

T.C.

Ege Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Düzenli Aerobik Egzersizin Kan Nitrik Oksit ve Endotel Nitrik Oksit Sentaz Protein
Düzeyi Üzerine Etkisi ve Endotel Nitrik Oksit Sentaz İtron 4a/b Polimorfizminin
Rolü

Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Yeliz YOL UÇAR

İzmir

2018

T.C.
Ege Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Düzenli Aerobik Egzersizin Kan Nitrik Oksit ve Endotel Nitrik Oksit Sentaz Protein
Düzeyi Üzerine Etkisi ve Endotel Nitrik Oksit Sentaz İtron 4a/b Polimorfizminin
Rolü

Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Yeliz YOL UÇAR

DANIŞMAN

Doç. Dr. Faruk TURGAY

İzmir

2018

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan : Doç. Dr. Faruk TURGAY

(Danışman)

Üye : Doç. Dr. Gülbin RUDARLI NALÇAKAN

Üye : Prof. Dr. Metin SAYIN

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: 24.12.2018

Önsöz

Bu çalışmada düzenli aerobik egzersizin kan nitrik oksit ve endotel nitrik oksit sentaz protein düzeyi üzerine etkisi ve endotel nitrik oksit sentaz intron 4a/b polimorfizminin rolünü inceledim.

Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Doç. Dr. Faruk TURGAY'a

Ayrıca kıymetli zamanını benim hazırladığım bitirme projesine ayırıp değerlendirdiği için ve üniversite hayatımın bu son döneminde bana kattığı her bilgi için Doç. Dr. Gülbin RUDARLI NALÇAKAN' a

Laboratuvar ölçümlerinde, verilerin toplanmasında yardımları olan Doktora öğrencisi Oya YİĞİTTÜRK'e,

Çalışmama katılan gönüllülere,

Çalışmam boyunca manevi desteklerini benden esirgemeyen ve sabırla destekleyen, çok değerli aileme ve eşim Mert UÇAR'a

sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İzmir, 2018

Yeliz YOL UÇAR

Özet

Düzenli aerobik egzersizin kan nitrik oksit ve endotel nitrik oksit sentaz protein düzeyi üzerine etkisi ve endotel nitrik oksit sentaz intron 4a/b polimorfizminin rolünün incelenmesi

Amaç: Nitrik oksit (NO), endotel nitrik oksit sentaz protein (eNOS) düzeyi ve eNOS intron 4a/b polimorfizmi koroner kalp hastalığı risk faktörleridir. Aerobik antrenmanın NO ve eNOS üzerindeki muhtemel etkisinde eNOS intron 4a/b polimorfizminin rolü belirsizdir. Bu çalışmanın amacı; düzenli aerobik antrenmanın kan NO, endotel nitrik oksit sentaz protein (eNOS) düzeyi üzerine etkisi ve eNOS intron 4a/b polimorfizminin rolünün araştırılmasıdır.

Metot ve Yöntem: Sporcu grubu (SG) olarak, 46 antrene erkek futbol hakemi (SG) (yaş: 23,3±2,84) ve kontrol grubu (KG) olarak, 43 sedanter (yaş: 23,2±3,28)'den alınan tokluk venöz kan örneklerinden serum NO, eNOS ve oksideLDL (OksLDL) düzeyleri ELISA yöntemiyle, total antioksidan/oksidan statüsü (TAS/TOS), tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddeler (TBARS) düzeyleri spektrofotometrik olarak belirlendi. Periferik kandan alınan genomik DNA örneklerinden eNOS intron 4a/b polimorfizmi PCR-RFLP ve VNTR yöntemiyle belirlendi. Serum lipid ve lipoprotein düzeyleri ve aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin amino transferaz (ALT) enzim aktiviteleri standart enzimatik-kinetik yöntemlerle bir otoanalizörde saptandı.

Bulgular: Polimorfizm düşünülmediğinde; SG ve KG arasında NO, eNOS, TOS, TBARS, total kolesterol (TK), trigliserid (TG), yüksek ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K ve LDL-K) düzeyleri için anlamlı bir farklılık bulunmadı. Ancak SG'nin Oksidatif Stres İndeksi (OSİ; TOS/TAS oranı) ve OksLDL düzeyi KG'ninkilerden anlamlı olarak daha küçük ($p=0,011$); TAS düzeyi ise daha büyüktü ($p=0,000$). Sporcu ve kontrol genotip grupları; a taşıyıcı grubu (aT; aT=aa+ab) ve bb homozigot grubu arasında NO ve eNOS için anlamlı bir fark saptanmadı ve bu parametreler üzerinde polimorfizmin herhangi bir rolü gözlenmedi. Ancak kontrol grubunda, aT genotip grubunun eNOS değeri bb grubundan daha büyük bulundu. Ayrıca, yine kontrol grubunda bb genotip grubunun NO (%26) AST (86%) ve ALT (23%) değerleri aT taşıyıcı grubunkilerden daha büyüktü ($p>0,05$). Sporcu grubunda ise; homozigot bb grubunun NO (%29) değerleri aT grubundan daha büyük bulundu ($p>0,05$). Buna ek olarak, sporcu grubunda aT grubunun TBARS (% 18), TOS (% 16) ve AST (% 18) değerleri homozigot bb grubunkilerden daha büyüktü.

Sonuçlar: Bu bulgular aerobik egzersizin; antioksidan kapasiteyi arttırdığını ve OksLDL düzeyini düşürdüğünü, kan NO ve eNOS düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmadığını ve eNOS intron 4a/b polimorfizminin bu sonuçlar üzerinde anlamlı bir rolü olmadığını gösterir. Kontrol genotip grupları arasında serum eNOS ve NO değerleri arasındaki farklılıklarda belirtilen polimorfizmin rolü olabilir. Aerobik egzersizin kan lipid ve lipoprotein düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Aerobik egzersiz; endotelial nitrik oksit intron 4a/b polimorfizmi; futbol hakemi; nitrik oksit; oksidatif stres



Abstract

The effects of regular aerobic exercise on blood nitric oxide and endothelial nitric oxide synthase protein levels and the role of endothelial nitric oxide synthase intron 4a/b polymorphism

Introduction: Nitric oxide (NO), endothelial nitric oxide synthase protein (eNOS) levels and eNOS intron 4a / b polymorphism are risk factors for coronary artery diseases. Effects of aerobic exercise on NO and eNOS and the role of eNOS intron 4a/b polymorphism is unclear. The aim of this study is to investigate the effect of regular aerobic exercise on blood NO, endothelial nitric oxide synthase protein (eNOS) level and the role of eNOS intron 4a / b polymorphism.

Methods: 46 well trained male soccer referee as athletic group (AG; 23,3±2,84 age) and 43 sedentary male as control group (CG; 23,2±3,28 age) participated in this study. Post prandial blood samples is used to determine NO, eNOS and oxidized LDL (OxLDL) levels measured by ELISA and total antioxidant / oxidant status (TAS / TOS), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels determined by spectrophotometrically. eNOS intron 4a / b polymorphism was determined by PCR-RFLP and VNTR method from genomic DNA samples taken from peripheral blood. Serum lipid and lipoprotein levels and aspartate aminotransferase (AST) and alanine amino transferase (ALT) enzyme activities were determined by standard enzymatic-kinetic methods in an autoanalyzer.

Results: When polymorphism is not considered; no significant difference is found between AG and CG for NO, eNOS, TOS, TBARS, total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high and low density lipoprotein cholesterol (HDL-C and LDL-C) levels. However, the OxLDL and oxidative stress index (OSI; TOS/TAS ration) levels of the athletes group are significantly lower than the control group ($p = 0.011$) whereas TAS level is greater ($p = 0,000$).

When athletic and control genotype groups considered; there was no difference for NO and eNOS between the carrier group (Ac = aa+ab,) and the b homozygous group (bb), and the role of polymorphism is not found on the results. In control genotype group, the eNOS value of the aT genotype group was found to be greater than the bb group. In addition, NO (26%), AST (86%) and ALT (23%) values of the bb genotype group in the control group were greater than the aT carrier group ($p > 0.05$). In athletic group, NO (29%) values of the homozygote bb group were higher than the aT group. In

addition, TBARS (18%), TOS (16%) and AST (18%) values of the aT group in the athletic group were greater than the homozygote bb group.

Conclusions: These findings suggest that regular aerobic exercise increased antioxidant capacity and decreased the level of OksLDL, however, this exercise does not have a significant effect on blood NO and eNOS levels, but also shows that eNOS intron 4a / b polymorphism has no significant role on these results. The differences between serum eNOS and NO values in control genotype groups may have been due to the mentioned polymorphism. In addition, it maybe said that the aerobic training has no significant effect on blood lipid and lipoprotein levels.

Keywords: Aerobic exercise; endothelial nitric oxide intron 4a/b polymorphism; nitric oxide; oxidative stress; soccer referee

İçindekiler

Tablo Listesi	VII
Şekil Listesi	VIII
Kısaltmalar	VIII
1. Giriş	1
1.1 Araştırmanın Konusu	1
1.2 Araştırmanın Problemi	2
1.3 Araştırmanın Sorusu	3
1.4 Araştırmanın Hipotezleri	3
1.5 Araştırmanın Varsayımları	3
1.6 Araştırmanın Sınırlılıkları	3
1.7 Araştırmanın Tanımları	3
1.8 Araştırmanın Amacı	4
2. Genel Bilgiler	5
2.1 Nitrik Oksit (NO)' in Yapısı, Sentezi ve Fonksiyonu	5
2.2. NO Polimorfizmi	6
2.3. Nitrik Oksit (NO) ve Egzersiz ile İlişkisi	6
2.4 Aerobik Egzersiz	7
2.5 Oksidatif Stres	7
2.5.1 Serbest Radikaller	8
2.5.2 Antioksidanlar	9
3. Gereç ve Yöntem	11
3.1 Araştırmanın Tipi	11
3.2 Araç ve Gereçler	11
3.2.1 Biyokimya Analizlerinde Kullanılan Cihazlar	11
3.2.2 Biyokimya Analizlerinde Kullanılan Kitler ve Maddeler	12
3.3 Yöntem	12
3.3.1 Örneklemenin Seçimi	12
3.3.2 Yapılan Testler	13
3.3.2.1 Fiziksel Ölçüm Yöntemleri	13
3.3.2.2 Fizyolojik Ölçümler	13
3.3.3 Kan Numunelerinin Alınması, Saklanması ve Analizleri	13
3.3.3.1 Hemogram Analizi	13

3.3.3.2	Serum Nitrik Oksit (NO) ve eNOS Analizi	14
3.3.3.3	Endotel Nitrik Oksit Sentaz İtron 4a/b Polimorfizm Analizi	14
3.3.4	Biyokimyasal Analizler	15
3.3.4.1	Total Antioksidan Statülerinin (TAS) Belirlenmesi	15
3.3.4.2	Total Oksidan Statülerinin (TOS) Belirlenmesi	15
3.3.4.3	Tiyobarbütirik Asit ile Reaksiyona Giren Maddeler(TBARS) Ölçümü	15
3.3.5	Verilerin İstatiksel Analizi	16
4.	Bulgular	17
4.1	eNOS intron 4a/b Polimorfizm Genotiplemesinin Oluşturulmasına İlişkin Bulgular	19
4.2	eNOS intron 4a/b Genotiplemesine Göre Sporcu Ve Sedanter Genotip Grupların Tüm Parametrelerinin Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular	21
4.3.	Katılımcıların Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analiz Sonuçları	24
4.4.	Sporcu Grubunun Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analiz Sonuçları	26
4.5	Kontrol Grubun Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analiz Sonuçları	26
5.	Tartışma	28
6.	Sonuç ve Öneriler	31
7.	Kaynaklar	32
	Ekler	
	EK 1: Etik Kurul Onayı	
	EK 2: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	
	Teşekkür	
	Özgeçmiş	

Tablo Listesi

Tablo 1.	Katılımcıların fiziksel ve fizyolojik parametreleri	17
Tablo 2.	Sporcu ve kontrol grubunun NO, eNOS, oksLDL, TAS, TOS ve TBARS değerleri ve karşılaştırılması	17
Tablo 3.	Egzersiz ve kontrol gruplarının KKH klasik risk faktörleri ve karşılaştırılması	18
Tablo 4.	Kontrol ve Sporcu Grubunun hemogram ve biyokimyasal değerleri ve karşılaştırılması	18
Tablo 5.	eNOS İtron 4a/b Polimorfizmlerinin Genotip ve Allelik Frekansları	19
Tablo 6.	Total (T) Genotip Gruplarına Ait Fiziksel ve Fizyolojik Ölçümler	20
Tablo 7.	Total Genotip Gruplarına ait, NO, eNOS, OksLDL, TAS, TOS ve TBARS Değerleri ve Karşılaştırılması	20
Tablo 8.	Total Genotip Gruplarına ait KKH Klasik Risk Faktörleri Değerleri ve Karşılaştırılması	20
Tablo 9.	Total Genotip Gruplarına ait Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler ve Karşılaştırılması	21
Tablo 10.	eNOS İtron 4VNTR Genotiplemesine göre Sporcu ve Sedanter Genotip Gruplarına ait Fiziksel Ve Fizyolojik Ölçümler, Biyokimyasal ve Hematolojik Parametreler ile Karşılaştırılması	22
Tablo 11.	eNOS İtron 4VNTR Genotiplemesine Göre Sporcu Ve Sedanter Genotip Gruplarına ait NO, eNOS, oksLDL, TBARS ve KKH Klasik Risk Faktörleri Değerleri ve Karşılaştırılması	23
Tablo 12.	Katılımcıların Fiziksel ve Fizyolojik Parametreleri ile Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analizi	24
Tablo 13.	Katılımcıların Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analizi	25
Tablo 14.	Sporcuların Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analizi	26
Tablo 15	Kontrol Grubun Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Önemli Korelasyonlar	27

Şekil Listesi

Şekil 1.	Nitrik Oksitin Biyosentezi	6
Şekil 2.	Reaktif Oksijen ve Azot Türleri	9
Şekil 3.	Enzimatik Olan/Olmayan Antioksidanlar	10



Kısaltmalar

ALT	Alanin Amino Transferaz
AST	Aspartat Amino Transferaz
BH₄	Tetrahidrobiopterin
BKNO	Bazal Kan Nitrik Oksit
Ca	Kalsiyum
CaM	O ₂ kalmodulin
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
eNOS	Endotel Nitrik Oksit
eNOSP	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz İntron 4a/b Polimorfizmi
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HCT	Hematokrit
HDL-K	Yüksek Dansiteli Lipoprotein Kolesterol
HGB	Hemoglobin
iNOS	İndüklenebilien Nitrik Oksit Sentaz
KAT	Katalaz
KG	Kontrol Grubu
KKH	Kronik Kalp Hastalıkları
KLLP	Kan Lipid ve Lipoproteinleri
KVH	Kalp ve Damar Hastalıkları
LDL-K	Düşük Dansiteli Lipoprotein Kolesterol
MCV	Ortalama Eritrosit Hacmi
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
NADH	Nikotinamid Adenindinükleotid
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O₂	Oksijen
O₂^{·-}	Süperoksit Radikali
OH[·]	Hidroksil Radikali
OksLDL	Okside Düşük Dansiteli Lipoprotein
OS	Oksidatif Stres

