora öğrencisi Hasanagha MAYILOV'a,
Tez çalışma sürecinde manevi desteklerini benden esirgemeyen çok değerli ailem ve her zaman yanımda olan ve sabırla destekleyen eşim Müjdat YİĞİTTÜRK'e

sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İzmir, 20.09.2019

Oya YİĞİTTÜRK

Özgeçmiş

Lisan eğitimime 2003 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya bölümünde başladım ve 2009 yılında mezun oldum. 2010 yılında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalında doktora eğitimime başladım.

e-posta: oyayigitturk@hotmail.com

