

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENTİTÜSÜ

**ELİT SPORCULARDA OKSİDATİF STRES ETKİLERİNİN SDS-PAGE İLE
KARAKTERİZASYONU**

Zeliha BAŞTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Mehmet KILIÇ

KONYA-2016

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENTİTÜSÜ

**ELİT SPORCULARDA OKSİDATİF STRES ETKİLERİNİN SDS-PAGE İLE
KARAKTERİZASYONU**

Zeliha BAŞTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR ANABİLİM DALI

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından proje 15202022 numarası ile desteklenmiştir.

Danışman

Prof. Dr. Mehmet KILIÇ

KONYA-2016

ÖNSÖZ

Sportif performans her türlü sportif aktivite için önemli olmakla birlikte, maksimal ve submaksimal yüklenmeler tüm spor dallarında branşın karakteristik özelliklerini geliştirmek için farklı antrenman periyodlarında farklı yoğunluk ve şiddette örüntülü bir biçimde uygulanmaktadır. Sporsal antrenmanlarda, organizma günlük yaşantının ve/veya fiziksel uygunluk düzeyinin üzerinde yüklenmelere maruz bırakılmaktadır. Bu yüklenmelerin doğal sonucu olarak kullanılan oksijen miktarı artmaktadır. Fizyolojik şartlarda gerçekleşen birçok hücresel aktivite oksidan oluşumuna yol açar. Diğer çevresel faktörlerin yanısıra egzersiz sırasında oksijen kullanımındaki artışın fizyolojik açıdan organizmayı oksidatif stres oluşumuna maruz bıraktığı bilinmektedir.

Lisans, yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmamın başından sonuna kadar değerli bilgilerini ve tecrübelerinin hiçbir zaman esirgemeyen hocalarım Beden Eğitimi ve Spor ABD başkanı ve tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet KILIÇ'ave Doç. Dr. Oktay ÇAKMAKÇI'yalitaratür ve yazım aşamasında çalışmalarında engin bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen ve her fırsatta değerli vakitlerini benim için ayıran hocam Doç. Dr. Süleyman PATLAR'a ve N.Ü Eğitim Fakültesi Biyoloji ABDöğretim üyesi Doç. Dr. Selda KILIÇ'a, araştırmanın yapılışı sırasında kıymetli bilgilerini ve vakitlerini esirgemeyen S.Ü Fen Fakültesi Biyoloji ABD öğretim üyesi Prof. Dr. Tuna UYSAL ve Arş.Görevlisi Ela Nur ŞİMŞEK SEZER ve Meryem BOZKURT'ateşekkürü bir borç bilirim. Çalışma boyunca desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım doktora öğrencisi Bekir TOKAY, Arş. Gör. Ali TATLICI ve Arş. Gör. Sercan YILMAZ'a teşekkür ederim.

Bu çalışmanın her bir harfine dua ve destekleriyle katkıda bulunan değerli annem ve sevgili çocuklarıma teşekkür eder bu çalışmayı onlara ithaf ettiğimi belirtmek isterim.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER ve KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
1.GİRİŞ	1
1.1. Oksidatif stres	3
1.2. Apoptoz.....	3
1.2.1. Apoptotik Hücrede Gözlenen Değişiklikler	4
1.3. Serbest Radikaller	5
1.3.1. Serbest Radikalleri Oluşturan Mekanizmalar.....	5
1.4. Kan Plazması.....	7
1.4.1. Plazma Total Proteinleri.....	8
1.4.2. Albümin	8
1.4.3. Globulinler	9
1.4.4. Lipoproteinler.....	12
2.GEREÇ VE YÖNTEM	14
2.1. Boy ve Vücut Ağırlığı.....	14
2.2. Wingate Anaerobik Güç Testi.....	14
2.3. 20 Metre Mekik Koşusu	15
2.4. Kan Analizi	15
2.4.1. Serumdan Protein İzolasyon Metodu	15
2.4.2. Brad-Ford Yöntemiyle Protein Konsantrasyon Tayini	16
2.5. SDS-PAGE (Sodyum Dodesilsülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi)	16

3. BULGULAR	19
4. TARTIŞMA	25
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	31
6. KAYNAKLAR	33
7. EKLER	38
EK A:Etik Kurul Onayı.....	38
EK B: Gönüllü Bilgilendirme Formu.....	39
8. ÖZ GEÇMİŞ	41

SİMGELER ve KISALTMALAR

ROS	: Reaktif oksijen türleri
O₂	: Oksijen
ETS	: Elektron Transfer Sistemi
DNA	: Deoksribo Nükleik Asit
APAF-1	: Apoptotic Protease Activating Factor-1
O₂•-	: Süperoksit radikali
OH•	: Hidroksil radikali
H₂ O₂	: Hidrojen peroksit
PCO	: Protein karbonil
T₃	: Triiyoditironin
T₄	: L-Tiroksin
Ca	: Kalsiyum
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
kDa	: Kilodalton
Fe	: Demir
IgG	: İmmüoglobülin
KKH	: Koroner kalp hastalığı
RNA	: Ribo Nükleik Asit
BSA	: Sığır serum albümin
SDS-PAGE	: Sodyum Dodesilsülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi
N NaOH	: Sodyum Hidroksit

N HCL : Hidroklorik asit
TK : Total kolesterol
IgA : İmmünoglobulin A
IgG : İmmünoglobulin G
IgD : İmmünoglobulin D
IgE : İmmünoglobulin E
IgM : İmmünoglobulin M



ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Elit Sporcularda Oksidatif Stres EtkilerininSds-page İle Karakterizasyonu

Zeliha BAŞTÜRK

Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ/KONYA-2016

Bu araştırma; elit sporcularda SDS-Page yöntemi ile oksidatif stres etkilerinin protein karakterizasyonunu incelemek amacıyla yapılmıştır.

Çalışmaya 4 farklı branşta mücadele eden (Bisiklet=7, Boks=7, Güreş=7, Taekwondo=7) , yaş ortalamaları 21-25 yıl olan ve aktif olarak spor yapan 28 erkek sporcu gönüllü olarak katılmıştır. Çalışma protokolü Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi Spor Yüksekokulu etik kurulu tarafından onaylanmıştır.

Araştırma Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu performans laboratuvarında Anaerobik Wingate güç testi ve Kapalı Spor Salonunda Aerobik güç 20 m. mekik koşusu testi yapıldı. İstirahat anaerobik ve aerobik güç testleri sonucunda olmak üzere üç kez kan örnekleri alındı. Elde edilen bütün serumlar, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim dalı moleküler biyoloji laboratuvarında EURX marka Gene Matrix Universal DNA/RNA Protein Purification kit kullanılarak protein izolasyonu yapıldı. Proteinler BIORAD Mini Protean Elektroforez Sistemi SDS-Page yöntemi ile THERMO PagerulerPrestained Protein Ladder marker ile karakterize edildi.

Bisiklet istirahat, boks istirahat ve maksimal, güreş maksimal ve submaksimal değerlerinde immunoglobulinler olarak değerlendirilen 200kDa büyüklüğünde bantlara rastlanmıştır. Bunun yanı sıra bisiklet grubunun her üç durum değerleri benzerlik göstermektedir. Boks grubu, protein profili ve içeriği açısından en belirgin gruptur. Güreş grubu, maksimal ve submaksimal değerleri benzerlik gösterirken istirahat durumlarında daha silik protein bantları gözlemlendi. Taekwondo grubu istirahat ve maksimal protein profil ve içerikleri benzerlik göstermesine rağmen, submaksimal egzersiz sonuçlarında protein bantlarının daha belirgin olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak; sporcu gruplarının, serum protein konsantrasyonları benzerlik göstermektedir. Protein içerik ve profilleri açısından bisiklet, boks ve taekwondo grubunun benzerlikleri daha belirgin olmakla birlikte, güreşçilerin maksimal ve submaksimal egzersiz sonrası değerleri benzerlik göstermiştir. Sporcu grupların arasındaki farklılıkları, yapmış oldukları egzersizin yoğunluk ve şiddeti ile ilişkilendirebiliriz. Bisikletçiler için maksimal, boksörler ve taekwondocular için submaksimal egzersizler sonrasında protein fraksiyonunun daha düşük, olduğu söylenebilir. Boks grubunda diğer gruplara göre bant sayısı daha fazla ve daha belirgindir. Güreş grubunda ise maksimal ve submaksimal protein karakterizasyonu benzerlik gösterirken istirahat profilleri daha silik bantlar gözlemlenmiştir. Bu değişikliğin sebebi, oksidatif strese bağlı olabileceği gibi genetik farklılıklardan ve/veya branşa özgü akut yada kronik fizyolojik değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Apoptoz; egzersiz; protein; oksidatif stres

SUMMARY

T.C.
SELÇUK UNIVERSITY
INSTITUTE OF MEDICAL SCIENCES

Effect of Oxidative Stress in Elite Athletes and Characterization of SDS-Page

Zeliha BAŞTÜRK

Department of Physical Training and Sports

MASTER'S THESIS / KONYA-2016

This research was conducted to investigate the protein characterization of oxidative stress effects by SDS-Page method in elite athletes.

Twenty-eight male athletes, who compete in 4 different sport fields (Bicycling=7, Boxing=7, Wrestling=7, Taekwondo=7) with the average age between 21-25, and who are active in sports, are voluntarily participated to the study. The study protocol was approved by the ethics committee of Selçuk University School of Physical Education and Sports.

Anaerobic Wingate power test, at Selçuk University Physical Education and Sports Academy performance laboratory, and Aerobic power 20 m. Shuttle run test, at indoor sports hall were conducted at the research. Blood samples were taken three times as a result of resting anaerobic and aerobic power tests. All obtained serum were protein isolated using the EURX brand Gene Matrix Universal DNA / RNA Protein Purification kit at the molecular biology laboratory of Selçuk University Science Faculty Biology Department. Proteins were characterized with The BIORAD Mini Protein Electrophoresis System SDS-Page method and the THERMO PAGERuler Prestained Protein Ladder marker.

200kDa bands which were evaluated as immunoglobulins were found at the values of bicycling resting, boxing resting and maximal, wrestling maximal and submaximal. In addition, all three status values of the bicycling group are similar. The boxing group was the most prominent group in terms of protein profile and content. The wrestling group, maximal and submaximal values showed similarities, while more silky protein bands were observed at resting situation. Although the Taekwondo group showed similar resting and maximal protein profiles and contents, it can be said that the protein bands are more prominent in submaximal exercise results.

As a result; Athlete group's serum protein concentration showed similarities. In terms of protein content and profiles, the similarity of bicycling, boxing and taekwondo groups were more obvious, while maximal and submaximal exercise values of wrestlers showed similarities. We can relate the differences between athletic groups, to the intensity and severity of the exercise they are doing. It can be said that protein fracture is lower after the maximal exercises for cyclists, and submaximal exercises for boxers and taekwondo players. The number of bands in the boxing group is more and obvious than in other groups. In the wrestling group, the maximal and submaximal protein characterizations showed similarity, while the resting profiles showed more silent bands. This change is thought to be due to oxidative stress, as well as genetic differences and / or acute or chronic physiological changes depends on the specific specialty.