OSİ	Oksidatif Stres İndeksi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RBC	Eritrosit
RNT	Reaktif Nitrojen Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SG	Sporcu Grubu
SOD	Süperoksid Dismutaz
TAS	Total Antioksidan Statü
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TBARS	Tiyobarbitürik Asit İle Reaksiyona Giren Maddeler
TG	Trigliserid
TK	Total Kolesterol
TOS	Total Oksidan Statü
VKİ	Vücut Kütle İndeksi

Giriş

1.1 Araştırmanın Konusu

Nitrik oksit (NO), hem hücre içi hem de hücre dışında düzenleyici işlev gören küçük, reaktif bir serbest radikal moleküldür. Yarı ömrü, 2-5 saniyedir (Knowles ve Moncada, 1994). NO'nun depolanma özelliği yoktur, isteme yanıt olarak sentezlenir (Erbaş, 2002). NO, vasküler dilatör tonusunun, lokal hücre büyümesinin düzenlenmesi, damarların yeniden yapılanması, trombosit ve kanın diğer hücrelerinin oluşturduğu hasarlardan korunması gibi vasküler homeostazın sürdürülmesinde önemli etkisi vardır (Stamler ve Meissner, 2001). Bu etkiler NO'nun ateroskleroz gelişiminin önlenmesindeki rolünü gösterir (Atalık ve Doğan, 1997). Ayrıca NO'nun bu etkileri egzersiz antrenmanlarının adaptasyonları sürecinde de önemli rol oynar. NOS'un genetik olarak farklı üç izoformu tespit edilmiştir. Bunlar; vasküler tonusu ayarlayan endotelial izoform (eNOS), sinaptik şekillenme ve nörotransmisyonu düzenleyen bir nöronal izoform (nNOS), immün/inflamatuar olaylarda rol alan uyarılabilir form (iNOS)'dur (Çekmen, Turgut, Türköz, Aygün, ve Gözükara, 2001). Düzenli aerobik egzersizin, eNOS gen ekspresyonunu artırarak NO üretimini ve onun biyo yararlılığını arttırdığı düşünülmektedir (Higashi ve Yoshizumi, 2004a). İskelet kasının hem hızlı kasılan, hem de yavaş kasılan kas fibrillerinin her iki NOS proteinini (eNOS ve nNOS)'de sentezlediği saptanmıştır. Hızlı kasılan glikolitik kaslarda nNOS, oksidatif kaslarda ise eNOS'un sentezini daha çok indükler. eNOS'un intron 4'te ardışık tekrarlı DNA dizilerinin (VNTR) kardiyovasküler ve renal hastalıklarla bağlantılı olduğu ve eNOS intron 4a/b polimorfizmi (eNOSP) kanseri de içeren farklı patolojilerle (Förstermann ve Sessa, 2012; Reid, 2001; Senti et al., 2000; Superko, 1991) ilişkili olduğu bildirilmiştir (Casas, Cavalleri, Bautista, Smeeth, Humphries ve Aroon, 2006; Turgay, 1997).

Aerobik kapasite ile bazal kan NO düzeyleri arasında ilişkiler bulunmuş (Turgay F., 2004) ve aerobik egzersizlerin, bazal kan NO düzeyleri üzerindeki olumlu etkileri tespit edilmiştir (Britten, Zeiher ve Schächinger, 1999). Aerobik egzersizin ayrıca kalp ve damar hastalığı (KVH) prognozunu iyileştirdiği bilinmektedir (Pedersen ve Saltin, 2006). Düzenli aerobik egzersiz, NO sentezini iyileştirmek için köklü bir uyarıcıdır ve bu nedenle, kardiyorespiratuvar uygunluğu arttırmak ve KVH'lı hastalarda endotel fonksiyonunu iyileştirmek için önemli bir "farmakolojik olmayan" stratejidir (Martens, Kirkman ve Edwards, 2016).

Ancak aerobik egzersiz sırasında metabolik hızda meydana gelen artış sonucunda iskelet kasında, kalpte ve diğer dokularda oksijen tüketimi belirgin olarak artar. Tüm vücutta egzersiz sırasında oksijen tüketim hızının 10-15 kat artabileceği, aktif kaslarda artan kan akımı nedeniyle bu artışın 100 kat olabileceği bildirilmiştir (Şen, 1995). Oksijen tüketiminin artması ile reaktif oksijen türlerinin (serbest radikallerin) üretimini artar (Toda, Tanabe ve Nakanishi, 2011) ve bu oksidatif strese (OS) yol açar (Finaud, Lac ve Filaire, 2006a; Williams, Strobel, Lexis ve Coombes, 2006) Artan serbest oksijen radikalleri, lipid, protein ve DNA oksidasyonu ile enzim inaktivasyonu ve hücre hasarına yol açar (Finaud, Lac ve Filaire, 2006). Oksidatif stres NO nun biyoyararlılığını azaltabilir. Azalan NO patolojik sonuçlara sebep olabilir (Goto et al., 2003).

1.2 Araştırmanın Problemi

eNOS aerobik egzersizle indüklenen önemli bir enzim olup kan nitrik oksit seviyesine önemli katkıda bulunur. NO, vazodilatör, antioksidan, antiaterosklerotik ve metabolik regülatör özelliklere sahip bir gazdır. Bu nedenle NO'nun hem sportif performans hem de özellikle kardiyovasküler hastalıklar (KVH) üzerinde önemli bir etkisi olduğu belirtilmektedir. Endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) intron4a/b polimorfizminin kan NO düzeyleri ve aerobik performansla ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Böyle bir etki varsa farklı fenotipte kişilerin varlığına işaret eder. Bunun da hem spor hem de sağlık açısından önemli sonuçları olabilir. Bunları bilip ona göre önlem almak ve antrenman planları hazırlamak olması gereken bilimsel bir yaklaşımdır. Bildiğimiz kadarıyla futbol hakemlerinde düzenli aerobik egzersizin kan nitrik oksit ve eNOS protein düzeyleri üzerine etkisinde eNOS intron 4a/b polimorfizminin rolüne ilişkin literatürde bir çalışmaya rastlanmadı. Bu çalışma sonuçları literatürde bu konuya ilişkin ilk çalışma olacaktır. Düzenli egzersizin; kan nitrik oksit düzeyleri, eNOS proteini, yanı sıra koroner kalp hastalığı (KKH) klasik risk faktörleri olarak kabul edilen kan lipid ve lipoprotein (KLLP) düzeyleri ve oksidatif stres düzeyi üzerine etkisi ve endotel nitrik oksit sentaz intron 4a/b polimorfizminin (eNOSP) rolü hakkında da literatüre katkı sağlayacaktır. Futbol hakemlik mesleğinin sürdürülebilmesi için bu egzersiz yapılmalıdır. Ancak bu antrenmanların sağlık açısından futbol hakemlerine nasıl bir etkide bulunduğu bilinmemektedir. Dünyada binlerce hakem olduğu düşünülürse bu çalışma sayesinde futbol hakemlerinin bu konularda bilgi edinmeleri de sağlanmış olacaktır.

1.3 Araştırmanın Sorusu

1. Düzenli aerobik egzersizin futbol hakmelerinde kan NO ve eNOS protein düzeyleri üzerine etkisi var mıdır?
2. Aerobik egzersiz antrenmanının bu olası etkilerinde eNOS intron 4a/b polimorfizminin rolü var mıdır?

1.4 Araştırmanın Hipotezleri

1. Sağlıklı erkek futbol hakemlerinde düzenli aerobik egzersiz kan nitrik oksit ve eNOS protein düzeyini artırır.
2. Egzersizin bu etkisinde eNOS intron 4 a/b polimorfizminin rolü vardır.
3. Bu polimorfizmin, bazal nitrik oksit düzeyleri ve kan lipid lipoprotein düzeyleri üzerinde etkisi vardır.
4. Düzenli aerobik egzersizin oksidatif stres düzeyleri üzerindeki etkisinde belirtilen polimorfizmin rolü vardır.

1.1.5. Araştırmanın Varsayımları

1. Katılımcıların verdikleri beyana göre antioksidan savunma sistemini destekleyecek ilaç, vitamin vb. maddeler almadıkları varsayılmıştır.
2. Katılımcılara önceden verilen bilgilere uydukları varsayılarak, biyokimyasal analizlere 3-4 saatlik bir açlık sonrası katıldıkları varsayılmıştır.
3. Uyarılarımız gereği en az bir hafta öncesinden diyetlerini fazla değiştirmedikleri varsayılmıştır.
4. Uyarılarımız doğrultusunda, kan alımı ve testlerinden en az 2-3 gün öncesinden itibaren antrenmanlara aravermiş oldukları varsayılmıştır.

1.1.6. Araştırmanın Sınırlılıkları

Daha fazla sayıda kişiler ile yapılamaması araştırmayı sınırlı kılmıştır.

1.1.7. Araştırmanın Tanımları

NO: Hem hücre içi hem de hücre dışında düzenleyici işlev gören küçük, reaktif bir serbest radikal molekülüdür.

eNOS: Nitrik oksit sentazın bir izoformudur ve endotelialda bulunur. Vasküler tonusu ayarlar.

Intron 4a/b polimorfizmi: İntronda 4 defa ve 5 defa ardışık tekrarlı DNA dizileri

1.1.8. Araştırmanın Amacı

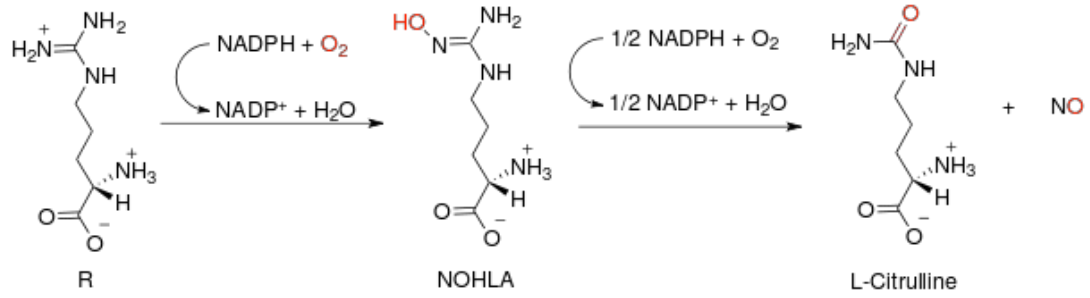
Çeşitli toplumlarda endotelial nitrik oksit sentaz enzimi (eNOS) intron 4a/b polimorfizminin plazma NO konsantrasyonu ve klasik KKH ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Ekmekçi et al., 2013). Aerobik egzersizin kan NO düzeylerini arttırdığı bilinmektedir (Reid, 2001). Ancak aerobik egzersizin kan nitrik oksit düzeyleri üzerine etkisinde endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) protein düzeyi üzerine etkisi ve endotel nitrik oksit sentaz intron 4 a/b polimorfizminin (eNOSP) rolüne ilişkin literatürde bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu nedenlerle bu çalışmanın temel amacı; Düzenli aerobik egzersiz yapan futbol hakemlerinde aerobik egzersiz antrenmanlarının kan nitrik oksit ve endotel nitrik oksit sentaz protein düzeyi üzerine etkisi ve endotel nitrik oksit sentaz intron 4a/b polimorfizminin rolünün incelenmesidir. İkincil amacı belirtilen egzersizin oksidatif stres ve kan lipid ve lipoproteinleri (KLLP) üzerine etkisi ve bu etkilerde belirtilen polimorfizmin rolünün araştırılmasıdır.

Genel Bilgiler

2.1 Nitrik Oksit (NO)'in Yapısı, Sentezi ve Fonksiyonu

NO, hem hücre içi hem de hücre dışında düzenleyici işlev gören küçük, reaktif bir serbest radikal moleküldür. Yarı ömrü, 2-5 saniyedir (Knowles ve Moncada, 1994). NO'nun depolanma özelliği yoktur, isteme yanıt olarak sentezlenir. Birbirinden bağımsız iki monooksijenizasyon reaksiyonu ile oksijen varlığında bir aminoasit olan L-argininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile NO ve L-sitrulin oluşur (Erbaş, 2002). Nitrik oksitin, vasküler dilatör tonusun, lokal hücre büyümesinin düzenlenmesi, damarların trombosit ve kanın diğer hücrelerinin oluşturduğu hasarlardan korunması gibi hem hücre içi hemde hücre dışı düzenleyici işlevi vardır (Stamler ve Meissner, 2001). Özellikle dolaşım sistemi açısından NO'nun vazodilatör etki gösterdiği, bölgesel kan akımını ve sistemik kan basıncını düzenlediği (Toda, Tanabe ve Nakanishi), endotele yönelik olarak da fibroblastlarda ve kültürü yapılan düz kas hücrelerinde mitozu inhibe ettiği bulunmuştur. Bu antiproliferatif etki NO'nun ateroskleroz gelişimini önleyici etkisine katkıda bulunabilir (Atalık, 1997). NOS'un genetik olarak farklı üç izoformu tespit edilmiştir. Bunlar; vasküler tonusu ayarlayan endotel izoform (eNOS), sinaptik şekillenme ve nörotransmisyonu düzenleyen bir nöronal izoform (nNOS) ve immün/inflamatuar olaylarda rol alan indüklenebilir form olan (iNOS) dur (Çekmen, Turgut, Türköz, Aygün, & Gözükara, 2001). İskelet kasının hem hızlı kasılan, hemde yavaş kasılan kas fibrillerinin her iki NOS proteinini de sentezlediği saptanmıştır. Hızlı kasılan–glikolitik kaslarda nNOS, oksidatif kaslarda ise eNOS seviyeleri önemlidir.

NO oluşumu için O₂, kalmodulin (CaM) ve tetrahidrobiopterin (BH₄) içeren diğer kofaktörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Oksijenle reaksiyonda, N^ω-hidroksi-L-arginin, ilk L-sitrulin'den önce oluşturulmuş ve NO üretilmektedir (Stuehr et al., 1991). Genel olarak nitritten NO oluşumu ağırlıklı olarak dokularda meydana gelmektedir. Ksantin oksidaz ve aldehit oksidaz nitrit indirgenmesinde kritik rol oynamaktadır ve bu süreç pH, oksijen stresi, nitrit ve indirgeyici substrat konsantrasyonu tarafından düzenlenmektedir (Li, Cui, Kundu, Alzawahra ve Zweier, 2008). NO direk ölçümü zor olan oldukça reaktif bir moleküldür. NO'nun nötral yükü ve yüksek diffüzyon kapasitesi NO biyo aktivitesindeki karakteristik özellikleridir. Reaktif oksijen türleri NO yıkılımının ana belirteçleridir (Kelm, 1999).



Şekil 1. Nitrik oksitin biyosentezi (Knowles ve Moncada, 1994b)

2.2 NO Polimorfizmleri

Polimorfizm, biyolojide tek bir türün üyeleri arasında birkaç farklı form veya birey türünün oluşumuyla sonuçlanır. Bir toplumdaki bireyleri iki veya daha fazla keskin biçimde ayrı formlara böler. Bunun en belirgin örneği, insanlardaki farklı kan türleri olabilir (Eloise R. Giblett, n.d.; Valko et al., 2007)

Polimorfizm a (4 defa tekrarlanmış VNTR bölgesi; 393bç) ve b (5 defa tekrarlanmış VNTR bölgesi; 420bç) olmak üzere iki allel içermektedir (Bellini et al., 2007). eNOS geni 7. kromozomun uzun kolunun 35. ve 36. lokusunda bulunmaktadır (7q35-36). Bu gen 26 ekzon ve 25 intron içerir (~ genomic DNA'nın 21kilobazını kapsar) ve 4052 nükleotidlik bir haberci ribonükleik asit (mRNA) kodlar ve haploidinsan genomunda tek bir kopya olarak bulunmaktadır. İnsan endotelial NO sentaz geni polimorfiktir (Deng et al., 2007; Yeh, Santella, Hsieh, Sung ve Tang, 2009).

2.3. Nitrik Oksit (NO) ve Egzersiz ile ilişkisi

Düzenli olarak aerobik egzersiz yapan sporcularda istirahatte kan NO seviyesinin yükseldiği gösterilmiştir (Cubrilo et al., 2011; Djordjevic et al., 2010; Murray, Mayes ve Granner, 1993; Öztaşan, Ocak, Küçük Kurt ve Akgün, 2007). Tek bir egzersize bağlı olan değişimlerde ise, özellikle orta şiddetteki aerobik egzersizlerin endotele bağlı dilatasyonu artırdığı, bunun da NO üretimini desteklediği savunulmuştur (Goto et al., 2003; Karatosun, Akdoğan ve Çalışkan, 2005). Enerji için oksijen kullanılarak yapılan egzersiz yani aerobik egzersiz, eNOS gen üretimini vasıtasıyla NO üretimini artırır. Bunun yanı sıra düzenli aerobik egzersiz NADH/NADPH oksidaz aktivitesini düşürerek NO inaktivasyonunu da düşürdüğü için NO biyoyararlılığını iyileştirdiği düşünülmektedir (Higashi ve Yoshizumi, 2004). Aerobik kapasite ile bazal kan NO düzeyleri arasında ilişkiler bulunmuş (Turgay F., 2004) ve aerobik egzersizlerin, bazal

kan NO düzeyleri üzerindeki olumlu etkileri tespit edilmiştir (Britten, Zeiher ve Schächinger, 1999). nNOS yaralanma, ciddi incinme ve kas aktivitesi durumunda yükselir. Şiddetli egzersizlerin sonunda azalan NO düzeyleri genellikle artan oksidatif strese bağlanmaktadır (Goto et al., 2003).

2.4 Aerobik Egzersiz

Egzersiz, bir veya daha fazla fiziksel uygunluğun geliştirilmesi veya sürdürülmesi için planlanmış, yapılandırılmış, tekrarlayan ve amaçlı olan fiziksel aktivitelerdir (Laporte, Montoye ve Caspersen, n.d.). Egzersizin bazı hastalıkların görülme sıklığına etkisi (Siscovick, LaPorte ve Newman, 1985; Taylor, Sallis ve Needle, 1985) belirlenmiş olup, bu etkilerin doğrudan ve dolaylı mekanizmalar yoluyla üretildiği bilinmektedir. Örneğin, fiziksel aktivite yüksek plazma katekolamin seviyelerini düşürerek hipertansiyonun önlenmesine doğrudan yardımcı olabilir ve kilo kaybı azaltma suretiyle hipertansiyon riskini dolaylı olarak etkileyebilir (Blair, Jacobs ve Powell, n.d.).

Aerobik egzersiz, geniş kas gruplarının kullanıldığı ve maksimal kalp atım sayısının %50–85'i arası olduğu uzun süreli aktivite olarak düşünülebilir. Yürüyüş, bisiklet, jogging, aerobik dans, yüzme gibi aktiviteler bu egzersiz için örnek olabilir (Doğan, 2010; Halbert, Silagy, Finucane, Withers ve Hamdorf, 1999). Aerobik egzersiz kalp-damar sisteminizi güçlendirmenin (Maiorana et al., 2000) yanı sıra vücudun oksijeni daha iyi kullanmasına yardımcı olur. Kalp hastalığı ve diyabeti geliştirme riskini azaltmada (King, Taylor, Haskell ve DeBusk, 1989), yüksek kan basıncını düşürmede ve önlemede yararlı olabilir (Whelton, Chin, Xin ve He, 2002a). Stres, gerginlik, kaygı ve depresyonu ve vücut yağını azaltmaya yardımcı olur (Rodin ve Plante, 1989).

Düzenli aerobik egzersiz, NO sentezini iyileştirmek için köklü bir uyarıcıdır ve bu nedenle, kalp ve solunum uygunluğunu arttırmak ve kalp damar hastalığı bulunan kişilerde endotel fonksiyonunu iyileştirmek için önemli bir uygulamadır (Martens, Kirkman ve Edwards, 2016).

2.5. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, üretilen serbest radikallerin miktarı ile vücudun antioksidan savunma sistemlerinin arasında bir dengesizlik sonucu ile meydana gelen doğal bir biyolojik durumdur (Trapp, Knez ve Sinclair, 2010). Oksijen tüketiminin artmasıyla reaktif oksijen türlerinin (serbest radikallerin) üretimini artır (Toda et al., n.d.) ve bu oksidatif strese yol açar (Williams et al., 2006). Oksidatif stres, nöronal hasara yol açma

potansiyeline sahip prooksidan-antioksidan kapasite dengesinde bozulmayla ilişkili fizyopatolojik durum olarak tanımlanabilir (Halliwell, 2007). Reaktif oksijen türlerinin kontrolsüz oluşumu in vivo, nükleik asit, protein ve lipid gibi biyomolekülleri okside ederek, genetik bilgiyi değiştirir, Oksidatif stres, büyüme faktörleri, inflamatuvar sitokinler, kemokinler ve hücre döngüsü düzenleyici moleküller de dahil olmak üzere 500'ün üzerinde farklı genin ekspresyonuna yol açan çeşitli transkripsiyon faktörlerini aktive edebilir (Vetrani, Costabile, Di Marino ve Rivellese, 2013).

Oksidatif stres proteinleri denature eder, enzimleri inaktif eder ve biyomembranlarda bozukluklara neden olur. Dolayısıyla reaktif oksijen türlerinin oluşumu oksidatif strese neden olur. Organizmaya zarar verir, hastalıklara, zehirlenmelere ve yaşlılığa neden olur (Moreno, 2008). NO sentaz tarafından üretilen ve indüklenebilir olan nitrik oksit (NO), önemli ve yaygın olarak incelenen reaktif azot türlerinden biridir. Bu radikaller antioksidan savunmaya, lipidler, proteinler ve nükleik asitler dahil olmak üzere çok çeşitli moleküle zarar verebilir (Ghizal, Sharma, Das ve Mahdi, 2015).

Glutasyon / oksitlenmiş glutasyon oranı organizmanın oksidatif stresinin iyi bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Valko, Leibfritz, Moncol, Cronin ve Mazur, 2007).

2.5.1. Serbest Radikaller

Aerobik organizmalar solunum sırasında mitokondride oluşan süperoksit ve hidrojen peroksid gibi reaktif oksijen bileşiklerine (serbest radikaller) duyarlıdırlar (Adam-Vizi ve Chinopoulos, 2006). Bu reaktif oksijen bileşikleri yani 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 ve Gutteridge, 1984). Serbest radikaller, hücre yapılarına, nükleik asitlere, lipitlere ve proteinlere hasar vermede önemli belirteçler olabilir (Valko, Leibfritz, Moncol, Cronin ve Mazur, 2007). Hücrede oluşan serbest radikal, antioksidan mekanizmalarla ortadan kaldırılırlar.

Ancak bazı nedenlerle, örneğin yaşlanma ve aşırı aerobik antrenmanla daha fazla serbest radikal oluşabilir. Bu da oksidatif stres yönünde değişmeye neden olur (Finaud, Lac ve Filaire, 2006). Egzersiz sırasındaki mitokondrial fonksiyona ve oksidan üretim ile ilişkili olarak mitokondride nitrik oksit oluşmaktadır (Giulivi, 1998).

Serbest radikaller kimyasal olarak çok reaktiftirler. Genellikle, bir radikal eşleşmemiş elektronu stabilize etmek için başka bir elektronla eşleşmek istemektedir. Radikal

zincir reaksiyonu sonlanma reaksiyonu meydana gelene kadar sürdürülmektedir. Bu nedenle eğer radikal zincir reaksiyonu in vivo düzenleme olmaksızın devam ederse, biyolojik sistemler hasar görebilmektedir (Radák, 2000).

Oksidatif stresin, endotel bağımlı vazorelaksasyonu bozan, büyüme faktörlerini uyaran, adezyon moleküllerinin sentezlenmesini indükleyen ve gelişmiş glikosilasyon son ürünlerinin oluşumuna katkıda bulunan bir etken olduğu bildirilmektedir (Pieme et al., 2017).

Reaktif oksijen türleri	Sembolü	Yarı-ömrü (sn)	Reaktif azot türleri:	Sembolü	Yarı-ömrü (sn)
Süperoksit	$O_2^{\cdot-}$	10^{-6} s	Nitrik oksit	NO^{\cdot}	s
Hidroksil radikal	$\cdot OH$	10^{-9} s	Peroksinitrit	$ONOO^{\cdot}$	10^{-3} s
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Stabil	Peroksinitroz asit	$ONOOH$	oldukça stabil
Peroksil radikal	ROO^{\cdot}	s	Azot dioksit	NO_2	S
Organik hidroperoksit	$ROOH$	Stabil			
Tekli oksijen	O_2	10^{-6} s			
Ozon	O_3	s			

Şekil 2. Reaktif oksijen ve azot türleri

2.5.2 Antioksidanlar

Antioksidanlar, oksitlenebilen substratlarla karşılaştırdıkları zaman düşük konsantrasyonlarda bu substratların oksidasyonunu geciktiren ya da önleyen maddeler olarak tanımlanmaktadır (Halliwell, 2007).

Oksidatif hasarı önlemek için hücrelerde enzimatik (süperoksit dismutaz, glutathione peroksidaz ve katalaz) veya enzimatik olmayan (glutatiyon) bir takım antioksidanlar bulunmaktadır. Ancak bu endojen antioksidanların yanı sıra, sebzelerde bulunan eksojen olarak tanımlanan doğal anti-oksidanlarda vardır ve bunların çoğunda A,C,E vitamini ile karotenoidler bulunur (Pieme et al., 2017).

Enzimatik antioksidanlar	Enzimatik olmayan antioksidanlar	
*Katalaz (KAT)	*Vitamin E	*Flavonoidler
*Glutasyon peroksidaz (GPx)	*Albumin	*Haptoglobin
*Glutasyon redüktaz (GR)	*Vitamin C	*Melatonin
*Glutasyon-S-transferaz (GST)	*Glutasyon	*Seruloplazmin
*Süperoksit dismutaz (SOD)	*Vitamin A	*Ürik asit
	*UbikinonTransferrin	*Selenyum
	*Laktoferrin	*Bilirubin

Şekil 3. Enzimatik olan/olmayan antioksidanlar



Gereç ve Yöntem

3.1 Araştırmanın Tipi

Düzenli aerobik egzersizin kan nitrik oksit ve endotel nitrik oksit sentaz protein düzeyi üzerine etkisi ve endotel nitrik oksit sentaz intron 4a/b polimorfizminin rolünün incelenmesini konu alan bu çalışma kesitsel bir laboratuvar çalışmasıdır.

Araştırma yapısının “İnsanlar Üzerinde Yapılan Tıbbi Araştırmalarda Etik İlkeler Helsinki Deklerasyonu”na uyumlu olduğu Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (18-3/41).

3.2 Araç ve Gereçler

3.2.1. Biyokimya Analizlerinde Kullanılan Cihazlar

Cihaz Adı	Marka
Spektrofotometre	Shimadzu UV 1700 (JAPAN)
Otomatik Hematoloji Analizörü	Sysmax XN-2000 (JAPAN)
Santrifüj	Nüve NF 200 (TURKEY)
Vortex	Elektro-mag M16 (TURKEY)
Distilasyon cihazı	Nüve NS 103 (TURKEY)
Mikroplate Okuyucu	Dialab EL X800G (AUSTRIA)
Dikey Derin Dondurucu	Uğur UFR 370 SD (TURKEY)
Analizör	Sysmax XN-2000 (JAPAN)
Otoanalizör	Sysmax XN-2000 (JAPAN)

Otomatik pipetler:

0.1 ml (Brand, Germany)

0.2 ml (Brand, Germany)

1.0 ml (Brand, Germany)

Tüpler:

Plastik kapaklı Eppendorf tüpü

Heparinli kapiler Htc tüpü

K3 EDTA'lı cam Vacutainer tüpü

Heparinli vacutainer tüp (2,5cc)

Antikoagülanlı jelli vacutainer tüp (8,5 cc)

K3-EDTA' lı vacutainer cam tüp (2,5cc)

3.2.2 Biyokimya Analizlerinde Kullanılan Kitler ve Maddeler

Madde	Firma
Nitrik Oksit kiti (96 TEST)	SUNRED (CHINA)
eNOS ELISA kiti (96 TEST)	Elabscience(USA)
TAS kiti Rel Assay Diagnostics	(TURKEY)
TOS kiti Rel Assay Diagnostics	(TURKEY)

Pipet uçları:

Sarı otomatik pipet ucu

Mavi otomatik pipet ucu

Diğer Malzemeler:

Steril vakutainer iğnesi (yeşil)

3.3 Yöntem

3.2.1 Örneklem Seçimi

Çalışmaya kabul edilecek katılımcılar, herhangi bir hastalığı veya sakatlığı olmayan, sigara, alkol ve herhangi bir ilacı veya antioksidan bir maddeyi düzenli olarak kullanmayan, obez olmayan(vücut kütle indeksi (VKİ) <30) ve 18-35 yaş arası kişilerdi. Çalışma grubu en az 3-4 aydır düzenli olarak aerobik egzersiz yapmakta olan sağlıklı 40-50 erkek futbol hakemleri ile aynı sayıda ve yaşta düzenli olarak aerobik egzersiz yapmayan kişilerden (sedanter) oluşturuldu. Çalışmaya gönüllü olarak katılacak yaklaşık 100 kişiye çalışmanın amacı, yararı, yapılacak testler, olası riskleri hakkında bilgi verildi ve biyokimyasal parametrelerine bakıldı, boy, kilo ve VKİ belirlendi. Yukarıda belirtilen testler ve sağlık kontrolleri sonucunda sağlıklı olduğu belirlenen 89 kişi çalışma gruplarına alındı. Katılımcılardan öğlen 12.00 de yemek yemeleri ve 16.00-17.00 arasında kol venasından kan vermek üzere laboratuvara gelmeleri istendi. Katılımcıların dayanıklılık düzeylerini belirlemek için saha koşullarında YOYO aralıklı dayanıklılık testi yapıldı. Alınan kanlardan araştırma amacıyla [Hemogram, biyokimyasal parametreler; kreatinin, total kolesterol (TK), 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] biyokimyasal parametreler bakıldı.