KeyWords: Apoptoz; exercise; oxidative stress; protein

1. GİRİŞ

Fizyolojik şartlarda gerçekleşen birçok hücrenel aktivite oksidan oluşumuna yol açar. Bu oksidan moleküller, organizmanın canlılığını devam ettirdiği sürece, normal biyolojik işlemler sırasında oluşmalarının yanısıra organizmaya girince hastalık oluşturabilecek yabancı maddenin vücuda girmesiylede oluşur (Cochrone 1991).

Bağlarında bir ya da daha çok eşleşmeyen elektron ihtiva eden molekül parçaları olarak ifade edilen serbest radikaller, insan ve hayvanlarda fizyolojik faaliyetlerin olası bir sonucu olarak meydana gelebilen ürünlerdir (Dündar ve Aslan, 1999).

Vücuttaki fizyolojik egzersiz veya antrenman yüklenmelerinin bir sonucu olarakta oluşan serbest radikalleri, doğuştan var olan çok hassasbir kapsamda oksidan-antioksidan dengesi olarak açıklanabilecek bir düzlemde tutmaya çalışılmaktadır. Bu dengedeki değişim ya da bozulma oksidatif strese sebep olur (Dündar 1999).

Diğer yandan egzersizin şiddet ve süresindeki artışla birlikte, aktif kaslarda kullanılan oksijen miktarı, istirahate oranla neredeyse yüz kat artmaktadır. Sonuçtadaha fazla reaktif oksijen türleri (ROS) üretilir. Reaktif Oksijen Türleri, vücutta serbest şekilde dolaştığı için organlardadokularda zarar görebilir. Serbest radikallerin oluşturduğu doku hasarı oksidatif stresin sebebini oluşturmaktadır(Chapple 1997).

İnsan ve hayvanlarda, ROS oluşmasıyla gelişen oksidatif strese bağlı patolojik artış; kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, erkeklerde kısırlık, böbrek hastalığı, katarakt, nörolojik vakalar, karaciğer ve akciğer hastalıkları, periodontal ve inflamatuvar hastalıklar gibi pek çok hastalığa sebep olduğu tespit edilmiştir. (Halliwell 1996 Pinzani ve ark 1998).

Oksidatif stres ile oluşan hastalık durumlarında çoğu stres parametreleri kronik olarak arttığı halde, egzersizle bu belirteçlerin akut olarak çoğaldığı ve

egzersizden sonra normal seviyesine döndüğü belirtilmektedir. Bundan dolayı, egzersizin sebep olduğu oksidatif stres durumunun, geçici olduğu ve kronik hasara sebep olmayacağı düşünülmektedir (Kılınç ve Kılınç 2002).

Sportif aktiviteler esnasında kas hasarına, termal ısıya ve iskemi-reperfüzyona bağlı olarak doku hasarı oluşabilir. Spor bilimcileri sportif aktiviteler esnasındaki ROT üretimini mitokondrial elektron transfer zinciri, ksantin oksidaz sistemi, metal katalizörlü reaksiyonlar ve aktive olmuş nötrofiller gibi etkenlere bağlamaktadır (Erişim adresi <https://www.inonu.edu.tr/uploads/old/5/898/biyokimya-i.pdf> Erişim tarihi 11.5.2016).

Sportif çalışmalar sırasında kas kasılmasındaki artış, daha fazla enerji tüketimine bağlı olarak metabolik faaliyetleri önemli ölçüde hızlandırmaktadır. Sportif aktivite sonucu artmış metabolik hız kesin olarak diğer dokularla birlikte kalp ve aktif kaslarda oksijen tüketimini artırır. İskelet kaslarına da oksijen alımı 100-200 kat oranında artmaktadır. Artan metabolik aktivasyonabağlı olarak kullanılan oksijen miktarı artar ve mitokondriyel elektron taşıma zincirinden elektron sızıntısı arttığı için süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri başta olmak üzere birçok ROT açığa çıkar (Cooper ve ark 2002).

Özellikle yoğun sportif yüklenmelerde organizmada oksijen türevi radikal oluşumu artmaktadır. Bu artışta; mitokondride elektron transport zincirinde elektron akışının hızlanması, ksantin oksidaz aktivitesinin artması, lokal inflamasyon, transferinden demirin serbestleşmesi, antioksidan tüketimi gibi faktörler rol oynamaktadır (Altınışık 2009).

Bu çalışmanın amacı, farklı spor branşlarında mücadele eden sporcuların submaksimal ve maksimal kapasitelerinin belirlendiği kısa süreli egzersizler sonucunda oluşacağı düşünülen oksidatif stres etkilerinin, serum protein konsantrasyonlarının, profilleri ve içeriklerinin istirahat durumundaki bulgularla kıyaslanmasıdır.

1.1.Oksidatif Stres

Normal biyolojik işlemlerden mitokondrideki O₂' li normal solunum sırasında Elektron Transfer Sistemi (ETS)'nde katabolik ve anabolik reaksiyonlar sırasında, endoplazmik retikulumda sitokrom P450 sisteminde meydana gelen elektron kaçakları sonucunda oksidanların oluşması kaçınılmazdır (Cochrone 1991, Vaux ve Flavell 2000).

Metabolizmada esansiyel elementlerin oksidasyonuna sebep olan moleküllerin etkilerini engelleyen ve/veya geciktiren maddelere antioksidanlar denmektedir. Oksidan ve antioksidan arasındaki dengesinin bozulması, reaktif oksijen türlerini oluşturarak ve oksidatif hasarlasonuçlanmaktadır. Oluşan hasar oksidatif stres olarak ifade edilir (Kurutaş ve ark 2004, Yeum ve ark 2004).

Canlılığını oksijen kullanarak devam ettiren her olgu reaktif oksijen türleriyle savaşmak ve oluşan oksidatif hasarları azaltabilmek için karmaşık antioksidan sistemler geliştirmektedir (Halliwell 1996).

1.2.Apoptoz

Tek hücreli olmayancanlılarda, hücre bölünmesiyle artan hücre sayısı hücre ölümüyle dengelenir. Bir organizmada herhangi bir hücreye bir nenene ihtiyaç duyulmuyorsa, hücre içi haberci sistemleri uyarılarak hücrenin kendini yok etme süreci başlatılır. Apoptoz (Yunanca' da yaprak dökümü) veya programlı hücre ölümü olarak ifade edilen intihar süreci hücre ölümüyle gerçekleşir (Cummings ve ark 1997, Pınarbaşı 2007). Fizyolojik koşullardaoluştugu için bu ölüm biçimi fizyolojik hücre ölümü (physiological cell death) olarak da adlandırılır (Bellamy ve ark 1995, Cohen 1993, Skarpanska ve Szyszka 2001).

Apoptoz; gelişmiş dokularda hücre sayısının korunmasının yanısıra, yaşlanmak gibi hemostatik sistemin gerçekleşmesi amacıyla fizyolojik yollarla oluşan bir süreçtir. Ayrıca hücreler, hastalıklardan yada zararlı ajanlardan hasar gördüğü zaman veya immün tepkilerde, bir savunma mekanizması şeklinde dedevreye girer (Elmore 2007, Thompson 1997, Vaux ve Flavell 2000).

Apoptoza uğrayan hücreler organizmada bazı dokularda ve hücrelerde sürekli şekilde oluşmaktadır. Bu oluşum yaşam boyunca süren bir sistematige sahiptir. Sonuç olarak apoptoz, yeniden yapım olan mitoz, mevcut dokularda doku homeostazisini meydana getirmek üzere aktif bir denge şeklinde devam eder (Elmore 2007).

Apoptotik süreç çok sayıda fizyolojik, adaptif ve patolojik olgularda işlev görür. İnsan metabolizmasında apoptozun gözlemlendiği durumlar; embriyonun gelişiminde ve fetal gelişimde, hormonal azalmanın tetiklediği involusyon durumlarında, dokularda hücre homeostazının sağlanması ve korunmasında, immün tepkilerde, savunmacı olarak, hücrelerin herhangi bir sebeple zarar görmeleri durumunda ve ileri yaşlarda gerçekleşir (Mountz ve Zhou 2001).

1.2.1. Apoptotik Hücrelerde Gözlenen Değişiklikler

Apoptotik süreci başlatmak için uyarının alınmasından itibaren, hücrede pek çok biyokimyasal ve morfolojik değişim başlar. Hücre büzülme ve yoğunlaşmaya başlar, hücrenin iskeleti parçalanır ve çekirdeğin zarında bazı bölümleri erimeler görülür. Çekirdek DNA'sının bütünlüğü bozulur (Cohen 1993, Squier ve ark 1994).

Apoptoza uğramış bir hücrede, aktin ve laminin filamentlerinin kopması sonucu sitoplazmada çekilme ve küçülme başlar. Kromatinde ve çekirdekte var olan yapısal proteinlerin parçalara ayrılması sonucunda çekirdek kondensasyonu başlar ve çoğunlukla çekirdek, kromatinin çekirdek membranının iç yüzeyine yerleştiği için at nalı şeklinde görünür. Hücre büzülme ve daralmaya devam ederek makrofajlar tarafından tanınabileceği ve normal hücrelerden kolayca ayırt edilebileceği membranla çevrilmiş küçük parçacıklara bölünür. İçlerinde sitoplazma, sıkıca paketlenen organeller ve bazılarında çekirdek parçalarının da bulunduğu apoptotik cisimcikler oluşur. Çekirdek de hücre gibi büzülür, bazen de membran ile sarılı şekilde birkaç parçaya bölünebilir. Nüklear porlar kromatinin membrana yakın olmayan bölgelerde yoğunlaşırlar (Mountz ve Zhou 2001, Trump BF ve ark 1997).

1.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde eşleşmeyen ve en az bir elektron içeren moleküllerdir. Dengesiz veya tek olan elektronla eşleşebilmek için diğer moleküllerle etkileşime girmeye yatkın özelliğe sahiptirler. Anyonik, katyonik ya da nötral durumdadırlar (Halliwell 1994).

Serbest radikaller genel olarak reaktif oksijen veya reaktif azot türleridir. Serbest radikallerin genel olarak membran lipidleri (lipid peroksidasyonu), proteinler, karbonhidratlar ile nükleik asitler ve DNA üzerine etkili olduğu bilinmektedir. Kalıtım materyali olarak genetik kodun (bilgi) içerilmesi, kendini sentezleyebilme ve protein sentezi işlevlerine sahip olan DNA, kromozomlar içerisinde proteinlerle çevrilmesine rağmen, moleküler hareketlerden ya da dış koşullardan dolayı bozulmalar meydana gelir (Demirsoy 2005).

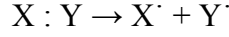
DNA hasarının, reaktif oksijen türleriyle tetiklenen hücrel değişikliklerin en ciddi olduğu bilinmektedir (Tekcan 2009). DNA'nın her parçası, serbest oksijen radikallerinin saldırılarına karşı kolay bir hedeftir (Cheeseman ve Slater, 1993, Dizdaroğlu ve ark 2002). Oksidatif DNA hasarı, toksik etkenlere bağlı olarak, seviyesinde artış eğilimi olan, hücrel metabolizmanın kaçınılmaz bir sonucudur. Yirmiden fazla temel lezyon tanımlanmış olmasına rağmen en dikkat çeken 8-oxo-2'-deoxyguanosine'dir (Cooke ve ark 2003).