Çalışmaya kabul edilen 89 kişi aşağıda belirtilen şekilde tasnif edildi. İki çalışma grubu belirlendi:

1.Sporcu Grubu (SG) (n=46) en az 3-4 aydır aerobik egzersiz yapan kişilerden oluştu._

2.Kontrol Grubu (KG) (n=43) Fiziksel olarak egzersiz grubuna benzer nitelikteki sedanterlerden oluştu. Bu gruptaki kişilerin en az 3-4 aydır egzersiz yapmıyor olmaları koşulu istendi.

3.3.2 Yapılan Testler

3.2.2.1 Fiziksel Ölçüm Yöntemleri

Boy ve Vücut Ağırlığı: Şortla ve ayakkabısız olarak elektronik medikal tartı aleti (Seca 769, Germany) kullanılarak ölçüldü.

Vücut Kütle İndeksi (VKİ): Boy ve vücut ağırlığından aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$VKİ = \text{Ağırlık (kg)} / (\text{boy, m})^2$$

3.2.2.2 Fizyolojik Ölçümler

Katılımcıların dayanıklılık düzeylerini belirlemek için saha koşullarında YOYO (level-2) aralıklı dayanıklılık testi yapıldı.

3.2.3 Kan Numunelerinin Alınması, Saklanması ve Analizleri

Gönüllülerden soğutulmuş, vakumlu, biri mor kapaklı EDTA'lı 2 tüpe toplam 7,5 mL, diğeri 9 ml jelli 2 adet sarı serum tüpüne venöz kan örnekleri alındı. Serum düz kan örnekleri 20 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000g'de 15 dk santrifüjlenerek serumları ayrıldı. EDTA'lı 1.tüpteki kan aynı gün içerisinde hemogram, diğeri EDTA'lı tüpteki kan örneklerinden elde edilen lökositlerden izole edilen DNA numunelerinden endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) intron 4 a/b polimorfizmi belirlendi. Serum örneklerinden; endotel nitrik oksit sentaz enzim (eNOS) proteini ve okside düşük dansiteli lipoprotein (oksLDL) düzeyi Fakültemize ait Egzersiz Biyokimyası Laboratuvarında laboratuvar sorumlusu Doç. Dr. Faruk Turgay tarafından gerçekleştirildi.

Serum ve plazma numuneleri analizler yapılmaya kadar derin dondurucuda (-82 °C de) saklandı. Analizler 1-2 ay içerisinde gerçekleştirildi.

3.2.3.1 Hemogram Analizi

EDTA'lı tüpteki kandan hemogram analizi, aynı gün 3-4 saat içerisinde kan sayım cihazı (Sysmax XN-2000, JAPAN) ile Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya

Laboratuvarında yapıldı. Hemogram ölçümü; eritrosit, lökosit, hematokrit, hemoglobin, trombosit ve ortalama eritrosit hacmi gibi parametreleri içermektedir.

3.2.3.2 Serum NO ve eNOS Analizi

NO ve eNOS' a özel antikorlarla kaplı mikro tabaklar kullanılarak enzim bağılı immünosorbent assay (ELISA) metodu ile kit içeriğine bağılı olarak mikro tabak okuyucuda belirlendi.

Yöntemin ilkesi:

Antijen-antikor reaksiyonu ile birlikte ilişkili bir enzimin aktivasyonu sayesinde meydana gelen renk şiddetinin ölçülmesi.

NO analizleri serum numunelerinden ticari bir kit kullanılarak ELISA yöntemiyle micro plate reader cihazında (Dialab EL X800G, AUSTRIA) gerçekleştirildi.

3.2.3.3 Endotel nitrik oksit sentaz intron 4 a/polimorfizmi:

DNA izolasyonları EDTA'lı hemogram tüplerine alınan kandan bir otoanalizör (Promega Maxwell® RSC- AS4500, USA) ile izolasyon kiti (Maxwell® RSC Blood DNA Kit-AS1400) kullanılarak yapıldı. İzole edilen DNA spektrofotometrik olarak kalite değerlendirilmesi yapıldı. eNOS geninde hedeflenen VNTR'ların tekrar sayıları belirlenmesi için elde edilen PCR ürünleri %3,5'lik agaroz jelde yürütülüp görüntülenerek tekrar sayıları belirlendi.

%3,5'lük Agaroz jel hazırlanması: 300 ml'lik beher içine, 10,5 gr agaroz ve 300 ml 0.5X TBE konulup mikrodalga fırında agaroz saydam bir görünüm alıncaya kadar ısıtıldı. Sonrasında üzerine 48 µl etidyum bromür eklenerek karıştırıldı ve ürünlerin yükleneceği kuyucukların oluşması için taraklar yerleştirildi. Jel donmaya bırakıldı. Parafilm üzerinde 5 µl Orange G ve 5 µl PCR ürünleri karıştırılarak kuyucuklara yüklendi. Amplifiye olan ürünlerin uzunluklarını değerlendirmek için örneklerin başı ve sonundaki kuyucuklara DNA ladder yüklendi. Örnekler 120 Volt akımda 90 dakika yürütüldükten sonra jel görüntüleme sistemi ile görüntüler alındı. Bu polimorfizimler Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim dalı laboratuvarında laboratuvar yetkililerinin nezaretinde gerçekleştirildi.

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

- eNOS intron 4a/b polimorfizimi için:
5'-AGG CCC TAT GGT AGT GCC TT-3' (f) ve
5'-CTC TTA GTG CTG TGG TCA CAGG-3' (r)

primerleri kullanıldı.

3.2.4 Biyokimyasal Analizler

Serum örneklerinden: total kolesterol (TK), trigliserid (TG), yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K), düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (LDL-K), total antioksidan statüsü (TAS), total oksidan statüsü (TOS), tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddeler (TBARS), kan şekeri, kreatinin, albumin, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) enzim aktiviteleri ve hemogram analizleri standart enzimatik-kinetik yöntemlerle Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Laboratuvarında yapıldı.

3.2.4.1 Total Antioksidan Statüsü (TAS)'nün Belirlenmesi:

Serum TAS düzeyleri, bir ticari kit kullanılarak kromojenik metotla spektrofotometrik olarak bir mikrotabak okuyucuda (Dialab EL X800G, AUSTRIA) bir ay içerisinde gerçekleştirildi.

.Bu metotta; serumdaki antioksidan moleküller kullanılan kromojen madde ile yeni bir renk meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin absorbansı serumdaki antioksidan miktarı ile orantılıdır. Sonuçlar; mmol/L eşdeğeri olarak verildi.

3.2.4.2 Total Oksidan Statüsü (TOS)'nün Belirlenmesi:

Serum TOS düzeyleri bir ticari kit kullanılarak kromojenik metotla spektrofotometrik olarak bir mikrotabak okuyucuda (Dialab EL X800G, AUSTRIA) bir ay içerisinde gerçekleştirildi. Bu metotta; serumdaki oksidan moleküller kullanılan kromojen madde ile yeni bir renk meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin absorbansı serumdaki oksidan miktarı ile orantılıdır. Sonuçlar; H₂O₂ eşdeğeri olarak verildi.

Serum TOS miktarının TAS'a yüzde olarak oranı (TAS/TOS), oksidatif stres indeksi (OSI) olarak kabul edilmektedir.

3.2.4.3 Tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddeler (TBARS) Ölçümü

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kullanılan plazma TBARS ölçümü Erwin ve ark.'nın kullandığı yöntemle gerçekleştirildi. Yöntemin ilkesi: tiyobarbitürik asid (TBA), asidik bir tampon içinde plazma örneği ile ısıtıldığında örnekteki TBA ile reaksiyon veren maddeler pembe renkli bir kompleks oluştururlar. Oluşan rengin şiddeti örnekteki TBARS konsantrasyonu ile ilişkilidir. Oluşan rengin absorbansı 532 nm de Ege Üniversitesi Egzersiz Biyokimya Laboratuvarımızda mevcut olan (Shimadzu UV 1700, JAPAN) spektrofotometre ile ölçüldü. Standart ile kıyaslanarak örnekteki TBARS konsantrasyonları belirlendi.

3.2.5 İstatistiksel analizler

İstatistiksel analizler SPSS 25 paket programıyla yapıldı ve anlamlılık için $p < 0.05$ değeri temel alındı. Elde edilen verilerin; farklılıkların analizi için birbirinden bağımsız gruplarda uygulandı istatistiksel testi belirlemek amacıyla önce dağılımın normal ya da homojen olup olmadığı Shapiro-Wilk normallik testi uygulanarak araştırıldı. Bu test 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. Grupların verileri ortalama ve standart sapmaları ile ifade edildi ve her iki grubun biyokimyasal parametreleri ve fiziksel ölçüm değerleri arasındaki ilişkiler 'Spearman Korelasyon Analizi' ile ortaya koyuldu. Genotip ve allel frekanslarının belirlenmesinde Hardy-Weinberg eşitliği dikkate alındı. Grupların 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) faktoriyel (ANOVA) testi ile bulundu. İstatistiksel analizler, literatür taramasına göre yapılan bir çalışmada yaklaşık 38 kişilik iki grup karşılaştırmasında (G*Power) testi ile yapılan güç analizinde % 80 doğrulukta ($p=0.80$) anlamlı bir farklılık elde etmek için etki büyüklüğünün yaklaşık ($d=0.70$) olduğu görülmüştür (Farney et al., 2012).

Bulgular

Sporcu grubu (SG)'nin vücut kitle indeksi kontrol grubu (KG)'ninkinden anlamlı olarak daha küçüktü. SG'nin YO-YO değeri KG'ninkinden anlamlı olarak daha büyük bulundu. Diğer fiziksel ve fizyolojik parametreler için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0,05$) (Tablo 1).

Tablo 1. Katılımcıların fiziksel ve fizyolojik parametreleri

GRUPLAR	YAŞ (yıl)	BOY (cm)	VA (kg)	VKİ (kg/m ²)	YO-YO (m)
SG (n=46)	23,3±2,84	179,7±6,47	74,1±8,11	22,8±2,06	1640±615
KG (n=43)	23,2±3,28	177,3±6,37	75,5±7,95	24,0±2,08	690±300
FARK	p=0,403	p=0,083	p=0,847	p=0,006	p=0,000

SG: sporcu grubu, KG: kontrol grubu, VKİ; Vücut Kütle İndeksi, VA: Vücut Ağırlığı, YO- YO; Aralıklı Dayanıklılık Testi (Level -2)

SG'nin TAS değeri KG'ninkinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p=0,000$). KG'nin oksLDL değeri ise SG'ninkinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p=0,011$). Gruplar arasında NO, eNOS, TOS ve TBARS düzeyleri açısından anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$). Ancak SG'nin eNOS değerleri KG'nin değerlerinden %28,9 daha büyük olarak belirlendi (Tablo 2).

Tablo 2. Sporcu ve kontrol grubunun NO, eNOS, oksLDL, TAS, TOS ve TBARS değerleri ve karşılaştırılması

GRUPLAR	NO ($\mu\text{mol/L}$)	eNOS (pg/mL)	OksLDL ($\mu\text{mol/L}$)	TAS ($\mu\text{mol/L}$)	TOS ($\mu\text{mol/L}$)	TBARS ($\mu\text{mol/L}$)
SG(n=46)	454,3±563,2	2815,2±921,0	1239,7±306,8	1,28±0,19	5,96±2,45	9,98±8,07
KG(n=43)	322,9±352,2	2877,7±892,4	1398±266,8	1,12±0,17	6,79±3,14	9,16±6,58
FARK	p=0,414	p=0,746	p=0,011	p=0,000	p=0,164	p=0,223

SG: sporcu grubu, KG: kontrol grubu, NO: Nitrik oksit, eNOS: Endotel nitrik oksit sentaz, oksLDL; Düşük dansiteli lipoprotein, TAS: Total antioksidan status, TOS: Total oksidan status, TBARS: Tiyobarbitirik asid ile reaksiyona giren maddeler,

KKH klasik risk faktörleri için gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Tablo 3).

Tablo 3. Egzersiz ve kontrol gruplarının klasik KKH klasik risk faktörleri değerleri ve karşılaştırılması

GRUPLAR	TK (mg/dL)	LDL-K (mg/dL)	HDL-K (mg/dL)	TG (mg/dL)
SG (n=46)	156,0±22,5	85,4±20,0	47,1±11,9	122,5±94,2
KG (n=43)	154,0±30,7	83,8±27,2	45,7±9,23	126,8±80,6
FARK	p= 0,729	p= 0,755	p= 0,536	p= 0,588
Referans aralığı	<200	<130	>55	<150

SG: Sporcu grubu, KG: Kontrol grubu, TK: Total Kolesterol, LDL-K: Düşük yoğunluklu , HDL-K: Yüksek yoğunluklu yağ, TG: Trigliserid

KG'nin kreatinin ($p=0,005$) değerleri SG'ninkinden anlamlı olarak daha büyükken, SG'nin albümin değerleri ($p=0,016$) KG'ninkinden anlamlı olarak daha büyük bulundu. Diğer hematolojik ve biyokimyasal parametreler için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Tablo 4).

Tablo 4. Kontrol ve sporcu grubunun hemogram ve biyokimyasal değerleri ve karşılaştırılması

GRUPLAR	Glukoz mg/dL	Kreatinin mg/dL	Albumin g/dL	ALT U/L	AST U/L
SG (n=46)	84,5±8,24	0,88±0,15	5,22±0,22	20,3±9,92	20,3±5,85
KG (n=43)	84,7±7,6	0,94±0,18	5,10±0,26	20,9±12,2	25,9±33,2
FARK	p=0,897	p=0,005	p=0,016	p=0,977	p=0,461
Referans aralığı	60-110	0,7-1,3	3,5-5,2	<45	<35

SG: Sporcu grubu, KG: Kontrol grubu, ALT: Alanin amino transferaz, AST: Aspartat aminotransferaz

eNOS intron 4a/b Polimorfizm Genotiplemesinin Oluşturulmasına İlişkin Bulgular

eNOS intron 4a/b polimorfizmlerinin genotip ve allel frekanslarının sporcu, sedanter ve total gruplar arasındaki dağılımı tablo 5’de verildi. Bazı genotip grupların sayısı çok küçük olduğundan dolayı ilgili genotip gruplarda birleştirme yapılarak taşıyıcı gruplar oluşturuldu ve hesaplamalar bunların üzerinden yorumlandı.

eNOS intron 4VNTR genotip frekansları sporcularda; aa, ab, bb için sırasıyla %2.2, %17.4, %80.4, sedanterlerde; %4.7, %27.9, %67.4, tüm grupta ise %3.4, %22.5, %74.2 bulundu. Sporcu ve sedanter gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($\chi^2=1,958$ $p=0,162$). Bu analizler sonucunda elde edilen a ve b homozigotlarının frekans değerlerinin,, Mendelian kuralına” göre “Hardy-Weinberg eşitliği (Passarge, Lülecı, Sakızlı, & Alper, 2009)’ni çalışmamızda total genotiplemede belirlemiş olduğumuz frekans değerleri Hardy-Weinberg eşitliğini sağlamıştır.

Tablo 5. eNOS intron 4a/b polimorfizmlerinin genotip ve allelik frekansları

Polimorfizm	Frekanslar	Gruplar	Sporcu	Sedanter	Total
eNOS İntron 4VNTR	Genotip frekanslar	4a/4a	1 (%2,2)	2 (%4,7)	3 (%3,4)
		4a/4b	8 (%17,4)	12 (%27,9)	20 (%22,5)
		4b/4b	37 (%80,4)	29 (%67,4)	66 (%74,2)
	Allel frekansları	4a	0,196	0,326	0,258
		4b	0,804	0,674	0,741

VNTR: variable number of tandem repeats (Değişken sayıda ardışık tekrarlar)

Total eNOS3 4VNTRT 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 6, 7, 8, 9) parametreler açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0,05$).

Tablo 6. Total (T) genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler

GRUPLAR	YAŞ (yıl)	BOY (cm)	VA (kg)	VKI (kg/m ²)	YO-YO (m)
Taa (n=3)	22,7±3,05	174,6±5,13	73,0±7,72	23,7±1,15	1173±801
Tab (n=20)	23,8±3,50	179,0±5,38	77,7±7,64	24,2±1,60	1080±751
TaT (n=23)	23,7±3,40	178,4±5,44	77,1±7,65	24,1±1,53	1092±740
Tbb (n=66)	23,1±2,95	178,6±6,87	74,0±8,04	23,1±2,28	1212±663

Taa: Total a homozigot grubu, **Tab:** Total ab heterozigot grubu, **TaT:** a taşıyıcı genotip (aa+ab), **Tbb:** Total bb homozigot grubu, **VA:** Vücut Ağırlığı, **VKI:** Vücut Kütle İndeksi, **YO-YO:** Aralıklı dayanıklılık testi(level -2)

Tablo 7. Total genotip gruplarına ait, NO, eNOS, OksLDL, TAS, TOS ve TBARS değerleri ve karşılaştırılması

GRUPLAR	NO (µmol/L)	eNOS (µmol/L)	OksLDL (µmol/L)	TAS (µmol/L)	TOS (µmol/L)	TBARS (µM)
Taa (n=3)	650,2±393,0	2768,5±1600,5	1264,2±394,7	1,20±0,32	7,97±3,61	7,73±3,50
Tab (n=20)	250,6±336,9	3067,3±1016,4	1407,7±275,2	1,21±0,15	6,98±2,49	10,4±10,1
TaT (n=23)	302,7±361,9	3028,3±1065,7	1389,0±286,4	1,21±0,17	7,11±2,58	10,1±9,51
Tbb (n=66)	421,5±507,6	2781,6±838,4	1290,8±299,1	1,20±0,20	6,10±2,87	9,42±6,52

Taa: Total aa homozigot grubu, **Tab:** Total ab heterozigot grubu, **TaT:** a taşıyıcı genotip (aa+ab), **Tbb:** Total bb homozigot grubu, **NO:** Nitrik oksit, **eNOS:** endotelyal nitrik oksit sentaz, **oksLDL:** düşük yoğunluklu lipoprotein, **TAS:** total antioksidan statü, **TOS:** total antioksidan statü, **TBARS:** Tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddeler

Tablo 8. Total genotip gruplarına ait KKH klasik risk faktörleri değerleri ve karşılaştırılması

GRUPLAR	TK (mg/dL)	LDL-K (mg/dL)	HDL-K (mg/dL)	TG (mg/dL)
Taa (n=3)	163,3±27,4	93,0±33,1	50,7±11,6	98,7±39,1
Tab (n=20)	160,8±23,7	89,5±23,0	45,5±13,6	147,9±121,9
TaT (n=23)	161,1±23,5	89,9±23,6	46,2±13,2	141,4±115,2
Tbb (n=66)	153,0±27,5	82,8±23,5	46,5±9,70	118,7±75,7

Taa: Total a homozigot grubu, **Tab:** Total ab heterozigot grubu, **TaT:** a taşıyıcı genotip (aa+ab), **Tbb:** Total bb homozigot grubu, **TK:** Total kolesterol, **LDL-K:** Düşük dansiteli lipoprotein, **HDL:** Yüksek dansiteli lipoprotein, **TG:** trigliserit

Tablo 9. Total genotip gruplarına ait hematolojik ve biyokimyasal parametreler ve karşılaştırılması

GRUPLAR	Glukoz mg/dL	Kreatinin mg/dL	Albumin g/dL	ALT U/L	AST U/L
Taa (n=3)	82,0±8,18	0,82±0,07	5,33±0,15	17,3±2,30	20,7±6,65
Tab (n=20)	82,2±5,45	0,94±0,10	5,07±0,27	18,8±6,41	20,7±6,91
TaT (n=23)	82,1±5,63	0,92±0,10	5,10±0,27	18,56±6,02	20,7±6,73
Tbb (n=66)	85,4±8,41	0,90±0,18	5,18±0,23	21,3±12,29	23,8±27,0

Taa: Total aa homozigot grubu, Tab: Total ab heterozigot grubu, TaT: a taşıyıcı genotip (aa+ab), Tbb: Total bb homozigot grubu, ALT: Alanin Amino Transferaz, AST: Aspartat amino transferaz

Kontrol Genotip Gruplarının Karşılaştırıldığında:

eNOS3 intron 4a/b polimorfizmi göz önüne alındığında: a taşıyıcı (aT, aT=aa+ab) grubunun eNOS (%17) değerleri homozigot bb grubununkinden anlamlı olmasa da daha büyükken ($p>0,05$), homozigot bb grubunun NO (%26), AST (%86) ve ALT (%23) değerleri a taşıyıcı (aT, aT=aa+ab) grubundan daha büyüktü ($p>0,05$). Kan lipid ve lipoprotein düzeyleri dahil diğer parametreler için grup içinde anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Grup içindeki bu farklılıkların belirtilen polimorfizmlerden kaynaklandığı söylenebilir.

Sporcu Genotip Gruplarının Karşılaştırıldığında;

eNOS3 intron 4a/b polimorfizmi göz önüne alındığında: a taşıyıcı (aT, aT=aa+ab) grubunun TBARS (%18), TG (%20), AST (%18), TOS (%16) değerleri homozigot bb grubununkinden anlamlı olmasa da daha büyükken ($p>0,05$), homozigot bb grubunun NO (%29) değerleri a taşıyıcı (aT, aT=aa+ab) grubundan daha büyüktü ($p>0,05$).

Kan lipid ve lipoprotein düzeyleri dahil diğer parametreler için grup içi anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Grup içindeki bu farklılıkların belirtilen polimorfizmlerden kaynaklandığı söylenebilir.

eNOS İtron 4VNTR Genotiplemesine Göre Sporcu ve Sedarter Genotip Grupların Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular:

Total eNOS3 4VNTR 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; parametreler açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Tablo 10, 11).

Tablo 10. eNOS intron 4VNTR genotiplemesine göre sporcu ve sedanter genotip gruplarına ait fiziksel ve fizyolojik ölçümler, biyokimyasal ve hematolojik parametreler ve karşılaştırılması

PARAMETRELER	SG				KG			
	SAA(n=1)	SAB(n=8)	SBB(n=37)	SAT(n=9)	KAA(n=2)	KAB(n=12)	KBB(n=29)	KAT(n=14)
YAŞ (yıl)	20	23,5±2,50	23,3±2,93	23,1±2,61	24,0±2,82	24,0±4,13	22,8±3,00	24,0±3,88
BOY (cm)	176	181,3±2,18	179,5±7,11	180,7±2,69	174,0±7,07	177,5±6,40	177,5±6,50	177,0±6,33
KİLO (kg)	77	79,0±4,80	73,0±8,42	78,8±4,55	71,1±9,83	76,9±9,18	75,2±7,48	76,1±9,12
VKİ (kg/m ²)	25	23,9±1,32	22,4±2,11	24,0±1,25	23,35±1,34	24,3±1,80	23,9±2,26	24,2±1,73
YOYO (m)	2000	1780±703	1601±607	1804±661	760±509	613±261	717±309	634±284
KREATİNİN (mg/dL)	0,9	0,93±0,12	0,86±0,15	0,92±0,12	0,78±0,28	0,94±0,96	0,96±0,20	0,92±0,11
ALT (U/L)	20	20,6±2,73	20,2±10,6	20,6±7,24	16,0±0,00	17,5±5,35	22,6±14,3	17,3±4,95
AST (U/L)	28	23,4±9,30	19,4±4,61	23,9±8,83	17,0±2,82	18,9±4,33	29,4±40,0	4,12±1,10
ERİTROSİT (106/μL)	5,74	5,44±0,42	5,38±0,35	5,48±0,41	5,44±0,65	5,14±0,40	5,29±0,48	5,19±0,43
HB (g/dL)	15,5	16,1±1,21	15,8±1,04	15,1±1,15	15,9±1,34	15,2±0,81	15,5±1,08	15,3±0,87
HCT (%)	47,3	45,2±1,97	46,3±2,50	45,4±1,97	46,4±3,53	46,3±4,57	46,9±2,99	46,3±4,32
MCV (fL)	82,4	83,5±8,18	86,1±3,00	83,3±7,66	85,5±3,88	90,1±8,82	89,2±8,79	89,4±8,35
PLT (103/μL)	209,0	265,5±49,4	272,6±63,3	259,2±49,9	376,5±96,8	258,3±64,2	254,9±48,2	275,2±77,8
GLUKOZ (mg/dL)	75	80,3±5,82	85,6±8,40	79,7±5,72	85,5±7,77	83,4±5,03	85,2±8,57	83,7±5,16
ALBUMİN (g/dL)	5,2	5,17±0,17	5,23±0,23	5,17±0,16	5,40±0,14	5,00±0,30	5,12±0,23	5,06±0,32

SG: Sporcu grubu, KG: Kontrol grubu, 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), VKİ: Vücut kütle indeksi, Max.VO₂: İndirek maksimal oksijen tüketimi, ALT: Alanin amino transferaz, AST: Aspartat amino transferaz, HB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, PLT: (Platelet) Trombosit

Tablo 11: eNOS intron 4VNTR genotiplemesine göre sporcu ve sedanter genotip gruplarına ait NO, eNOS, oksLDL, TBARS ve KKH klasik risk faktörleri değerleri ve karşılaştırılması

PARAMETRELER	SG				KG			
	SAA(n=1)	SAB(n=8)	SBB(n=37)	SAT(n=9)	CAA(n=2)	KAB(n=12)	KBB(n=29)	KAT(n=14)
NO(μ mol/L)	862,2	272,5 \pm 498,3	482,5 \pm 579,2	338,0 \pm 505,9	544,2 \pm 491,5	236,0 \pm 193,6	343,6 \pm 394,3	280,0 \pm 250,7
eNOS(pg/mL)	1700,7	2800,3 \pm 1177,5	2848,5 \pm 868,9	2678,1 \pm 1160,8	3302,5 \pm 1847,3	3245,4 \pm 903,1	2696,3 \pm 804,6	3253,5 \pm 976,2
OksLDL(pg/mL)	912,9	1252,4 \pm 273,7	1245,8 \pm 316,4	1214,7 \pm 279,9	1439,9 \pm 355,6	1511,3 \pm 232,3	1348,2 \pm 269,9	1501,1 \pm 236,7
TBARS(μ M)	8,1	12,1 \pm 14,4	9,57 \pm 6,31	11,7 \pm 13,5	7,55 \pm 4,93	9,24 \pm 6,47	9,24 \pm 6,89	9,00 \pm 6,14
TK(mg/dL)	139	161,4 \pm 29,7	155,3 \pm 21,2	158,9 \pm 28,8	175,5 \pm 24,7	160,3 \pm 20,1	150,0 \pm 34,2	162,5 \pm 20,5
LDL-K(mg/dL)	57	89,1 \pm 26,1	85,4 \pm 18,5	85,6 \pm 26,7	111,0 \pm 15,6	89,7 \pm 22,0	79,6 \pm 28,7	92,7 \pm 22,1
HDL-K(mg/dL)	64	46,4 \pm 17,4	46,8 \pm 10,5	48,3 \pm 17,3	44,0 \pm 1,41	44,9 \pm 11,2	46,2 \pm 8,82	44,8 \pm 10,3
TG(mg/dL)	91	153,1 \pm 145,9	116,7 \pm 81,7	146,2 \pm 138,0	102,5 \pm 54,4	144,3 \pm 110,0	121,3 \pm 68,4	138,4 \pm 103,4

SG: Sporcu grubu, KG: Kontrol grubu, 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), CAA: Kontrol grubuna ait aa genotipi, KAB: Kontrol grubuna ait ab genotipi, KBB: Kontrol grubuna ait bb genotipi, KAT: Kontrol grubuna ait Aa taşıyıcı genotip (aa+ab), NO: Nitrik oksit, eNOS: endotelial nitrik oksit sentaz, OksLDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, TBARS: Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, TK: Total Kolesterol, LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL-K: Yüksek yoğunluklu lipoprotein TG: Trigliserit

İki yönlü varyans analizi (ANOVA) yöntemi ile eNOS intron 4VNTR genotipleri ve egzersiz [(bb ve aT grupları)x(sporcu ve kontrol grupları)] arasında anlamlı bir etkileşim bulunmadı. (p> 0,05)

Tüm Katılımcıların Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analiz Sonuçları:

Yaş ile ALT (r=0,340; p=0,001), arasında; vücut ağırlığı (VA) ile ALT (r=0,307; p=0,003) arasında; VKİ ile kreatinin (r=0,390; p=0,000), ALT (r=0,523; p=0,000), TG (r=0,232; p=0,029), PLT (r=0,218; p=0,040) ve TOS(r=0,250; p=0,018) arasında;

YO-YO ile ALB (r=0,364; p=0,000), lökosit (r=0,377; p=0,000), TAS (r=0,239; p=0,024) ve oksLDL (r=-0,223; p=0,036) arasında arasında anlamlı ilişkiler bulundu (Tablo 12).