Serbest radikaller proteini, lipiti, karbohidratı ve DNA'yı okside ederek, hücre zarında ve organellerinde ayrıca DNA'larda patolojik değişikliklere yol açmış olarak görülür. Sonuç olarak fonksiyon bozukluğu ya da hücre ölümü oluşturur veya mutant özellikler sergileyerek tümör oluşturabilirler (Dilek 2003).

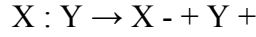
1.3.1. Serbest Radikalleri Oluşturan Mekanizmalar

Serbest radikaller 3 yolla oluşabilir (Halliwell ve Gutteridge 2001):

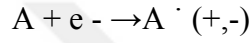
1. Kovalent bağ içeren normal molekülün homolitik yıkımının sonucu olarak oluşurlar. Bölünme sonrasında her parçada ortak elektronlardan biri kalır.



2. Normal molekül yapıda tek bir elektron kaybı veya molekülün heterolitik bölünmesiyle oluşurlar. Heterolitik bölünmeyle kovalent bağı oluşturan iki elektronda, atomlardan birisinde kalır.



3. Normal moleküle sadece bir elektron eklenmesiyle oluşur.



Serbest radikaller, (+) yada (-) yüklü veya nötr olabilmektedir. Biyolojik sistemde en yaygın oluşum biçimleri elektron transferi ile gerçekleşir (Akkuş 1995). Serbest radikal reaksiyonları, immün sistem hücrelerinden nötrofil ve makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizmaları için gereklidir. Ancak serbest radikallerin aşırı üretilmesi sonucu doku hasarları ve hücre ölümleri gerçekleşir (Halliwell ve Gutteridge 1992).

Atmosferdeki oksijen, moleküler oksijen (O₂) ya da dioksijen olarak tanımlanır. Oksijenin az bir kısmı özellikle mitokondri olmak üzere, hücresel bölümlerdeki metabolizma esnasında indirgenerek reaktif oksijen türlerine dönüşür.

Süperoksit radikali (O₂^{·-}), Hidroksil radikali (OH[·]) ve Hidrojen peroksit (H₂O₂)

)başlıca reaktif oksijen türleridir. Bunların ilk ikisi serbest radikal, hidrojen peroksit ise prooksidan'dır (Navarro ve Boveris 2004).

Serbest radikaller, oksidantlara bağlı olarak aerobik metabolizma yoluyla yüksek oranda ve sürekli olarak üretilir. Serbest radikaller antioksidan sistemin yetersizliğinde DNA, protein ve lipid makro moleküllerinin oksidasyona

uğramasına sebep olurlar (Fraga ve ark. 1990, Stadtman 1992). Oksidatif stresin neden olduğu in vivo DNA ve protein hasarının, lipidlerde oluşan hasardan daha önemli olduğu düşünülmektedir (Reznick ve Packer 1994). ROT' un üretilmesine sebep olan tüm reaksiyonlar ve ajanlar, protein oksidasyonu oluşturabilmektedir (Berlett ve Stadtman 1997, Gülbahar 2007).

Proteinlerde in vivo olarak gelişen oksidatif modifikasyonlar, proteinlerin rol oynadığı çeşitli hücrel faaliyetleri etkilemektedir. Bunlar; reseptörler sinyal iletili mekanizmaları, taşıma sistemlerinin yanısıra hücrel faaliyetlerde rol oynayan enzimlerdir ve oksidatif protein hasarından etkilenirler.(Reznick ve Packer 1994).

Proteinlerin oksidatif hasarı, protein karbonil (PCO) seviyesindeki artış ve protein tiol seviyesindeki azalmayla karakterize edilmektedir. ROT' un proteinler ile etkileşmesi sonucunda histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi pek çok amino asit kalıntısında ya da peptid omurgasında oluşan oksidatif hasarın sonucunda protein karbonil ürünleri meydana gelmektedir (Evans ve ark 1999).

1.4.Kan Plazması

Kan yaklaşık olarak % 60 plazma ve % 40 şekilli elemanlardan oluşur. Plazmanın büyük bir bölümü (% 90) su diğer bölümü katı maddelerden oluşur. Katı maddelerin sadece % 1'i anorganik tuzlardan oluşur. Diğer kısmını organik maddeler oluşturur ve bunların bazıları şunlardır; proteinli maddeler, lipitler, karbonhidratlar ve metaloitlerdir. Plazmada bulunan proteinlerin en önemlileri albümin, globülin ve fibrinojendir (Yılmaz 2000).

Plazma proteinlerinin büyüklükleri, molekül ağırlıkları ve elektrik yükleri birbirinden farklıdır. Fibrinojen en büyük molekül ağırlığına sahip olanı, albüminde en küçük olanıdır. Bu özellikleri ile proteinler ultrasantrifüjde katmanlara ayrılabilir. Ayrıca molekül ağırlıklarının, yüzeylerinin, büyüklüklerinin ve serbest elektrik yüklerinin farklı olmasından dolayı elektriksel bir alanda çeşitli protein kesimleri değişik hız ve yönde hareket ederek birbirlerinden ayrılırlar. Proteinlerin izoelektrik noktaları dışındaki bir pH'da elektrik alanında göç etmeleri durumuna elektroforez denir (Yılmaz 2000).

Normal kanda albümin ve globülinlerin birbirine oranı 1,5-2,0 arasında değişir. Kanın işlevi açısından bu oranın değişmemesi gereklidir. Protein katsayısı olarak bilinen albümin globülin oranı insanlarda yaklaşık olarak 1,72'dir. Plazma proteinlerinin azalması yaraların geç iyileşmesine ve çeşitli organlarda berelenme ve ödem oluşumuna neden olur. % 1-2'nin altına düştüğü durumlarda şok meydana gelir. Fibrinojen karaciğerde, albüminli maddeler karaciğerde ve bağırsaklarda, globülinler ise kemik iliğinde oluşurlar (Yılmaz 2000).

1.4.1. Plazma Total Proteinleri

Plazmadaki proteinler fizyolojik açıdan büyüköneme sahip çok sayıda proteinden birleşiminden oluşmaktadır. Bunla transportör, antikor, enzim, onkotik basınç düzenleyici, enflamasyon ajanı, tümör markırı, pıhtılaşma ve büyüme faktörü gibi görevleri üstlenmektedirler. Plazmada total proteinlerin incelenmesi ile diyet dahil olmak üzere, vücuttaki organ sistemlerinin durumunu gösteren bilgilere ulaşılır (Üstdal ve ark 2003).

Sağlıklı yetişkin bireylerde serum proteinleri yaklaşık olarak 6-8 g/dL kadardır. Bu miktarın % 40-60' ını albümin, diğer bölümünde α_1 , α_2 , β ve γ globülinlerden oluşmaktadır. Total serum proteinlerin düzeyi klinik bakımdan önemlidir. Bazı durumlarda total protein miktarı ve protein dağılımlarının oranları değişebilmektedir. Serum total proteinlerinin dağılımlarının değişimi, plazma sıvı volumündeki değişime veya bir ya da birden çok proteinin miktarındaki artma ya da azalmaya bağlı gelişir. Plazma proteinlerinin artma veya azalma durumu, protein sentez süresi, ortamdan uzaklaştırılma süresi ve dağıtım hacmi arasındaki ilişkilerle belirlenmektedir (Adam ve Ardiçoğlu 2002).

1.4.2. Albümin

Albümin serum proteinleri arasında en yüksek kütleli yoğunluğuna ve en düşük molekül ağırlığına sahiptir. Serum proteinlerinin %40-60' ını oluşturur. Sağlıklı yetişkinlerde 3,5-5,0 g/dL kadardır. Karaciğerde parankim hücreleri

tarafından sentezlenir; sentezlenme hızı, diyet proteini ve serum albümin düzeyi ile düzenlenir (Adam ve ark 1990, Montgomery ve ark 2000)

Bilirubin, uzun zincirli yağ asitleri, T3 (Triiyoditironin), T4 (L-Tiroksin), kortizol, aldosteron, Ca⁺⁺, Cu⁺⁺ ve bazı ilaçları taşır. Endojen amino asit deposu olarak görev görür. Plazma onkotik basıncının sürekliliğini sağlar sağlar. Kanın viskozitesinde etkilidir. Plazmada zincir kırıcı antioksidan aktivitesini sağlayan plazma sülfidril gruplarının ana bileşenidir. Bilirubin plazmada hipokloröz asidin güçlü bir temizleyicisi olarak etki gösterir (Adam ve ark 1990). Bakır iyonunu bağlama özelliğinden dolayı bakır iyonuna bağlı lipit peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu baskılar. Lipit peroksidasyonunda antioksidan olarak görev yapan bilirubin in vivo ortamda, albumine bağlı yağ asitlerinin peroksidasyonunu önleyebilmektedir (Çavdar ve ark 1997).

1.4.3. Globulinler

Toplam plazma proteininin yaklaşık % 40'ı globülinlerden oluşur. Bu % 40'ın; %4'ü alfa-1, %8'i alfa-2, %7'si beta-1, %4'ü beta-2 ve %17'de gamma globülinidir (Busher 1990).

Alfa-1 globulinlerin çoğunluğunu glikoproteinlerdir ve karbohidrata bağlanan proteinlerdir. Lipoproteinlerin az bir bölümü ise lipide bağlanan proteinlerden oluşur. High Density Lipoprotein yada iyi huylu lipoprotein(HDL) lipid taşınmasında görev alır ve kolesterolün arterduvarlarına yapışmasını önler. Alfa-1 grubunun diğer proteinleri tiroksin bağlayan globulin, kortizol bağlayan globulin (transkörtin) ve B₁₂ vitamini bağlayan globulin (transkobalamin) dir. Bunlar bağlandıkları maddelerin transportunu sağlayan proteinlerdir. (Busher1990, [ErişimAdresiwww.Reboundhealth.com/cms/images/pdf/serumalbuminandglobulin%20id%2014563.pdf](http://www.Reboundhealth.com/cms/images/pdf/serumalbuminandglobulin%20id%2014563.pdf) 27.10.2016).

Alfa-2 Globulinler;haptoglobini serbest hemoglobine bağlayan ve böbrekten atılmasını önleyen protein ve bakır içeren bir oksidaz olan seruplazminenzimini içerirler. Alfa-2 globulinlerin yapısında bulunan diğer proteinler,kan pıhtılaşmasında görev alan protrombin, eritrosit üretimini stimüle eden bir hormon olaneritropoetin

ve kan basıncı, vücut sıvısı ve elektrolit balansının düzenlenmesinde görev alan bir hormon olan anjiotensinojen dir (Busher1990).

Beta globülinler beta-1 ve beta-2 lipidlerin taşıyıcı proteinlerin çoğunluğunu içerirler. Beta-1 lipoproteinleri Low Density Lipoproteinler kötü huylu kolesterol olarak bilinir. Bunlar kolesterolün arter duvarlarına çökmesine neden olarak, kalp damar hastalıklarında rol oynarlar. Beta globulinlerin taşıdığı diğer maddeler fosfolipidler, gliseridler, yağda çözünen vitaminlerle bakır ve demir metallerini içerir. Bakır ve demir taşınmasında rol oynayan transferrin de bir beta globulindir. Elektroforezde β 1-globülin fraksiyonunda gözlenen transferrin 77 kDa büyüklüğe sahip glikoproteinlerdir. Tek polipeptit zincirden oluşur. Serum transferrin düzeyleri, sağlıklı yetişkinlerde 200–400 mg/dL miktarında tesbit edilmiştir (Onat ve ark 2002).