HDL ile (r=0,391; p=0,007), TOS (r=-0,386; p=0,008) ve TBARS (r=-0,401; p=0,006), LDL ile TK (r=0,818; p=0,000), eNOS (r=0,365; p=0,013) ve oksLDL (r=0,348; p=0,018), TK ile eNOS (r=0,348; p=0,018) ve oksLDL (r=0,320; p=0,030) kreatinin ile TAS (r=0,442; p=0,002) eritrosit ile eNOS (r=-0,306; p=0,039); eNOS ile oksLDL (r=0,827; p=0,000) trigliserit ile TOS (r=0,348; p=0,018) ve TBARS (r=0,614; p=0,000) arasında anlamlı ilişkiler bulundu (Tablo 13).

Tablo 12. Katılımcıların fiziksel ve fizyolojik parametreleri ile biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi

	YAŞ	BOY	VA	VKİ	YO-YO
ALT	,340**	,073	,307**	,359**	-,097 24
TG	,159	,036	,232**	,268*	-,114
KREATİNİN	-,069	-,008	,275**	,390**	-,183
PLT	-,030	-,073	,120	,218*	-,048
TOS	,129	,010	,239	,250*	-,143
ALBÜMİN	-,126	,035	-,192	-,327**	,364**
LÖKOSİT	-,034	-,076	-,122	-,165	,377**
TAS	,016	,054	,087	,092	,239*
oksLDL	-,222*	-,163	-,124	,039	-,223*

VA: Vücut Ağırlığı, VKİ: Vücut Kütle İndeksi, YO-YO: Aralıklı dayanıklılık testi (level-2), ALT: Alanin amino transferaz, TG: Trigliserit, PLT (Platelet): Trombosit, TOS: Total oksidan statü, TAS: Total antioksidan statü, OksLDL: Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, *p<0.05. **p<0.001.

Tablo 13: Katılımcıların biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi

	AST	ALT	ALB	TRIG	HDL	LDL	TK	Eritrosit	TOS	TAS	TBARS	ENOS	OKSLDL
AST	1,000	,736**	,019	,054	-,062	-,118	-,135	,272**	,145	,146	,032	-,242*	-,069
	.	,000	,858	,615	,566	,272	,206	,010	,177	,173	,764	,023	,520
ALT		1,000	-,083	,215*	-,157	,031	,041	,246*	,179	,148	,061	-,280**	-,144
		.	,437	,043	,142	,772	,702	,020	,094	,165	,570	,008	,178
ALB			1,000	-,121	,255*	-,078	-,020	,148	-,074	,019	,081	,066	-,005
			.	,258	,016	,465	,855	,167	,491	,860	,451	,538	,965
TRIG				1,000	-,420**	,006	,262*	-,215*	,356**	-,061	,675**	-,050	-,116
				.	,000	,954	,013	,043	,001	,573	,000	,642	,278
HDL					1,000	-,075	,103	,093	-,204	,029	-,239*	-,055	-,096
					.	,486	,337	,388	,056	,790	,024	,607	,369
LDL						1,000	,852**	-,009	-,005	,010	-,021	,231*	,167
						.	,000	,935	,963	,929	,842	,030	,118
TK							1,000	-,061	,112	-,027	,198	,234*	,139
							.	,571	,298	,805	,062	,027	,194
Eritrosit								1,000	-,077	,266*	-,136	-,214*	-,249*
								.	,475	,012	,203	,044	,018
TOS									1,000	-,177	,262*	-,065	-,011
									.	,097	,013	,543	,922
TAS										1,000	-,062	-,162	-,237*
										.	,567	,129	,025
TBARS											1,000	-,155	-,155
											.	,148	,147
ENOS												1,000	,775**
												.	,000
OKSLDL													1,000

Sporcuların Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analiz Sonuçları;

Boy ile VA ($r=0,652$ $p=0,000$) arasında; VA ile VKİ ($r=-0,687$ $p=0,000$) ve TOS ($r=0,336$ $p=0,022$) arasında; VKİ ile LDL ($r=0,303$ $p=0,041$), TK ($r=0,388$ $p=0,008$) ve TOS ($r=0,363$ $p=0,013$) arasında; eNOS ile OksLDL($r=0,827$ $p=0,000$) arasında; AST ile ALT ($r=0,852$ $p=0,000$) ALT ile TG ($r=0,320$ $p=0,030$), TG ile TBARS ($r=0,614$ $p=0,000$) ve TOS ($r=0,348$ $p=0,018$) arasında anlamlı ilişkiler bulundu.

HDL-K ile TOS ($r=-0,386$ $p=0,008$) arasında; LDL ile TK ($r=0,818$ $p=0,000$) eNOS ($r=0,365$ $p=0,013$) ve oksLDL ($r=0,348$ $p=0,018$) arasında; TK ile eNOS ($r=0,348$ $p=0,018$) ve OksLDL ($r=0,320$ $p=0,020$) arasında anlamlı ilişkiler bulundu (Tablo 14).

Sporcu grubunun fiziksel, fizyolojik parametreleri ve biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi sonucunda diğer parametreler arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Tablo14: Sporcuların fiziksel, fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi

	BOY	VKİ	TOS	eNOS	AST	TG	HDL-K	TK	OksLDL	LDL-K
VA	,652**	,687**	,336**	-,224	,285	,030	-,070	,044	-,203	-,040
LDL-K	-,267	,303**	,082	,365*	-,001	,069	-,135	,818**	,349**	-
TK	-,229	,388**	,042	,348*	,081	,267	-,009	-	,320**	,818**
TOS	,097	,363**	-	,026	,052	,348*	,386**	,163	,062	-,082
OksLDL	-,163	-,078	,081	,827**	-,176	-,209	,059	,320**	-	,348**
ALT	-,039	,473**	,137	-,123	,852**	,320**	-,336**	,294**	-,087	,155
TBARS	-,076	,117	,490*	-,320*	,455*	,614**	-,401**	,005	-,132	-,195 ²⁶

VKİ: Vücut kütle indeksi, TOS: Total oksidan statü, eNOS: Endotelial nitrik oksit, AST: Aspartat amino transferaz, TG: Trigliserit, HDL-K: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, TK: Total Kolesterol, OksLDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein, VA: Vücut ağırlığı, ALT: Alanin amino transferaz, TBARS: Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler

Kontrol Grubun Fiziksel, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreleri Arasındaki Korelasyon Analiz Sonuçları

Boy ile VA ($r=0,565$ $p=0,000$) arasında; LDL ile TK ($r=0,890$ $p=0,000$) arasında; eNOS ile OksLDL ($r=0,738$ $p=0,000$) arasında; AST ile ALT ($r=0,630$ $p=0,000$) arasında; TG ile TBARS ($r=0,742$ $P=0,000$) arasında anlamlı ilişkiler bulunmuştur (Tablo 15).

Kontrol grubunun fiziksel, fizyolojik parametreleri ve biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyon analizi sonucunda diğer parametreler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Tablo 15: Kontrol grubun fiziksel, fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri arasındaki önemli korelasyonlar

	VA	TK	eNOS	AST	TBARS
BOY	,565**	-,021	,088	,209	,049
LDL-K	,059	,890**	,105	-,005	,170
OksLDL	,053	,029	,738**	,013	-,038
ALT	,294	-,125	-,439**	,630**	-,025
TG	,398**	,292	,046	-,054	,742**

VA: Vücut ağırlığı, TK: Total Kolesterol, eNOS: Endotelial nitrik oksit, AST: Aspartat amino transferaz, TBARS: Tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddeler, LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein, OksLDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein ALT: Alanin amino transferaz, TG: Trigliserit

Tartışma

NO, antioksidan, vazodilatör ve bir çok metabolik regülatör özelliklere sahip bir gazdır. Nitrik oksit (NO), endotelial nitrik oksit sentaz protein (eNOS) düzeyi (Kingwell, 2000) ve eNOS intron 4a/b polimorfizmi koroner kalp hastalığı risk faktörleridir (Matyar, Attila, Acartürk, Akpınar ve İnal, 2005; Salimi et al., 2008).

Aerobik egzersizin endotel fonksiyonu ve kan NO düzeylerini iyileştirdiği bulunmuştur.

eNOS intron 4a/b polimorfizminin (eNOSP) plazma NO konsantrasyonu ve KKH ile ilişkili olduğu belirtilmektedir.

Bu nedenle aerobik egzersizin kan NO düzeyleri üzerindeki muhtemel etkisinde belirtilen polimorfizmin rolü olabilir. Ancak literatürde buna ilişkin benzer bir çalışmaya rastlanmadı.

Bu nedenle bu çalışmada düzenli aerobik egzersiz yapan futbol hakemlerinin kan nitrik oksit ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) protein düzeyi üzerine etkilerini ve bu muhtemel etkilerde eNOS intron 4a/b polimorfizminin rolünü araştırmayı planladık.

Aerobik antrenmanların NO, eNOS ve TBARS düzeyleri üzerine etkileri

Bu çalışmanın temel bulguları; polimorfizm gözönüne alınmadığında NO, eNOS, TBARS ve kan lipid ve lipoprotein düzeyleri için sporcu ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4). Ancak SG'nin eNOS değerleri KG'nin değerlerinden anlamlı olmasada %28,9 daha büyüktü (Tablo 4). SG'nin TAS değeri KG'ye göre anlamlı olarak daha büyük ($p=0,000$), buna karşı OSİ ($p=0,000$) ve oksLDL ($p=0,011$) değerleri anlamlı olarak daha küçüktü. Bu bulgular futbol hakemlerinde aerobik antrenmanların antioksidan sistemin kapasitesini arttırdığını gösterir.

Hem sporcu hem de kontrol grubunda eNOS ile oksLDL ($r=0,827$ $p=0,000$) arasında anlamlı ilişki bulundu. Ancak sporcu ve kontrol grubu arasında eNOS için anlamlı bir farklılık olmamasına rağmen sporcu grubunun oksLDL düzeyi kontrol grubundan anlamlı olarak daha küçük ($p=0,000$) bulunmasında yukarıda bulunan ilişkinin anlamlı bir etkisi olmadığı söylenebilir.

Poveda et al., (1997) 'nın koşucularda ve bisikletçilerde yaptığı bir treadmill egzersizi çalışmasında bizim çalışmamıza benzer olarak serum NO düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını bulmuşlardır.

Ancak Ozkol, Turgay, Vural, Akşit ve Rudarlı Nalçakan (2012)'nin antrene voleybolcuların ve yüzücülerin kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmada; bizimkinden farklı olarak aerobik egzersizin kan NO düzeylerini iyileştirdiği bulunmuştur.

Bir başka çalışmada Turgay et al., (2006) bizim çalışmamıza benzer şekilde, antrene futbolcu grubunun bazal kan NO düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olmasada daha büyük bulunmuştur.

Aerobik egzersizin bazal kan NO (BKNO) düzeylerini arttırdığı ve BKNO ile aerobik kapasite arasında bir ilişkinin olduğu belirtilmektedir (Kingwell, 2000). Bu çalışma verileri bizim çalışmamızdan farklıdır.

Belirtilen çalışmalar arasındaki farklılıklarda yapılan egzersizin tipi, süresi, çalışmasının dizaynı, çalışmaya katılan kişilerin bireysel farklılıklarının yanı sıra genetik faktörlerinin de etkisi olabilir.

Aerobik Egzersizin NO ve eNOS Düzeyleri Üzerine Etkisi ve eNOSP' nin Rolü

Polimorfizm göz önüne alındığında; tüm genotip gruplar; [aa homozigot grubu (aa), ab heterozigot grubu (ab), bb homozigot grubu (bb) ve a taşıyıcı grubu (aT, TaT= aa+ab)] arasında ve ayrıca gruplar için karşılaştırmalarda yukarıda incelendiğimiz tüm temel parametreler; NO, eNOS, TBARS ve kan lipid ve lipoprotein düzeyleri için sporcu ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Tablo 8, 9, 10,11).

Salimi et al., (2008) yaptığı bir çalışmada; eNOSP' nin koroner kalp hastalığıyla ilişkili olduğunu, bizim çalışmaya benzer olarak bazal kan NO düzeyi ile eNOSP arasında anlamlı bir ilişkisi olmadığı bulunmuştur.

Literatürde sağlıklı bireyler üzerinde aerobik antrenmanların NO ve eNOS üzerindeki muhtemel etkisinde eNOSP' nin rolünü inceleyen bir çalışmaya rastlanmadığından tartışmamız sınırlı kalmıştır.

Bu çalışmada; kontrol grubunda, aT genotip grubunun eNOS (%17) değeri bb homozigot grubundan daha büyük bulundu. Bu durum belirtilen polimorfizminin bir sonucu olabilir. Bu farklılık bb genotip grubu için; hem ateroskleroz riski açısından hem de sportif performans açısından bir dezavantaj olarak düşünülebilir. Ancak sporcu genotip grupları arasında eNOS için böyle bir farklılık bulunmadı. Bu farklılık aerobik antrenman adaptasyonlarının bir sonucu olabilir. Bu bulgu, genetik-çevre etkileşiminin bir sonucu olabilir.

Kontrol grubunda; bb genotip grubunun NO (%26), AST (%86) ve ALT (%23) değerleri aT taşıyıcı grubundan anlamlı olmasada daha büyüktü.

Aslında kontrol grubunda aT taşıyıcı grubunun eNOS değerlerinin bb grubundan daha büyük olmasına rağmen beklentimizin tersine; kontrol bb homozigot grubunun serum NO değerleri aT taşıyıcı gruba göre daha büyük bulundu.

Bu bulgular kontrol grubunda tespit edilen serum NO değerlerinde eNOS'dan başka nNOS'unda önemli katkısının olabileceğini işaret eder.

Sporcularda; homozigot bb grubunun NO (%29) değerleri aT grubununkinden daha büyük bulundu. Bu bulgu kontrol grubundaki sonuçlara paraleldir.

Sporcularda; aT grubunun oksidatif stresin göstergeleri olan TBARS (%18) ve TOS (%16) değerinin yanısıra kas hasarının bir göstergesi olarak kullanılan AST (%18) değerleri homozigot bb grubununkilerden anlamlı olmasa da daha büyüktü.

Bu bulgular sporcu aT genotip grubun aerobik antrenmanlarla oluşan oksidan strese karşı daha duyarlı olmasının bir sonucu olabilir.

aT grubunda antrenman nedeniyle NO'nun salınımında önemli bir farklılığın görülmemesinde, yukarıda belirtilen duyarlılığın rolü olabilir. Çünkü oksidatif stresin NO'nun biyoyararlılığını düşürdüğü bilinmektedir (Kingwell, 2000). Ayrıca bu grupta spor sakatlıkları insidansında da bir artış olması beklenebilir. Bu çalışmada aerobik egzersizin NO ve eNOS üzerinde anlamlı bir etkisi gözlenmedi.