Transferrin, başlıca karaciğer olmak üzere, az miktarda retikuloendotelial sistemde, testislerde ve overlerde sentezlenir. Transferrin sentezinin düzenlenmesi demirin sağlanabilme oranıyla belirlenir ve demir eksik olduğunda transferrin sentezi artmaktadır. Transferrinin katabolize olduğu yer bilinmemekle birlikte vücuttan atılması, bağırsaklara dökülen mukaza hücreleri yoluyla olur (Adam ve ark 1990, Onat ve ark 2002). Transferrin, apotransferrin denen proteine iki adet Fe^{3+} iyonu bağlanmasından oluşan tam bir demir taşıyıcısıdır. Dolaşımında serbest bulunan demiri bağlar az miktarda da bakır, çinko, kalsiyum ve kobalt taşıyıcı özelliğe sahiptir. (Akkuş 1995, Rıce ve Evans1991).

Transferrinin demir taşınma özelliği antioksidan etkisi göstermektedir. Serbest haldeyken toksik etki gösteren demir, organizmada ihtiyaç duyulan dokulara taşınmak için transferrin ile birleşir ve toksik etkisi azalır. Transferrin, Fe^{3+} halinde olan demiri kemik iliğinde bulunan depobölgelerine ve bir noktaya kadar da karaciğere taşır. Birçok hücre yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanan transferrin, endositoz yoluyla hücre içine alınır. Lizozom içerisinde demir, asidik pH'da transferrinden ayrılır; apotransferrin ise kendi reseptörüne bağlı şekilde plazma membrana geri döner ve membranda reseptörden ayrılarak plazmaya geçer ve yeniden demir taşınma görevi üstlenir (Altınışık 2009).

Gamma globülinler; immün sisteminde antikor olarak görev yaparlar. Antikorlar, organizmaya giren yabancı maddeler (antijenler) le bileşikler kurabilen moleküllerdir. İmmunoglobulinler de denen gamma globulinler, IgG, IgA, IgM, IgD ve IgE olarak gruplara ayrılırlar (Sadava ve ark 2014).

IgG, sağlıklı bireylerde immünoglobülinlerin % 75'ini oluşturmaktadır. G₁, G₂, G₃ tipinde üçşekilde bulunan immünoglobülinlerin Molekül ağırlıkları 51.000-60.000kDa arasında değişmektedir. İmmün sisteminde pek çok antijene karşı sekonder tepki vererek savunmada görevigörürler. Plasentadan geçip yeni doğan bebeğe bağışıklık sağlarlar. Kompleman sisteminde klasik yolu aktive ederek antijenle savaşır(Sadava ve ark 2014).

IgA grubu IgA₁ ve IgA₂ olarak iki tipten oluşur. Molekül ağırlıkları 52.000-56.000 kDa aralığındadır. Mukus salgılayan epitel hücrelerin membranlarında ve sekresyon sıvılarında bulunurlar. IgA, antikor reseptörlerini taşıyan epitel hücrelerinde, sindirim kanalında, akciğerde, meme dokusunda, ürogenital sistemler gibi dışarıya açılabilen sistemlerde yaygın biçimde bulunarak savunma hattı oluştururlar. Mukus sıvısında yerleşebilecek viral ve bakteriyel antijenler, bunların reseptörlerine bağlanmış olan IgA antikorlarınca yakalanarak yok edilmektedir. Antijen bilgileri, sistemde bulunan microfold hücreler yoluyla alt tabakalarda bulunan lenfoblastlara da iletilirler. Böylece mevcut antijene has IgA antikor sentezi artmış olur. IgA'nın lenf aracılığı ile başka sistemlere taşınmasının amacı olması antijen saldırılarına karşı organlarda önlem almak ve onları korumaktır (Sadava ve ark 2014).

IgM'nin Molekül ağırlığı 70.000kDa olup, mevcut olan en büyük antikor tipidir. Bağışıklık sisteminde, antijen uyarılara karşı başlangıçta ilk tepki olarak oluşan ilk antikor grubudur. Kompleman sistemi fiksasyonunda etkili rol oynar. T lenfositlerin üstesinden gelemediği antijenlerle, fagositoz yolu oluşturarak savaşır. Antijen yelpazeleri oldukça geniştir (Sadava ve ark 2014).

IgE' ler bazofil ile mast hücrelerinin uyarılmasında görev alırlar. Bu hücrelerin yüzeyinde bulunan kendilerine ait reseptörlere (Fc) bağlanıp onları aktive

ederler. Aşırı duyarlılık tepkimelerinde ve enfeksiyonlara karşı korunmada oldukça önemli rolleri vardır. (Sadava ve ark 2014).

IgD' ler serumda düşük oranda bulunan antikor tipidir. Fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. IgD reseptörleri B lenfosit yüzeyinde sıkça bulunduğu için, antikor sentezinin kontrolünde etkili olduğu ihtimali düşündürmektedir.

(Erişim adresi: [http://tipedu.cumhuriyet.edu.tr/Donem2/II.Komite\(DolasimKomitesi\)/Fizyoloji/SenaERDAL/index.html](http://tipedu.cumhuriyet.edu.tr/Donem2/II.Komite(DolasimKomitesi)/Fizyoloji/SenaERDAL/index.html) Erişim Tarihi 23.11.2016).

1.4.4. Lipoproteinler

Plazma lipoproteinleri apolipoproteinler olarak bilinen proteinler ve lipidlerin moleküler kompleksidir. Bu bileşenlerin sentez, yıkım ve plazmadan uzaklaştırılma durumları sabit bir denge durumunda gerçekleşir(Champe ve Harvey 1997).Bu proteinlerin lipid bölümleri trigliseridler, serbest kolesteroler, ester kolesteroler, fosfalidler ve yağ asitlerinden oluşmaktadır. Lipitler suda çözünmedikleri halde proteinle birleşmiş olmalarından dolayısuda çözünür hale gelirler(Baban 1980).

Lipoprotein vücutta en çok bulunan yakıt rezervi olan yağları depolanan bölgelerden kullandıkları yerlere taşıyan proteinlerdir. Bağırsağın mukoza hücreleri tarafından üretilen şilomikronlar, kan içinde bulunan en büyük lipoproteinlerdir. Dolaşım ile karaciğere ve yağ dokuya taşındığında, lipoprotein lipaz, şilomikronları yıkmaya başlar ve onlarda bulunan trigliserid ve kolesterol karaciğer yada yağ hücresi içinde emilir. Şilomikron dışındaki lipoproteinler, karaciğerde sentezlenir(Sadava ve ark 2014).

Yağlar düşük yoğunlukta oldukları için su içinde yüzerler, proteinler ise daha yüksek yoğunluğa sahiptir bu yüzden lipoproteindeki yağ/protein oranı artınca onun yoğunluğu düşer. VLDL büyük ölçüde, trigliserid formundaki yağları içerir yaklaşık %2 protein, %94 lipid ve %3 kolesterol içerdiğinden kalp-damar hastalıkları için yüksek risk oluşturmaları onlara çirkin lipoprotein denmesinin sebebidir(Sadava ve ark 2014).

Düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL), kolesterolü biyosentezde kullanılmak üzere depolamak için vücutta taşır. Yaklaşık olarak %25 protein, %25 lipid ve %50 kolesterol içerir ve bu yüzden kalp-damar hastalıklarında büyük risk faktörü olan kötü lipoproteindir (Sadava ve ark 2014).

Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL), dokulardan kolesterolü alır ve karaciğere taşır. Karaciğerde safra sentezinde de kullanılır. HDL %50 protein, %35 lipid ve %50 kolesterol içerir. HDL iyi lipoproteinlerdir ve egzersiz yapan kişilerde daha yüksektir (Sadava ve ark 2014, Gözükara 1990).

Lipoproteinler lipidleri plazmaya taşırken çözünür tutmanın yanısıra kendilerindeki lipidleri dokulara bırakabilmek için etkili bir mekanizma görevini yerine üstlenirler. İnsanlarda bulunan lipidlerin dokularda yavaşyavaş biriktiği görülür. Bu birikim kan damarlarının daralmasına sebep olan plak oluşturduğu için hayati tehdit oluşturmaktadır. Koroner kalp hastalığı (KKH), plazma trigliserid ve LDL düzeyleri ile pozitif ilişkilirken, HDL ile negatif ilişkisidir (Criqui 1986, Tamer 1996). KKH'nin HDL ile olan negatif ilişkisi, total kolesterol ve LDL'nin koruyucu etkisi seksenli yaşlara kadar belirgin olarak görülmektedir (Guyton 1980). Hareketsiz yaşam tarzı KKH için en kolay değiştirilebilen risk faktörünü oluşturur (Tamer 1996).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya 4 farklı spor dalında mücadele eden (Bisiklet =7, Boks=7, Güreş=7, Teaeakwondo=7) , yaş ortalamaları 21-25 yıl olan ve aktif spora devam eden 28 erkek sporcu gönüllü olarak katılmıştır. Denekler geçmiş bir yıl içinde nörolojik ve işitsel-görsel olarak rahatsızlık ve son altı ay içinde alt ve üst ekstremitelerinde ciddi bir yaralanma geçirmemiş olan sporculardan seçilmiştir. Uygulamadan önce sporculara araştırma kapsamında maruz kalacakları testler anlatılmış ve gönüllü katılacaklarına ilişkin belge imzalatılmıştır.

Araştırma Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu performanslaboratuvarında Anaerobik Wingate güç testi, Kapalı Spor Salonunda Aerobik güç 20 m. mekik koşusu testi yapılmıştır. İstirahat, anaerobik ve aerobik güç testleri sonrasında üç kez kan örnekleri alınmıştır.

2.1.Boy ve Vücut Ağırlığı

Denekler 20 gr kadar hassas bir kantarda (Angel marka) çıplak ayak ve şort giydirilerek tartıları yapılmıştır. Uzunluk (boy) ölçümleri ise (Holtain marka) skala ile denekler ayakta dik pozisyonda dururken skalanın üzerinde kayan kaliper deneğin kafasının üzerine dokunacak şekilde ayarlanmış ve uzunluk 1 mm hassasiyetle okunmuştur.

2.2.Wingate Anaerobik Güç Testi

Wingate testi için ayarlanmış bilgisayara bağlı ve uyumlu bir yazılım programıyla çalışan Monark 824 model (made in İsveç) ayak bisiklet ergonometresi kullanılmıştır. Testler öncesi her sporcu için boy ayarları yapıldı. Her sporcu için test sırasında ayak ergonometresinde 75gr/kg şeklinde hesaplanmıştır. Sporcuların dirençsiz,mümkün olan en kısa zamanda en yüksek pedal hızına ulaşmaları istenmiştir. Maksimum hıza ulaşıldığından emin olduğu zaman (yaklaşık 3-4 saniye sonra), 75gr/kg olarak hesaplanmış yük bırakılarak test başlatıldı. Sporcular mevcut dirence karşı 30 saniye boyunca en yüksek hızda pedal çevirmiştir. Sporcular test boyunca sözlü şekilde teşvik edilmişlerdir.

2.3.20 Metre Mekik Koşusu

Denekler tarafından 20 m. lik mesafe gidiş dönüş olarak koşulmuştur. Test yavaş koşu hızında (8 km/s) başlatılıp ve denek duyduğu 1. sinyal sesinde koşusuna başlayarak 2. Sinyal sesine kadar çizgiye ulaşmak zorunda olacak şekilde koşmuştur. 2. Sinyal sesini duyduğunda tekrar geri dönerek başlangıç çizgisine gelir ve bu koşu hızı her dakikada 0,5 km/s artarak sinyallerle devam etmiştir. Denek sinyali duyduğu zaman ikinci sinyalde pistin diğer ucuna varacak şekilde temposunu ayarlamaktadır. Başlangıçta yavaş olan hız her 10 sn. de bir giderek artar. Denekler bir sinyal sesini kaçırıp 2. sine yetişirse teste devam edebilir. Eğer denek iki sinyali üst üste kaçırmışsa test sona erdirilir.

2.4. Kan Analizi

Tüm deneklerden alınan kan örnekleri üçer kez ön kol dirsek venasından 8 ml. Kan EDTA tüplere alınarak 3500 bp de santifiruj edilerek plazma ve serumlar ayrıştırılmıştır. Elde edilen serumlardan Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji laboratuvarında Total Protein izolasyonları yapılmıştır. Proteinlerin saflık derecesive konsantrasyonları NANODROP 2000 ile belirlenmiştir.

2.4.1. Serumdan Protein İzolasyon Metodu

Protein izolasyonu için EURX marka Gene Matrix Universal DNA/RNA Protein Purification kit kullanılmıştır ve izolasyon şu şekilde uygulanmıştır:

200 ml serum örneği ependorfa alındı. Lysate All buffer 1 ml'ye 10 µl konarak hazırlandı. DRP 1ml'ye 10 ml konarak hazırlandı. Nazikçe karıştırılıp 3 dk santifiruj edildi. Süpernatant DNAbinding kolona alınıp 13000 rpm'de 1dk santifiruj edildi. Kolon +4 °C kaldırılıp alttaki süzüntü yeni tüpe alındı. Üzerine 300 ml absölu etanol eklenip pipetle karıştırıldı. İçerik RNA binding kolona aktarılıp 12000 rpm de 1 dk santifiruj edildi. Kolon +4 °C ye kaldırılıp süzüntü yeni tüpe alındı. Üzerine 2 volüm absölu etanol eklenip karıştırıldı. 30 dk +4 °C kaldırıldı. 20 dk +4 °C de 4500 rpm'de santifiruj edildikten sonra süpernatant yavaşça döküldü. Üzerine %70 etanol eklendikten sonra vartexlenip 10 dk +4 °C de santifiruj edildi. Süpernatant

dökülüp pallet 5 dk desikotörde kurutuldu. 150 ml PLB ile pallet çözüldükten sonra 5 dk süreyle 95°C inkübe edilen numuneler -20 °C ye kaldırıldı.

2.4.2.Brad-Ford Yöntemiyle Protein Konsantrasyon Tayini

Elde ettiğimiz proteinlerin konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla Bradford yöntemi kullanılmıştır. Öncelikle 5X konsantrasyonda Bradford boyası hazırlanmıştır. Bu amaçla 100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 boyası, 47 ml Metanol (100%) içinde iyice çözüldükten sonra 100 ml Fosforik Asit (85%) eklenmiş ve saf suyla 200 ml'ye tamamlanmıştır. Çalışmada 1X konsantrasyona seyreltilerek kullanılmıştır.

Standart grafiği hazırlamak için standart protein olarak % 2'lik sığır serum albümin (BSA) çözeltisi stok olarak kullanılmıştır. BSA çözeltisinden 2 mg/ml, 1 mg/ml 0,5 mg/ml 0,25 mg/ml ve 0,125 mg/ml olacak şekilde 5 farklı standart hazırlanmıştır. Körleme için saf su kullanılmıştır. Elimizdeki protein örnekleri 10 kat sulandırılarak ölçüme hazır hale getirilmiştir. Ölçümler 50 µl proteine 2,5 ml of Bradford boyası oranı temel alınarak yapılmıştır. Bradford boyası eklendikten ve 5 dk kadar beklendikten sonra 595nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır.

Elde edilen tüm ölçümler Microsoft Excel programına yazılarak protein konsantrasyonları hesaplanmıştır.

2.5.SDS-PAGE(Sodyum Dodesilsülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi)

SDS-PAGE deneyinde kullanılan stok çözeltilerinin içerikleri ve hazırlanması şu şekildedir: 1.5 M Tris pH 8.8 Tamponu; 18,16 g Tris base ve 100 ml'ye deiyonize su ile tamamlandı. Hazırlanan çözelti Whatman No:1 filtre kağıdı ile filtre edilerek, otoklav edilip, oda sıcaklığında saklandı. 1 M Tris pH 6.8 Tamponu; 12,11 g Tris base ve 100 ml'ye deiyonize su ile tamamlandı. Tris, deiyonize su içinde çözdürülerek 3 N HCL ile pH'ı 6.8'e ayarlandı. Hazırlanan çözelti Whatman No:1 filtre kağıdından filtre edilerek, otoklav edilip, oda sıcaklığında karanlıkta saklandı. %10 Sodyum Dodesil Sülfat; 5 g Sodyum dodesil sülfat deiyonize su ile 50 ml'ye tamamlandı. Oda sıcaklığında karanlıkta saklandı. %10 Amonyumpersülfat; 0.1 g

Amonyumpersulfat deiyonize su ile 1 ml'ye tamamlandı. Kullanımdan hemen önce hazırlandı ve +4°C'de bekletildi. 5 X Yürütme tamponu pH 8.3; 3,75 g Tris base, 18 g Glisin, 5 g Sodyum dodesil sulfat deiyonize su ile 250 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltinin pH'ı 1 N NaOH veya 1 N HCL kullanılarak 8.3'e ayarlandı. Tampon 5 X olarak hazırlandığı için kullanımdan önce 5 kez sulandırılarak 1 X'e ayarlandı.

Boyama çözeltisi; 1 g Coomassie Brilliant Blue, 500 ml Metanol, 100 ml Glasial asetik asit deiyonize su ile 1 litreye tamamlandı. Boya çözüldükten sonra Whatman No:1 filtre kâğıdından filtre edilerek karanlıkta oda sıcaklığında saklandı. Yıkama çözeltisi; 125 ml Metanol, 175 ml Glasial asetik asit deiyonize su ile 2200 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığında, karanlıkta saklandı. SDS-PAGE analizi için iki farklı jel kullanıldı. Bunlar: ayırma ve yükleme jelleridir. Bu jellerin hazırlanışı şu şekilde yapıldı:

%10 Ayırma jeli; 6 ml distile su, 5 ml Akrilamid/ Bis akrilamid (%30), 3,75 ml 1.5 M Tris (pH 8.8), 150 µl %10 SDS, 75 µl %10 Amonyum Persulfat (APS), 7 µl TEMED eklenerek hazırlandı.

% 4 Yükleme jeli; 9 ml distile su, 1,98 µl Akrilamid/Bis akrilamid (%30), 3,78 µl 1 M Tris (pH 6.8), 150 µl %10 SDS, 75 µl %10 Amonyum Persulfat (APS), 15 µl TEMED eklenerek hazırlandı.

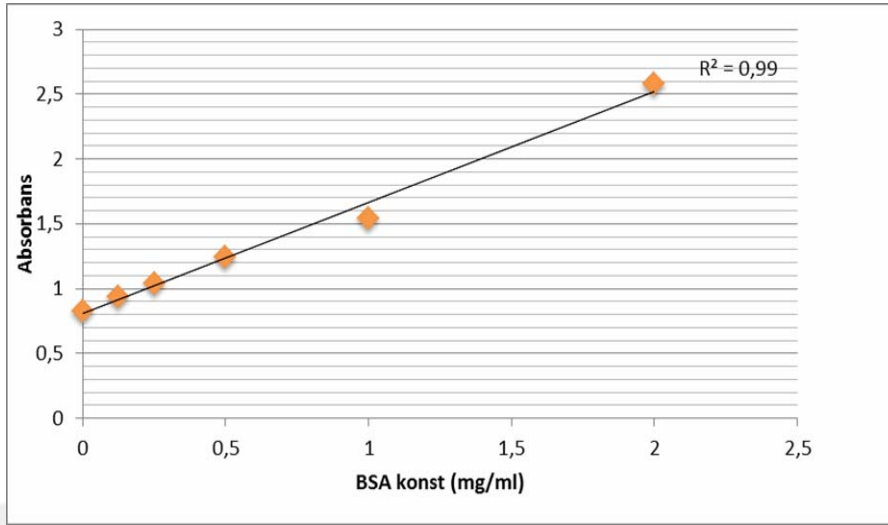
SDS-PAGE analizinde şu basamaklar takip edildi; Ayırma jeli hazırlandı ve kasete döküldü. Jelin yüzeyini düzleştirme için izopropanol bir enjektör yardımıyla jel kasetinin iki kenarından döküldü. Polimerizasyon tamamlandıktan sonra üst düzeydeki izopropanol döküldü ve jel yüzeyi saf su ile birkaç kez yıkandı. Yükleme jeli hazırlandı ve kasete döküldükten sonra tarak yerleştirildi. Jelin donması için biraz beklendi. Donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı.

Analiz için serumdan izole edilen protein örnekleri -20°C'den çıkarıldıktan sonra buza alınarak steril deiyonize su ile 1:10 oranında sulandırıldı. Daha sonra protein örnekleri yükleme jelindeki kuyucuklara yüklendi. Marker kuyucuğuna PRESTAINED protein ladder yüklendi. Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra

tankın kapağı kapatılarak sistem güç kaynağına bağlandı. Jelin yürümesi için güç kaynağı 180 V 60 dakika olarak ayarlandı. Yürütme işlemi sonlandırıldıktan sonra jel, cam plaklar arasından çıkartılarak kapaklı plastik bir kaba alındı ve boyama işlemine geçildi. Jelin üzerini tamamen kaplayacak şekilde boyama zeltisi dökülerek jel boyandı. Gece boyunca boyanan jeldeki boyama zeltisi dökülerek jel 1 saat boyunca yıkama zeltisinde çalkalandı. 1 saat sonra yıkamazeltisi dökülerek tekrar yıkama zeltisi ilave edildi ve jel 1 saat daha yıkandı. Bu işlem jelin zeminindeki boya tamamen çıkana kadar bu şekilde devam ettirildi. Yıkama işlemi sona erdikten sonra farklı parlaklıklarda jelin fotoğrafı çekildi.



3.BULGULAR

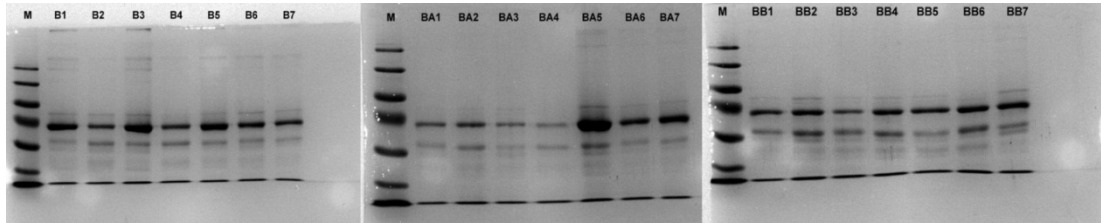


Grafik 3.1. BSA protein konsantrasyonu (mg/ml).