Aerobik Egzersizin Klasik KKH Risk Faktörleri KLLP Üzerine Etkisi ve İtron 4a/b Polimorfizminin Rolü

Aerobik egzersizin KLLP değerleri üzerinde olumlu etkisi bildirilmektedir (Whelton, Chin, Xin ve He, 2002b). Ancak bu çalışmada SG ve KG arasında KLLP değerleri için anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Senti et al., (2000) yaptıkları kesitsel bir çalışmada bizim sonuçlarımızın aksine düzenli fiziksel aktivite ve aerobik egzersizin, serum TG değerlerini düşürdüğü ve HDL-K değerlerini arttırdığı gösterilmiştir.

Owens, Matthews, Wing ve Kuller (1990) yaptığı bir çalışmada düzenli aerobik egzersizin bizimkinden farklı olarak HDL-K seviyelerinin anlamlı düzeyde arttığı bulunmuştur.

Bir diğer aerobik çalışmada; Nalcakan et al., (2016) orta yaşlı Türk kadınlarında, düzenli aerobik egzersiz yapan sporcu grubunun kan lipid ve lipoprotein düzeylerinin kontrol grubuna göre bizimkinden farklı olarak daha antiaterojenik olduğu bulundu.

Diğer bir çalışmada ise anaerobik egzersizin HDL-K düzeyleri üzerinde olumlu etkisi bildirilmiştir (Turgay, Şişman ve Aksu, 2015)

Aerobik egzersizin KLLP üzerindeki olumlu etkileri genellikle TG düzeylerinin düşmesi ve buna paralel olarak HDL-K düzeylerinin artması şeklinde olduğu belirtilmektedir. Bu değişiklikler artan lipoprotein lipaz aktivitesindeki artıştan kaynaklandığı belirtilmektedir (Turgay et al., 2015).

Egersizin KLLP üzerinde etkisinin egzersizin şiddeti, süresi, tipi ve egzersiz öncesiki KLLP düzeyleri ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Halbert et al., 1999). Bu çalışmalar arasındaki farklılıklarda belirtilen faktörlerin rolü olabilir.

Bu çalışmada sporcu grubunda HDL-K ile TOS arasında anlamlı ilişki bulundu($r = -0,386$ $p = 0,008$). Sporcuların serum TOS düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak daha düşük bulundu. Bu nedenle sporcuların HDL-K düzeylerinin kontrol grubuna göre daha büyük olması beklenir. Ancak sporcu grubunda böyle bir farklılık gözlenmedi. Bu sonuçlar bu çalışmada egzersiz antrenmanlarının HDL-K üzerindeki etkisinin oksidatif stresten bağımsız olduğu görüşünü aklı getirmektedir.

Sonuç ve Öneriler

Bu bulgular düzenli aerobik egzersizin;

- a) Antioksidan kapasiteyi arttırdığını, OksLDL düzeyini düşürdüğünü
- b) Kan NO ve eNOS düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmadığını, ayrıca Enos intron 4a/b polimorfizminin de bu sonuçlar üzerinde anlamlı bir rolü olmadığını,
- c) Kontrol genotip grupları arasında serum eNOS ve NO değerleri arasındaki farklılıklarda belirtilen polimorfizmin rolü olabileceğini,
- d) Kan lipid ve lipoprotein düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını gösterir.

Ancak bu konularda daha güvenli sonuçlar elde edebilmek için çok sayıda katılımcı ile benzer çalışmaların yapılması önerilir.

Kaynaklar

- Adam-Vizi, V., & Chinopoulos, C. (2006). Bioenergetics and the formation of mitochondrial reactive oxygen species. *Trends in Pharmacological Sciences*, 27(12), 639–645. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.10.005>
- Atalık K.Esra, D. N. (1997). Nitrik oksit ve fizyolojik etkileri. *Genel Tıp Derg*, 7(3), 167–169. Retrieved from <http://www.geneltip.org/upload/sayi/12/GTD-00058.pdf>
- 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*, 12(3), 289–293. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2007.00787.x>
- Blair, S. N., Jacobs, D. R., & Powell, K. E. (n.d.). Relationships between exercise or physical activity and other health behaviors. *Public Health Reports (Washington, D.C. : 1974)*, 100(2), 172–180. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3920715>
- Britten, M. B., Zeiher, A. M., & Schächinger, V. (1999). Clinical importance of coronary endothelial vasodilator dysfunction and therapeutic options. *Journal of Internal Medicine*, 245(4), 315–327. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.1999.00449.x>
- Casas Juan P., Cavalleri Gianpiero L., Bautista Leonelo E., Smeeth Liam, Humphries Steve E., H., & Aron D. (2006). Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms and Cardiovascular Disease: A HuGE Review. *Am J Epidemiol*, 164, 921–935. Retrieved from https://watermark.silverchair.com/kwj302.pdf?token=AQECAHi208BE49Oan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAakMwggI_BgkqhkiG9w0BBwagggIwMIICLAIBADCCAiUGCSqGSib3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMIUWBkYZgjFU11D96AgEQgIIB9mUMoo6wmftrguKuJuFdD9c0sum0CFOLWIW-1MUaKBVr8_Zz
- Çekmen, B. M., Turgut, M., Türköz, Y., Aygün, A. D., & Gözükar, M. E. (2001). Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)' ın Fizyolojik ve Patolojik Özellikleri. *Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi*, 10, 226–236.
- Cubriilo, D., Djordjevic, D., Zivkovic, V., Djuric, D., Blagojevic, D., Spasic, M., & Jakovljevic, V. (2011). Oxidative stress and nitrite dynamics under maximal load in elite athletes: relation to sport type. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 355(1–2), 273–279. <https://doi.org/10.1007/s11010-011-0864-8>
- Deng, F., Hu, Q., Tang, B., He, F., Guo, S., Chen, J., ... Wang, S. (2007). Endothelial nitric oxide synthase gene intron 4, 27 bp repeat polymorphism and essential hypertension in the Kazakh Chinese population. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(5), 311–316.

Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17492127>

- Djordjevic, D., Jakovljevic, V., Cubrilo, D., Zlatkovic, M., Zivkovic, V., & Djuric, D. (2010). Coordination between nitric oxide and superoxide anion radical during progressive exercise in elite soccer players. *The Open Biochemistry Journal*, 4, 100–106. <https://doi.org/10.2174/1874091X01004010100>
- Doğan, P. (2010). *Aerobik egzersizin kadınlarda ve erkeklerde anksiyeteye olan etkisinin araştırılması*. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir. Retrieved from <http://acikerisim.deu.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/12345/10014/267003.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ekmekçi, A., Ozcan, 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. <https://doi.org/10.2143/AC.68.5.2994468>
- Eloise R. Giblett. (n.d.). Polymorphism Biology. Retrieved from <https://www.britannica.com/science/polymorphism-biology>
- Erbaş, D. (2002). Nitrik oksit: özellikleri ve egzersizdeki rolü. *Journal of Sport Sciences*, 13(1), 33–39. Retrieved from http://www.sbd.hacettepe.edu.tr/fulltext/2002_1_4.pdf
- Farney, T. M., Mccarthy, C. G., Canale, R. E., Schilling, B. K., Whitehead, P. N., & Bloomer, R. J. (2012). Absence of blood oxidative stress in trained men after strenuous exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 44(10), 1855–1863. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3182592575>
- Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative Stress. *Sports Medicine*, 36(4), 327–358. <https://doi.org/10.2165/00007256-200636040-00004>
- Förstermann, U., & Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*, 33, 829–837. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>
- Ghizal, F., Sharma, Vv. P., Das, S. K., & Mahdi, A. A. (2015). Oxidative stress and antioxidative parameters in patients with spinal cord injury: implications in the pathogenesis of disease. *Spinal Cord*, 53(1), 3–6. <https://doi.org/10.1038/sc.2014.178>
- Giulivi, C. (1998). Functional implications of nitric oxide produced by mitochondria in mitochondrial metabolism. *The Biochemical Journal*, 332 (Pt 3)(Pt 3), 673–679. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9620869>
- 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.

<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000080893.55729.28>

- Halbert, J., Silagy, C., Finucane, P., Withers, R., & Hamdorf, P. (1999). Exercise training and blood lipids in hyperlipidemic and normolipidemic adults: A meta-analysis of randomized, controlled trials. *European Journal of Clinical Nutrition*, *53*, 514–522. Retrieved from <http://www.stockton-press.co.uk/ejcn>
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *The Biochemical Journal*, *219*(1), 1–14. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6326753>
- Halliwell Barry, G. J. M. (2007). *Free radicals in biology and medicine*. oxford.
- Higashi, Y., & Yoshizumi, M. (2004a). Exercise and endothelial function: Role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. *Pharmacology & Therapeutics*, *102*(1), 87–96. <https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2004.02.003>
- Karatosun H, Akdogan M, Çalıskan S, C. M. (2005). Quantitative assesment of serum nitric oxide, lactic acid and blood flow rate following supramaximal exercise. *Medicina Dello Sport*, *58*, 17–21.
- Kelm, M. (1999). Nitric oxide metabolism and breakdown. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1411*(2–3), 273–289. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10320663>
- King, A. C., Taylor, C. B., Haskell, W. L., & DeBusk, R. F. (1989). Influence of Regular Aerobic Exercise on Psychological Health: A Randomized, Controlled Trial of Healthy Middle-Aged Adults. *American Psychological Association*, *8*(3), 305–324.
- Kingwell, B. A. (2000). Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *14*(12), 1685–1696. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10973917>
- Knowles, R. G., & Moncada, S. (1994a). *Nitric oxide synthases in mammals*. *Biochem. J* (Vol. 298). Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1137932/pdf/biochemj00092-0010.pdf>
- Laporte, R. E., Montoye, H. J., & Caspersen, C. J. (n.d.). Assessment of physical activity in epidemiologic research: problems and prospects. *Public Health Rep*, *100*(9), 361–362. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1424736/pdf/pubhealthrep00100-0085.pdf>
- Li, H., Cui, H., Kundu, T. K., Alzawahra, W., & Zweier, J. L. (2008). Nitric Oxide Production

- from Nitrite Occurs Primarily in Tissues Not in the Blood. *Journal of Biological Chemistry*, 283(26), 17855–17863. <https://doi.org/10.1074/jbc.M801785200>
- Maiorana, A., O’driscoll, G., Dembo, L., Cheetham, C., Goodman, C., Taylor, R., ... Tay-Lor, R. (2000). *Effect of aerobic and resistance exercise training on vascular function in heart failure*. Retrieved from <http://www.ajpheart.org>
- Martens, C. R., Kirkman, D. L., & Edwards, D. G. (2016). The Vascular Endothelium in Chronic Kidney Disease. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 44(1), 12–19. <https://doi.org/10.1249/JES.0000000000000065>
- Matyar, S., Attila, G., Acartürk, E., Akpınar, O., & İnal, T. (2005). eNOS gene intron 4 a/b VNTR polymorphism is a risk factor for coronary artery disease in Southern Turkey. *Clinica Chimica Acta*, 354(1–2), 153–158. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.11.022>
- Moreno, H. (2008). Genetic polymorphisms and haplotypes of eNOS in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 109(1), 181–182. <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9630-8>
- Murray RK, Mayes PA, Granner DK, R. V. (1993). *Harper’in Biyokimyası*. (B. . Menten, Gülriz. , Ersöz, Ed.) (22nd ed.).
- Nalcakan, G. R., Varol, S. R., Turgay, F., Nalcakan, M., Zeki Ozkol, M., & Oguz Karamizrak, S. (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, 462–468. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2015.01.010>
- Owens, J. F., Matthews, K. A., Wing, R. R., & Kuller, L. H. (1990). Physical activity and cardiovascular risk: A cross-sectional study of middle-aged premenopausal women. *Preventive Medicine*, 19(2), 147–157. [https://doi.org/10.1016/0091-7435\(90\)90016-D](https://doi.org/10.1016/0091-7435(90)90016-D)
- Ozkol, M. Z., Turgay, F., Vural, F., Akşit, T., & Rudarlı Nalçakan, G. (2012). The Effects of Chronic Aerobic and Anaerobic Exercise on Blood Nitric Oxide Levels. *The Effects Of Chronic Aerobic And Anaerobic Exercise On Blood Nitric Oxide Levels. Türki... Article in Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 32(6), 1607–1617. <https://doi.org/10.5336/medsci.2011-27077>
- Öztaşan N, Ocak Y, Küçük Kurt İ, Akgün L, E. A. (2007). Effects of Football Matches On Lipid Peroxidation And Antioxidant In Blood Of Soccers. *Çevrimiçi Dergi*, 1(2).
- Passarge, E., Lüleci, G., Sakızlı, M., & Alper, Ö. (2009). *Renkli genetik atlası*. Nobel Tıp Kitapevleri.
- Pedersen, B. K., & Saltin, B. (2006). Evidence for prescribing exercise as therapy in chronic disease. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 16(S1), 3–63.

<https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2006.00520.x>

- Pieme, C. A., Tatangmo, J. A., Simo, G., Biapa Nya, P. C., Ama Moor, V. J., Moukette Moukette, B., ... Sobngwi, E. (2017). Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and non-enzymatic antioxidants in African patients with type 2 diabetes. *BMC Research Notes*, *10*(1), 141. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2463-6>
- Poveda, J. J., Riestra, A., Salas, E., Cagigas, M. L., López-Somoza, C., Amado, J. A., & Berrazueta, J. R. (1997). Contribution of nitric oxide to exercise-induced changes in healthy volunteers: effects of acute exercise and long-term physical training. *European Journal of Clinical Investigation*, *27*(11), 967–971. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9395795>
- Radák, Z. (2000). Free radicals in exercise and aging. *Free Radicals in Exercise and Aging*. Retrieved from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20003009997>
- Reid, M. B. (2001). Nitric oxide, reactive oxygen species, and skeletal muscle contraction. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *33*(3), 371–376. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11252061>
- Rodin, J., & Plante, T. G. (1989). *The psychological effects of exercise and the Sports Studies Commons*. Psychology Commons, Public Health Commons. Retrieved from <http://scholarcommons.scu.edu/psych>
- S. Salimi, S., M. Firoozrai, M., I. Nourmohammadi, I., M. Shabani, M., S.M. Shafiee, S. M., A. Mohebbi, A., & H. 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. <https://doi.org/10.2143/AC.63.2.2029533>
- Şen CK. (1995). Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal of Applied Physiology*, *79*, 675–686.
- Senti, M., Aubo, C., Elosua, R., Sala, J., Tomas, 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. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2272\(200003\)18:3<276::AID-GEPI6>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2272(200003)18:3<276::AID-GEPI6>3.0.CO;2-J)
- Siscovick, D. S., LaPorte, R. E., & Newman, J. M. (1985). The disease-specific benefits and risks of physical activity and exercise. *Public Health Reports (Washington, D.C.: 1974)*, *100*(2), 180–188. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3920716>
- Stamler, J. S., & Meissner, G. (2001). *Physiology of Nitric Oxide in Skeletal Muscle*. Retrieved from <http://physrev.physiology.org>
- Stuehr, D. J., Kwon, N. S., Nathan, C. F., Griffith, O. W., Feldman, P. L., & Wiseman, J. (1991).