Bradford metodu kullanarak elde edilen standart eğri grafiği.Çalışmaya katılan sporculardan elde edilen protein konsantrasyonların $R^2=0,99$ bulunarak güvenilirliği gösterilmektedir.

Tablo 3.1.Bisiklet grubu protein konsantrasyonu (Bradford).

İstirahat	1,655221	1,143057	1,317658	1,282738	1,58538	2,237225	0,770574
MaksimalGüç	0,433011	1,51554	2,691188	1,096496	2,598068	1,364218	1,794902
SubmaksimalGüç	3,017111	1,201257	1,306018	0,724014	-0,66116	1,317658	1,364218

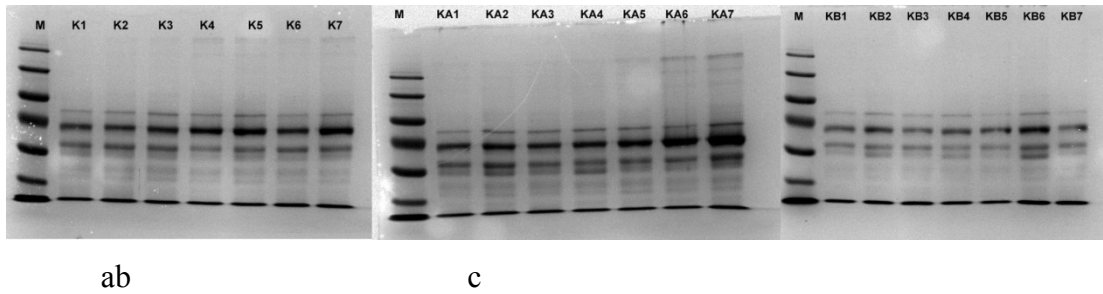


Şekil 3.1. Bisiklet Grubu İstirahat (a), Maksimal güç (b), Submaksimal güç (c)SDS-Page bulguları.

SDS-PAGE sonucunda elde ettiğimiz jel görüntüleri incelendiğinde bisiklet istirahat grubunda immunoglobulinler olarak nitelendirebileceğimiz 200kDa üzeri bir bant, yaklaşık 200kDa, 170kDa büyüklüğünde bir bant ve sırasıyla 77kDa (transferrin), 67kDa (albümin), 60kDa, 55kDa ve 35kDa (Apolipoprotein) büyüklüklerinde bantlar saptanmıştır. Bisiklet maksimal grubunda bant profilleri incelendiğinde yine immünoglobulin olarak adlandırabileceğimiz yaklaşık 200kDa büyüklüğünde bir bandın yanı sıra sırasıyla 77kDa (transferrin), 67kDa (albümin), 60kDa, 55kDa (α 1-antitripsin) ve 35kDa (Apolipoprotein) büyüklüklerinde bantlar saptanmıştır. Bu grupta 55kDa'luk α ₁-antitripsin bandının diğer gruba göre oldukça silikleştiği görülmektedir. Bisiklet 20m mekik grubunda (submaksimal) grubunda 170kDa ve üzerindeki bantlar tamamen kaybolmuştur. Bunun yanı sıra 77kDa (transferrin), 67kDa (albümin), 60kDa, 55kDa ve 35kDa (Apolipoprotein) büyüklüklerinde bantlar saptanmıştır.

Tablo 3.2.Boks grubu protein konsantrasyonu (Bradford).

İstirahat	1,003376	1,294378	1,212897	0,863695	0,630893	1,59702	2,761029
Maksimal güç	0,817134	1,375858	1,282738	2,92399	1,084856	1,049936	0,747294
Submaksimal güç	0,176929	2,388546	0,363171	0,409731	-0,07915	2,132464	1,445699



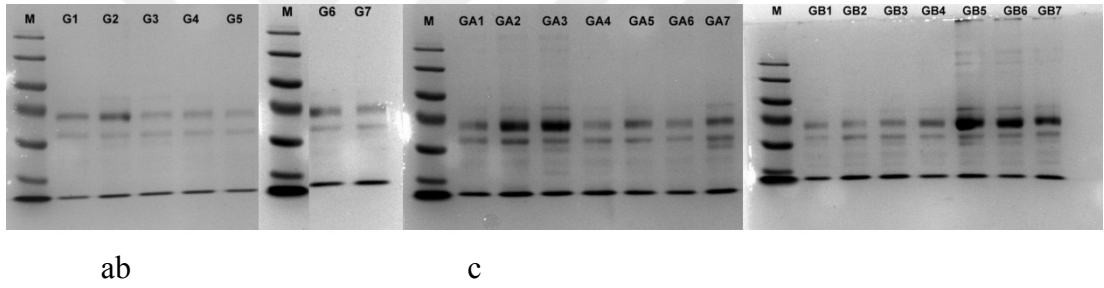
Şekil 3.2.Boks Grubu İstirahat (a), Maksimal güç (b), Submaksimal güç (c) SDS-Page Bulguları.

Diğer gruplarla kıyaslandığında boks gruplarına ait jellerde bant sayısının fazla olduğu görülmüştür. Boks istirahat grubunda yaklaşık 200kda, 160kda, 77kDa (transferrin), 67kDa (albümin), 60kDa, 55kDa, 55-40kDa arası 2 bant ve 35kDa (Apolipoprotein) büyüklüklerinde bantlar saptanmıştır. Boks maksimal grubuna bakıldığında, genel olarak bantlarda belirginleşme gözlenmiştir. Bu grupta 200kda,

160kDa, 77kDa (transferrin), 67kDa (albümin), 60kDa, 55kDa, 55-40kDa arası 2 bant ve 35kDa (Apolipoprotein) büyüklüklerinde bantlar mevcuttur. Özellikle albümin ve α 1-antitripsin bantlarında belirgin artış gözlenmiştir. Boks submaksimal grubunda üstteki tüm bantlar kaybolmuştur. Bu grupta bantlar genel olarak silikleşmiştir ve 77kDa (transferrin), 67kDa (albümin), 60kDa, 55kDa ve 35kDa (Apolipoprotein) büyüklüklerinde bantlar saptanmıştır.

Tablo 3.3. Güreş grubu protein konsantrasyonu (Bradford).

İstirahat	1,049936	0,956815	1,480619	1,061576	1,422419	1,084856	1,946223
Maksimal Güç	2,388546	0,933535	1,306018	1,51554	3,145152	1,63194	0,642533
Submaksimal Güç	1,655221	1,969503	1,434059	2,190665	2,551507	1,119777	1,306018



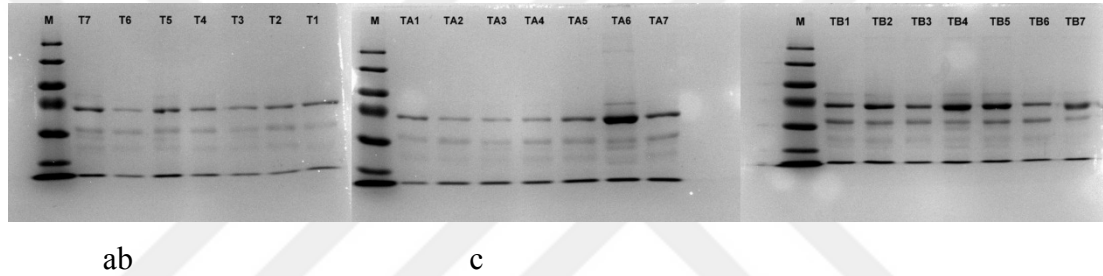
Şekil 3.3. Güreş Grubu İstirahat (a), Maksimal güç (b), Submaksimal güç (c) SDS Page Bulguları.

Güreş istirahat grubuna bakıldığında bu grupta diğer gruplara nazaran daha az bant gözlenmiştir. Bu grupta 77kDa (transferrin), 67kDa (albümin), 60kDa ve 35kDa (Apolipoprotein) büyüklüklerinde bantlar saptanmıştır. Güreş maksimal grubundaki bant profilleri değerlendirildiğinde, 3 sporcuda immunoglobulinlerin arttığı görülmektedir. Bu grupta 77kDa (transferrin), 67kDa (albümin), 60kDa, 55 kDa ve 35kDa (Apolipoprotein) büyüklüklerinde bantlar saptanmıştır. Genel olarak bantlarda bir belirginleşme görülmektedir. Güreş submaksimal grubunda immunoglobulinlerin arttığı gözlenmiştir. Bantlar 200kDa, 170kDa 77kDa (transferrin), 67kDa (albümin), 60kDa, 55kDa ve 35kDa (Apolipoprotein) büyüklüklerindedir.

Güreş sporcu grubunda maksimal ve submaksimal protein profilleri benzerlik göstermesinin yanısıra, submaksimal egzersiz sonrası 200kDa büyüklüğünde protein bandına rastlanmıştır. Sporcuların istirahat protein bantları ise egzersiz sonrası durumlardan daha siliktir.

Tablo 3.4. Taekwondo grubu protein konsantrasyonu (Bradford)

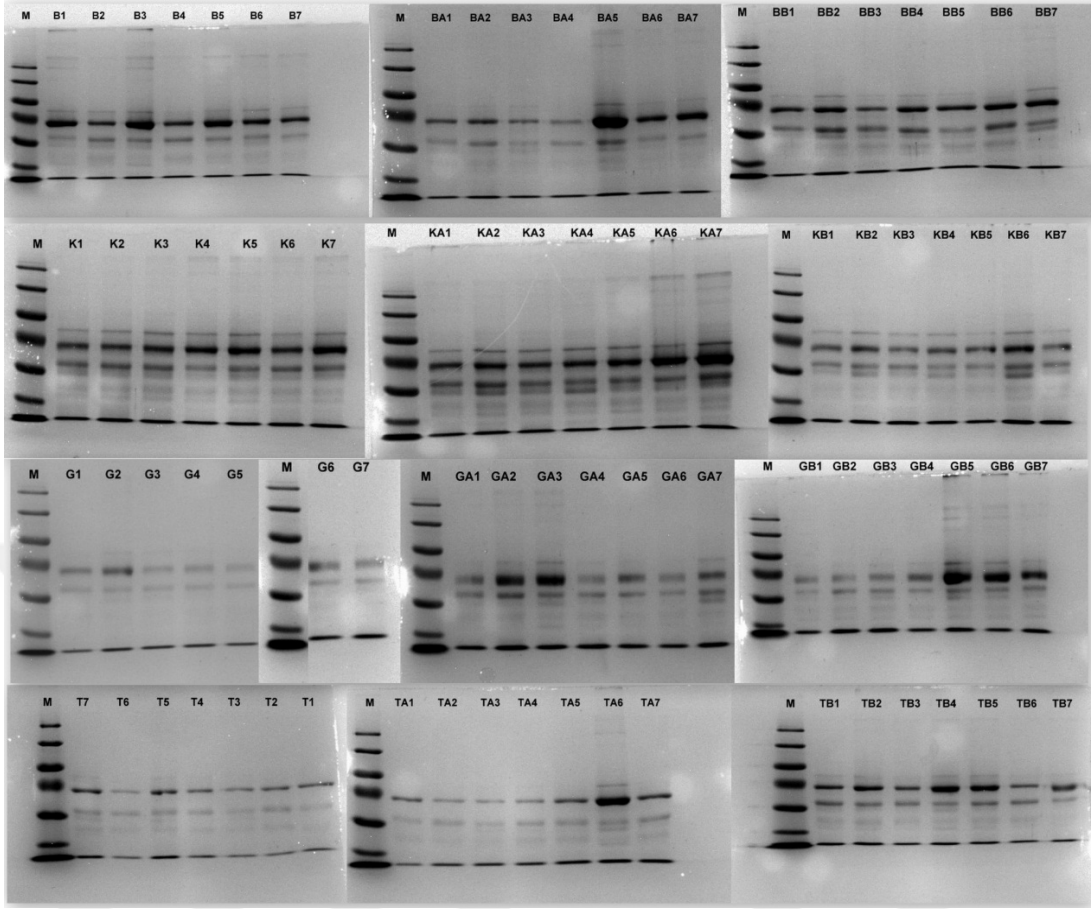
İstirahat	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656
MaksimalGüç	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656
Submaksimal Güç	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656	1,026656



Şekil 3.4. Taekwondo Grubu İstirahat (a), Maksimal güç (b), Submaksimal güç (c) SDS Page Bulguları.

Taekwondo istirahat durumu görülen bantlar sırasıyla 77kDa (transferrin), 67kDa (albümin), 60kDa, 55kDa 50kDa ve 35kDa (Apolipoprotein) bantlarıdır. Taekwondo maksimal egzersiz grubunda bu gruptan farklı olarak üstte görülen 77kDa büyüklüğündeki bant kaybolmuştur. Onun dışındaki bantlar, 67kDa (albümin), 60kDa, 55kDa ve 3kDa (Apolipoprotein) büyüklüklerinde bantlardır. Albümin ve apolipoprotein bu grupta arttığı saptanmıştır. Taekwondo submaksimal grubunda ise diğer gruplardan farklı olarak 170kDa 'dan büyük bir bant saptanmıştır. Ayrıca 77kDa (transferrin), 67kDa (albümin), 60kDa, 55kDa, 50kDa ve 35kDa (Apolipoprotein) büyüklüklerinde bantlar saptanmıştır. Bu grupta albümin ve 60kDa büyüklüğündeki bantlar daha da belirginleşmiştir.

Taekwondo grubu; protein karakterizasyonu açısından, istirahat ve maksimal yüklenme sonrası bantlar benzerlik göstermesinin yanısıra, submaksimal antrenman sonrası protein profilleri ve içeriklerinin daha belirgin olduğu gözlenmiştir.



Şekil 3.5. Tüm gruplar SDS Page Jeller (Bisiklet, boks, güreş, taekwondoyukardan aşağı verilen sıra ile)

Sporcu gruplarının total protein profillerine ve konsantrasyonlarına bakıldığında; protein konsantrasyonları istirahat, maksimal ve submaksimal yüklenmeler sonucunda protein içeriğinde ve miktarındaki değişimlerin düzensiz olduğu gözlenmiştir.

Protein konsantrasyonunda önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Protein içeriğindeki temel değişiklik ise globülinlerde görülmüştür.

Genel olarak bakıldığında tüm grupların, istirahat grubundan elde edilen sonuçlara kıyasla, protein konsantrasyonuegzersizden bağımsız olarak bireysel farklılıklar göstermektedir.

Bisikletçilerin istirahat değerlerine kıyasla, maksimal ve submaksimal yüklenmeler sonrasında serum protein sentezinin arttığı gözlenmiştir.

Boksörlerin protein profillerine bakıldığında; diğer gruplara kıyasla daha zengin protein profiline sahip oldukları gözlemlenmiştir. Güreş grubu hariç, sporcuların istirahat ve maksimal değerleri benzerlik göstermesine rağmen, submaksimal antrenman sonrası, protein profilinde ve protein içeriğinde azalma söz konusu olduğu gözlenmiştir.

Total protein profilleri açısından güreş grubu diğer sporcu gruplarına kıyasla daha az sayıda protein profili ve içeriği görülmesine karşın protein konsantrasyonu açısından bir farklılık bulunmamıştır.

Taekwondo ve güreş sporcu gruplarının protein profilinde ve içeriğinde istirahat, maksimal ve submaksimal değerlerinde benzerlik söz konusu olduğu görülmüştür.

Farklı sporcu gruplarında, maksimal ve submaksimal yüklenmeler arasındaki total protein profilleri ve içeriği açısından bakıldığında; boks branşındaki sporcuların daha fazla protein profiline sahip olduğu görülmekle birlikte taekwondo güreş ve bisiklet grubunda hemen hemen benzer protein profili ve içeriği gözlemlenmiştir. Bununla birlikte farklı yüklenmelere bağlı olarak farklı sporcu gruplarındaki total serum proteinleri içeriği ve konsantrasyonu değişimleri arasında bir uyum görülmemektedir.

Apolipoprotein bantının tüm sporcu gruplarının istirahat, maksimal ve submaksimal yüklenmeler sonrasında değişmeden benzer profil gösteren tek bant olduğu gözlenmiştir.

4.TARTIŞMA

Fiziksel aktivitenin yoğunluğu ve şiddetine paralel olarak kullanılan enerji sistemlerinin fizyolojik etkileri ve metabolik açıdan oluşturduğu farklılıklar bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı farklı enerji sistemlerini sahip branşlarda, maksimal ve submaksimal egzersizler sonrasında serum protein profillerini gözlemek ve sporcuların istirahat değerleri ile karşılaştırmaktır.

Çalışma gruplarımızın elektroforez jellerinde bisikletçilerde 8, boksörlerde 8, güreşçilerde 4 ve taekwondocularda 6 adet bant tesbit edilmiştir. Güreş ve taekwondo grubunun istirahat jellerinde 70-100kDa molekül ağırlığının üzerinde banta rastlanmamasına rağmen, boksörlerde ve bisikletçilerde 160kDa ve 200 kDa molekül ağırlığında bantlar mevcuttur. Ayrıca bisikletçilerde 200 kDa' un üzerinde molekül ağırlığında bantlar görülmüştür. Bu farklılıklar farklı egzersiz tiplerinin protein metabolizması üzerinde farklı profiller oluşturduğunun göstergesi olabilir.

Bisiklet grubunun istirahat durumu jellerinde 200kDa'dan büyük molekül ağırlığındaki bant görülmemektedir. 200-170 kDa ağırlığındaki bant ise sadece üç sporcuda vardır. 170kDa ağırlığındaki bant ise kaybolmuştur. Boksörlerin istirahat durumundaki tüm protein bantları maksimal egzersiz sonrasında daha belirgin şekilde görülmüştür. Güreş grubunda istirahatte rastlanmayan 200-170kDa ve 50kDa ağırlığında iki bant oluşmuş ve tüm bantlar istirahat durumlarına göre daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Taekwondocularda ise istirahatte tüm sporcularda görülen 70-100kDa ağırlığındaki bant sadece bir sporcuda görülürken, başka bir sporcuda 150kDa ağırlığında hiçbir grupta ve sporcuda rastlanmayan banta rastlanmıştır. Bisiklet branşındaki sporcuların, aerobik performans MaxVO2 kapasitelerinin boks, güreş ve taekwondo branşı sporcularına göre daha gelişmiş olması doğal bir sonuçtur. Bu grupta aerobik performans ve istirahat durumu protein karakterizasyonunun benzerlik göstermesi antrenmana uyumla açıklanabilir.

Sporcuların maksimal egzersiz sonrası protein jel görüntüsü ise bisikletçilerde 6, boksörlerde 8, güreşçilerde 6, taekwondocularda 6 bant olarak tesbit edilmiştir. Tüm grupların ortak özelliği 67kDa ağırlığındaki albümin bantlarının belirgin biçimde kalınlaşmış olmasıdır. Maksimal egzersiz sonrası bantların daha belirgin

olması, egzersiz sırasında protein fraksiyonunun arttığına göstergesi olabileceği gibi egzersiz sırasında plazma su içeriğinin azalmasıda hemokonsantrasyona neden olabilir.

Boks,güreş ve taekwondo branşları laktik ve laktik anaerobik enerji sistemlerinin baskın olarak kullanıldığı bir antrenman karakterine sahiptir. İstirahat durumundaki protein bantlarının maksimal egzersiz durumu ile benzerlik göstermesi, sporcuların protein metabolizmalarının branşlarına uyum ve antrene olmuşluk düzeylerinin göstergesi olabilir. Şiddetli yüklenmelere maruz kalınan anaerobik performansı geliştiren antrenmanlarının oksidatif stres açısından bu gruptaki sporcuların protein konsantrasyon, içerik ve profili bakımından bu tür yüklenmelerde olumsuz etkilemediği düşünülebilir.

Maksimal oksijen kullanım kapasitesinin (MaxVO₂) geliştirilmesi ve belirlenmesinde kullanılan submaksimal antrenmanlar aerobik enerji sisteminin kullanıldığı yüklenmelerdir. Anaerobik süreçlerde toparlanma süresi MaxVO₂ kapasitenin yeterli gelişimi ile doğru orantılıdır. Boksörlerin aerobik performans sonrası protein konsantrasyonları değişiklik göstermezken profil ve içerik bakımından daha düşük olması bu tip egzersizlerde protein fraksiyonlarının daha düşük seviyede olduğunun göstergesi olabilir.

Grupların submaksimal serum protein profilleri ve içerikleri, bisikletçilerde 6, boksörlerde 5, güreşçilerde 7 ve taekwondocularıda 7 bant olarak tespit edilmiştir. Bisiklet grubunda 200-170kDa aralığındaki bant sadece üç sporcuda mevcuttur. İstirahat durumlarında görülen 200 ve 200-170kDa aralığındaki bant kaybolmuştur. Boksörlerde, 100-70kDa üzerindeki bantlar kaybolmuş, 100-70kDa ağırlığındaki bant ise silikleşmiştir. Güreşçilerde 200kDa ağırlığının üzerinde bir banta, 160kDa ağırlığında sadece üç sporcuda görülen bir banta rastlanmıştır. 160kDa ağırlığındaki protein bantı güreşçilerin diğer iki durumunda görülmemiştir. Taekwondo grubunda, istirahat ve maksimal egzersiz sonrası görülmeyen 170kDa ağırlığının üzerinde bant mevcuttur.

Bir kısım Plazma protein seviyelerine geçici inflamatuvar yanıtta ya da bazı doku hasarlarında artabilir veya azabilir. Total serum proteinlerinin derişimindeki artma ve

azalmalar disproteinemi ile ifade edilir. Disproteinemi iki şekilde olmaktadır; hiperproteinemi (derişimde artma) ve hipoproteinemi (derişimi azalma) Normal şartlarda kanda mevcut olmayan ve özel işlevleri olmayan proteinlerin görülmesine paraproteinemi adı verilir.

(Erişim adresi: http://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/1050/mod_resource/content/1/12.%20Plazma%20proteinleri%20Biyokimyasal%20izlenmesi.pdf Erişim tarihi: 06.12.2016).