- N omega-hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. *The Journal of Biological Chemistry*, 266(10), 6259–6263. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1706713>
- 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. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1886475>
- Taylor, C. B., Sallis, J. F., & Needle, R. (1985). The relation of physical activity and exercise to mental health. *Public Health Reports (Washington, D.C. : 1974)*, 100(2), 195–202. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3920718>
- Toda, N., Tanabe, S., & Nakanishi, S. (n.d.). Nitric Oxide-Mediated Coronary Flow Regulation in Patients with Coronary Artery Disease: Recent Advances. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1283220>
- Trapp, D., Knez, W., & Sinclair, W. (2010). Could a vegetarian diet reduce exercise-induced oxidative stress? A review of the literature. *Journal of Sports Sciences*, 28(12), 1261–1268. <https://doi.org/10.1080/02640414.2010.507676>
- Turgay, F. (1997). *Aerobik ve anaerobik eşik hızlarında yapılan iki değişik egzersizin kan lipid ve lipoproteinleri üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi, İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD,*
- Turgay F. (2004). *Düzenli egzersizin kan paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri ile homosistein ve nitrik oksit düzeyleri üzerine etkilerinin incelenmesi. Doktora tezi, İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya AD. 2004.* Retrieved from <https://www.google.com.tr/search?q=Turgay+VE.+Düzenli+egzersizin+kan+paraoksone+z+ve+arilesteraz+aktiviteleri+ile+homosistein+ve+nitrik+oksit+düzeyleri+üzerine+etkilerinin+incelenmesi.+Doktora+tezi,+İzmir,+Dokuz+Eylül+Üniversi>
- Turgay, F., İşlekel, H., Karamızrak, S. O., Yenisey, Ç., Kocahan, T., & Selamoğlu, S. (2006). Orta yaşlı erkeklerde iki farklı sağlıklı yaşam sporunun serum nitrik oksit düzeyleri üzerine etkileri. *Spor Hekimliği Dergisi*, 41(4), 105–112. Retrieved from <https://www.sporhekimligidergisi.org/eng/full-text/168/tur>
- 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. <https://doi.org/10.5551/jat.25809>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The*

International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39(1), 44–84.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>

- Vetrani, C., Costabile, G., Di Marino, L., & Rivellese, A. A. (2013). Nutrition and oxidative stress: a systematic review of human studies. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 64(3), 312–326. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.738651>
- Whelton, S. P., Chin, A., Xin, X., & He, J. (2002). Effect of Aerobic Exercise on Blood Pressure. *Annals of Internal Medicine*, 136(7), 493. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-136-7-200204020-00006>
- Williams, S. L., Strobel, N. A., Lexis, L. A., & Coombes, J. S. (2006). Antioxidant Requirements of Endurance Athletes Implications for Health, *Nutrition Reviews* Volume 64, Issue 3. *Nutrition Reviews*, 64(3), 93–108. <https://doi.org/10.1301/nr.2006.mar.93>
- Yeh, C.-C., Santella, R. M., Hsieh, L.-L., Sung, F.-C., & Tang, R. (2009). An intron 4 VNTR polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with early-onset colorectal cancer. *Int J Cancer*, 124(7), 1565–1571. <https://doi.org/10.1002/ijc.24114>

Ekler

EK 1: Etik Kurul Onayı

BAŞVURU BİLGİLERİ						
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Düzenli Aerobik Egzersizin Kan Nitrik Oksit Ve Endotel Nitrik Oksit Sentaz Protein Düzeyi Üzerine Etkisi Ve Endotel Nitrik Oksit Sentazıntron 4a/B Polimofizminin Rolü					
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-					
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Faruk TURGAY					
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Spor Sağlık Bilimleri					
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı					
VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-					
DESTEKLEYİCİ	Bilimsel Araştırmalar Proje Fonu					
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"/> Gözlensel İlaç Çalışması <input type="checkbox"/> Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması <input type="checkbox"/> In Vitro Tıbbi Tanı Cihazları İle Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları <input type="checkbox"/> İlaç Dışı Klinik Araştırma <input checked="" type="checkbox"/> Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	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	-	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>			
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	15.02.2018	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>			
OLGU RAPOR FORMU	-	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>			
SİGORTA	<input type="checkbox"/>					
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	imza tarihi : 15.02.2018				
Diğer	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 18-3/41 Tarih: 06.03.2018					
Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun olduğuna 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. Ayşe EROL					
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Kabılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ayşe EROL Başkan	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Mine HEKİMGİL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Patoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input 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 checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşe EROL		Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa	
			22	17.10.2017/06	1/2	



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Düzenli Aerobik Egzersizin Kan Nitrik Oksit Ve Endotel Nitrik Oksit Sentaz Protein Düzeyi Üzerine Etkisi Ve Endotel Nitrik Oksit Sentazıntron 4a/B Polimofizminin Rolü
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 18-3/41				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ayça Arzu SAYINER Üye	Mikrobiyoloji	D.E.Ü. Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Tıbbi Viroloji BD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Şebnem PIRILDAR Üye	Ruh Sağlığı Ve Hastalıklar	E.Ü. Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı Ve Hastalıklar AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input 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 checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Mine DÜNDAR ÇÖMLEKOĞLU Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Nevin ORUÇ Üye	Gastroenteroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input 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 checked="" type="checkbox"/> E <input 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 checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Sema KALKAN UÇAR Üye	Çocuk Metabolizma Hastalıklar	E.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıklar AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Aynur UYSAL TORAMAN Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	E.Ü. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yard. Doç. Dr. Candide ŞENTÜRK	Ceza ve Ceza Muhakemesi Hukuku	Yaşar Üniversitesi Hukuk Fakültesi	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input 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 checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

- * Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

ASLI GİBİDİR
Sumru FESİCİOĞLU
EÜTF Klinik Araştırmaları
Etik Kurulu Sekreteri

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

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 17)

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?

Nitrik oksit (NO)'in, damarların genişlemesini, lokal hücre büyümesinin düzenlenmesi, damarların yeniden yapılanması, kan pulcuğu (Trombosit) denilen ve kanın pıhtılaşmasında görev alan hücrelerin ve kanın diğer hücrelerinin oluşturduğu hasarlardan korunması gibi damar metabolizmasının yani sağlığının sürdürülmesinde önemli etkisi vardır. Bu etkiler NO'nun ateroskleroz yani arter denilen damarlarımızda sonunda tıkanmaya neden olabilecek bir hastalık sürecinin önlenmesindeki rolünü açıklar. NO sentezi, NO sentaz enzimi (NOS) aracılığıyla gerçekleşmektedir. NOS'un genetik olarak farklı üç izoformu (yani fonksiyonları başka doku ve organlarda görev yapan türleri) tespit edilmiştir. Bunlar; düşük miktarda üretilerek damarsal gerginlik veya gevşeme gibi fonksiyonları ayarlayan endotelial (yani damarın içini döşeyen epitel dokuya ait) izoformu (eNOS), yine düşük miktarda üretilen sinirsel şekillenme ve nörotransmisyonu (sinir iletimini) düzenleyen bir nöronal (sinirsel) izoformu (nNOS) ve yüksek miktarda üretilerek, immün/inflamatuar olaylarda rol alan uyarılabilir formu (iNOS) dur. Düzenli aerobik (enerji için oksijen kullanılarak yapılan) egzersizin, endotelial NO sentaz gen ekspresyonunu (üretimini) artırarak NO üretimini arttırdığı ve böylece NO biyoyararlılığını iyileştirdiği düşünülmektedir. İskelet kasının hem hızlı kasılan, hemde yavaş kasılan kas fibrillerinin her iki NOS proteinini de sentezlediği saptanmıştır. Hızlı kasılan–glikolitik kaslarda nNOS, oksidatif kaslarda ise eNOS seviyeleri önemlidir. Aerobik (oksijen kullanma) kapasite ile bazal kan NO düzeyleri arasında ilişkiler bulunmuş ve aerobik egzersizlerin, bazal kan NO düzeyleri üzerindeki olumlu etkileri tespit edilmiştir. Ancak aerobik egzersizin kan NO düzeyleri üzerine etkisinde endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) protein düzeyi üzerine etkisi ve eNOS intron 4 a/b polimorfizminin yani bu enzimi kodlayan (üreten) genlerdeki bazı hataların rolü belirsizdir. Bu çalışma sonuçları bu konularda literatüre önemli bilgiler sağlayacaktır. Ayrıca egzersizin kan lipid ve lipoproteinleri üzerine etkisi ve eNOS intron 4 a/b polimorfizminin rolü hakkında bilgi verecektir.

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, 18-35 yaş arasında, 40-50 futbol hakemi 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 18-35 yaş arası futbol hakemi (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 80-100 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.

Yapılacak Diğer Fizyolojik Testler: Katılımcıların dayanıklılık düzeylerini belirlemek için saha koşullarında YOYO aralıklı dayanıklılık testi yapılacaktır. YOYO isminin bir açılımı mevcut değildir. Ancak dünyaca kabul edilen belirtilen amaçlarla yapılan standart bir testin adıdır.

YOYO aralıklı dayanıklılık testinde hızları gittikçe artan toplam 20x2=40m'lik koşular içeren standart bir test bataryasıdır. Ardından 5 metrelik yürüyüş veya jog atarak aktif dinlenme gerçekleştirilir. Test, istemli

bitkinliğe kadar devam eden maksimal bir koşu sonrası bitirilir. Toplam katedilen mesafe dayanıklılık performansının bir ölçüsü olarak kaydedilir. Belirtilen dayanıklılık testi kişilerin performans düzeylerine bağlı olarak yaklaşık 10-30 dakika arasında sürmektedir.

Ayrıca YOYO aralıklı endurans testlerinin kontrol grubundaki kişilerin eski sporcular olması nedeniyle belirtilen egzersiz testlerini yapabilecek kapasitede olup sağlık açısından da ciddi bir risk yaratmayacağını düşünmekteyiz.

Bu testlerden en az 3 gün sonra katılımcılardan yemekten en az 3-4 saatlik bir yemek sonrası kol venasından tokluk kanı alınacaktır. Alınan kanlardan araştırma amacıyla aşağıda belirtilen biyokimyasal parametreler bakılacaktır.

Yapılacak Testler/Laboratuvar Tetkikleri:

Gönüllülerden soğutulmuş, vakumlu, biri mor kapaklı EDTA'lı 2 tüpe toplam 7,5 mL, diğeri 9 ml jelli 2 adet sarı serum tüpüne venöz kan örnekleri alınacaktır. Serum düz kan örnekleri 20 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000g'de 15 dk santrifüjlenerek serumları ayrılacaktır. EDTA'lı 1.tüpteki kan aynı gün içerisinde hemogram, diğere EDTA'lı tüpteki kan örneklerinden elde edilen lökositlerden izole edilen DNA numunelerinden endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) intron 4 a/b polimorfizmi belirlenecektir. Serum örneklerinden; endotel nitrik oksit sentaz enzim (eNOS) proteini ve okside düşük dansiteli lipoprotein (okSLDL) düzeyi, kan lipid ve lipoprotein düzeyleri; NO, total antioksidan statüsü (TAS), total oksidan statüsü (TOS), tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddeler (TBARS), kan şekeri, kreatinin, albumin, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) enzim aktiviteleri ve hemogram analizleri saptanacaktır. Serum ve plazma numuneleri analizler yapılincaya kadar derin dondurucuda (-82 °C de) saklanacaktır. Analizler 1-2 ay içerisinde 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 diğere ilaçlardan kesinlikle kullanmamak sizin sorumluluğunuzdur. Bu koşullara uymadığınız durumlarda araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 80-100 kişidir.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

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

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Araştırmalarımıza göre futbol hakemlerinde düzenli aerobik egzersizin kan nitrik oksit ve eNOS protein düzeyleri ile oksidatif stres üzerine etkisinde endotel nitrik oksit sentaz intron 4 a/b polimorfizminin rolüne ilişkin literatürde bir çalışmaya rastlanmamıştır. Literatürde bu konuya ilişkin ilk çalışma olacaktır. Düzenli egzersizin; kan nitrik oksit düzeyleri, eNOS proteini, kan lipid ve lipoprotein düzeyleri üzerine etkisi ve endotel nitrik oksit sentaz intron 4 a/b polimorfizminin rolü hakkında literatüre katkı sağlayacaktır.

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 diğere ilaçlar kesinlikle kullanılmamalıdır.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

1. Araştırma kapsamında yapılacak çalışmaların tamamına katılamıyor 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 (+90) 5324670712 no.lu telefondan Uzm. Dr. Onur Oral ve (+90)5385260425 no.lu telefondan da 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 Bilimsel araştırma projesi (BAP) ne başvurulacaktır.

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.

Çalışmaya Katılma Onayı:

“Düzenli aerobik egzersizin kan nitrik oksit ve endotel nitrik oksit sentaz protein düzeyi üzerine etkisi ve endotel nitrik oksit sentazıntron 4a/b polimofizminin rolü” çalışması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar vb.);

(Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)

- Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.”

Araştırma sonuçlarının/alınan bilgilerin (performans testi ve tahlil sonuçlarının) gönüllü ile paylaşılması:

- Bilgiyi almak istiyorum.
- Bilgiyi almak istemiyorum.

Bilgiyi almadığınız durumda yasal süresi içerisinde bizde saklanarak kimseyle paylaşılmayacaktır.

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 4 sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırıcıya 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 veriyor 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 vasinin		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAşTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAşTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI	Doç. Dr. Faruk Turgay	
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI	YELİZ YOL UÇAR	
GÖREVİ		
TARİH		

Teşekkür

Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Doç. Dr. Dr. Faruk TURGAY'a

Ayrıca kıymetli zamanını benim hazırladığım bitirme projesine ayırıp değerlendirdiği için ve üniversite hayatımın bu son döneminde bana kattığı her bilgi için Doç. Dr. Gülbin RUDARLI NALÇAKAN' a

Laboratuvar ölçümlerinde, verilerin toplanmasında yardımları olan Doktora öğrencisi Oya YİĞİTTÜRK'e,

Çalışmama katılan gönüllülere,

Çalışmam boyunca manevi desteklerini benden esirgemeyen ve sabırla destekleyen, çok değerli aileme ve eşim Mert UÇAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İzmir, 2018

Yeliz YOL UÇAR

Özgeçmiş

2011-2016 yılları arasında Ankara Hacettepe Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Öğretmenliği bölümünde okudum.

2016- halen İzmir Ege Üniversitesi Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalında tezli yüksek lisans öğrencisiyim.

E-mail: yeliz_yelapa_54@hotmail.com