Akut faz cevabı, stres ya da travmanın olumsuz etkilerinden organizmanın korunması için oluşantepkiler dizisi olarak ifade edilmektedir. (Emery ve Luqmani 1993). Bu reaksiyonlar sırasında akut faz proteinleri (AFP) olarak adlandırılan bir grup proteinin, sentezlenme veya yıkım hızının artmasına da azalmasına bağlı, plazma konsantrasyonu anlamlı seviyede değişmektedir (Lowry 1993, Gruys ve ark 2006). Yıldırım ve ark (2008), dağcılarda yüksek rakıma maruz kalmanın, bazı serum akut faz proteinleri üzerine etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada, 33 dağcının 2600 m yükseklikte 7 gün boyunca hava şartlarına uyum göstermenin sonucu olarak α 1-antitripsin ve seruloplazmin düzeyleri anlamlı şekilde yüksek, serum prealbümin değerlerinin daha düşük, transferrin değerini ise benzer bulmuşlardır. Akut faz cevabı serum protein profillerinde farklılıkların oluşabileceğinin olası bir göstergesi olarak düşünülebilir. Bizim çalışmamızda sporcu gruplarının, her üç durumda da protein profili ve içeriğinin diğer gruplara göre farklılık göstermesi, boks grubunda daha çok protein bandına rastlanması olası bir durum olarak değerlendirilebilir.

Yapmış olduğumuz çalışmada, grupların albümin ve ferritin değerleri boksör grubun protein içerik ve profilinin daha yüksek olmasının yanısıra tüm gruplarda benzerlik gösterdiği söylenebilir. Uluğ ve ark (2008) akut brusellozlu hastalarla, 27 kadın ve 20 sağlıklı erkekten oluşan kontrol grubunun serum albümin ve ferritin düzeylerini karşılaştırmış, her iki grupta ortalama değerleriyle istatistiksel anlamlı değerler bulmuşlardır. Brusellozlu olgularda serum ferritin düzeyleri, anlamlı olarak yüksek serum albümin düzeyi ise düşük bulunmuştur. Serum demir düzeyleri, her iki grup karşılaştırıldığında, brusellozlu deneklerde belirgin bir düşüklük tespit edilmiştir. Brusellozlu hastalarda, akut faz cevabı olarak ferritin yükselmesiyle birlikte çok yüksek değerler bulunmamasına karşın çalışmalarında bir erkekte çok yüksek

tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda, sporcu gruplarındagözlenen serum albümin ve ferritin profilleriaçısından, Uluğ ve ark (2000) çalışmasındakikontrol grubu sonuçları ile benzemektedir.

Farklı fiziksel yüklenmelere karşı bireylerde meydana gelen total protein konsantrasyonu açısından değişimlerin ana kaynağı albümin miktarının değişiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca konsantrasyon açısından değişimlere immünoglobülinlerinde neden olduğu söylenebilir.

Yüksek şiddet ve yoğunluktaki antrenman programları, immün sistem işlevlerinde önemli derecedeazalmalarasebep olduğu düşünülmektedir. Aktif sporcular üzerinde yapılan araştırmalar, yüksek şiddette antrenmanların antioksidan sistemi baskılayabileceği ve de enfeksiyona eğilimiartırabileceği belirtilmektedir(Nehlsen ve ark 1991,McDowell 1992). Ersöz ve ark (1995) yaptıkları çalışmada, 6 haftalık ılımlı akut egzersizin, programının başında, üçüncü ve altıncı haftalarındaantrenmandan önce ve sonra plazma Ig G, M ve A düzeylerini ölçülmüşlerdir. Antrenmanla plazma immunoglobulin seviyelerinin değişmediğini, 6. haftada plazma Ig G ve A seviyesinin antrenman sonrası önemli derecede azaldığını,bazal Ig G ve A düzeylerindedir,çalışmaların sonunda arttığını saptamışlardır.Elde edilen bulgulara göre ılımlı şiddette uygulanan antrenman programının immün sistemi destekleyici etkisi olduğu sonucuna varıldığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızdaki sporcu gruplarının protein içerik ve profillerinin, kendi branş dalındaki sporcularla benzerlik göstermesine karşın bazı sporcularda belirgin yada silik olduğu gözlenmesi egzersizin immün sistem üzerine etkilerinin göstergesi olabilir. Ayrıca sporcuların antrenman yaşları ve yıllık antrenman periodunun hangi devresinde olduklarıda protein sentezini ve dağılımını etkilemiş olabilir.

Çalışmamızda elektroforezde gözlemlediğimiz serum lipoproteini, olan APO (apolipoprotein) bandı tüm sporcu gruplarının istirahat durumu, maksimal ve submaksimal antrenmanlar sonrası birbirine en çok benzerlik gösteren bant olarak dikkat çekmektedir. Apolipoprotein ve LDL düzeylerin ters orantılı olarak profil sergilediği bilinmektedir.Kürkçü ve ark (2011) yaptıkları çalışmada, 22 sporcu ve 12 fiziksel faaliyet göstermeyen, kontrol grubu bireyin kan lipidlerideğerlerini

karşılaştırmış,sporcu grubun kan lipidiseviyesinde olumlu değişiklikler oluştuğunubelirlemiştirlerdir.Kürkçü ve ark (2011)yaptığı çalışmada, sporculardakontrol grubuna göre serum trigliserid (TG), LDL ($p<0.05$) ve(VLDL) ($p<0.05$) seviyelerinin anlamlı derecede daha düşük, HDLseviyelerini anlamlı derecedeyüksek bulmuşlardır. Serum Total Kolesterol (TK) ve düzeyleri ise iki grup arasında anlamlı bir farklılık göstermemiştir.Çalışmamızda tüm sporcu grupların APOprofilleri,istikrarlı protein bantları gözlenerek benzer çalışmalardaki sporcu grupların lipoprotein profillerini destekler durumda.

Thompson ve ark (1991) uzun mesafe koşan 10 atlet ve 10 sedanter kişi ile yaptıkları çalışmada, atletlerin ortalama HDL kolesterol konsantrasyonlarını40% daha yüksek bulmuşlardır.Bu yüksekliğin büyük ölçüde HDL2 kolesterol konsantrasyonuna bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada atletlerin apolipoprotein değerlerini 25% daha yüksek bulmuşlardır.Sporcu grubun trigliserid değerleri, sedanterlerden 45% daha düşük olmasına rağmen, lipoprotein ve apolipoproteinkonsantrasyonlarında önemli bir farklılık saptanmamıştır. Atletlerin vücut yağ yüzdeleri sedanterlerden daha düşük bulunan çalışmada, APO konsantrasyonundaki benzerliğe rağmen, atletlerin HDL seviyesinin yüksek olması egzersize bağlı olarak katabolik süreçlerin farklılığıyla birlikte, metabolik hız ve sporcularda proteinlerin daha uzun süre hayatta kalmalarına bağlanmıştır. Bizim araştırmamızda da sporcularda protein konsantrasyonunun ve APO bandının tüm gruplarda benzerlik göstermesi Thompson ve ark (1991) bulguları ile örtüşmektedir.

Oyelola ve Rufai (1993) 14atlet ve 14 sedanterin plazma lipid, lipoprotein ve apolipoprotein profillerini inceledikleri çalışmada, atletlerde HDL seviyeleri yüksek, LDL seviyeleri düşük bulunmasının yanısıra atletlerde ve sedanterlerde protein konsantrasyonunda önemli bir farklılık olmadığını belirtmektedir. Bu benzerlik bizim çalışmamızda tüm gruplar ve durumlardan elde edilen protein konsantrasyon dağılımında, apolipoproteinlerin egzersizle istikrarlı profil sergilediğini desteklemektedir.

Normal kanda albüminler ve proteinlerin oranı 1.5-2.0 arasında değişiklik gösterir. Kanın işlevi yönünden bu oranın sabit tutulması gerekir. Protein katsayısı denen albümin globülin oranı insanda yaklaşık 1.72' dir(Yılmaz 2000).

Gundasheva (2015)' nın çalışmasında, atların equine herpes virüs ve equine influenza virüsüne bağışıklık geliştirme düzeylerini incelemiş, hem aşılama hemde egzersiz yaptırılan atlarda, serum albümin ve globülin seviyeleri gerek sadece aşılanmış gerekse kontrol grubu atlar arasında çalışmanın ikinci ve dördüncü günleri β 1-globulinler açısından önemli değişiklik gösterse de 11. günde başlangıç seviyesine düşmüş olduğunu belirtmektedir. Bu değişim total protein albümin globülin oranı açısından tüm gruplarda benzerdir. Bizim çalışmamızda, gruplar kendi içinde ve diğer grupların sonuçları ile karşılaştırıldığında benzer profiller sergilemektedir, total albümin globülin oranına uygun sonuçlar gözlemlenmiştir ve Gundasheva (2015) çalışmasındaki her üç grubun total protein içerikleri ile benzerlik gösterdiği söylenebilir.

Literatürde farklı egzersizlerin, sporcuların serum protein profillerini ve içeriklerini nasıl etkilediği konusunda bir çalışmaya rastlamamış durumdayız. Bizim araştırmamızda farklı branşlardaki sporcuların, aynı tip egzersizler sonrasında ve istirahat durumunda serum protein karakterizasyonları değişik profiller sergilemiştir. Bu değişiklikler gruplar arası olduğu gibi grup bireyleri arasında da dikkat çekmektedir.

5.SONUÇ ve ÖNERİLER

Yüksek lisans tezi olarak yapılan bu çalışma, farklı branşlarda yarışan sporcuların istirahat değerleri, maksimal ve submaksimal testler sonucunda, plazma serum proteinlerinin konsantrasyon, profil ve içeriklerinin istirahat durumu ile egzersiz sonrası değerlerinin nasıl etkilendiğini gözlemlemek ve literatürle kıyaslamak amacıyla oluşturmaktadır. Sonuç olarak; sporcu gruplarının, serum protein konsantrasyonları benzerlik göstermektedir. Protein içerik ve profilleri açısından bisiklet, boks ve taekwondo grubunun benzerlikleri daha belirgin olmakla birlikte, güreşçilerin maksimal ve submaksimal egzersiz sonrası değerleri benzerlik göstermiştir. Sporcu grupların arasındaki farklılıkları, yapmış oldukları egzersizin yoğunluk ve şiddeti ile ilişkilendirebiliriz. Bisikletçiler için maksimal, boksörler ve taekwondocular için submaksimal egzersizler sonrasında protein fraksiyonunun daha düşük, olduğu söylenebilir. Boks grubunda diğer gruplara göre bant sayısı daha fazla ve daha belirgindir. Güreş grubunda ise maksimal ve submaksimal protein karakterizasyonu benzerlik gösterirken istirahat profilleri daha silik bantlar gözlenmiştir. Bu değişikliğin sebebi, oksidatif strese bağlı olabileceği gibi genetik farklılıklardan ve/veya branşa özgü akut yada kronik fizyolojik değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yapılan bu çalışma sonucunda aşağıda belirtilen önerilerin bu alanda yapılacak araştırmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

1.Sporcularda protein dağılımının belirlenmesi önemlidir. Çalışmamızda SDS-Page Elektroferez yöntemi kullanıldı ancak, SDS-Page dansitometrik diyagram ve oksidatif stres parametrelerinin de belirlenmesinin daha net sonuçlar alınması için önemli olacağını düşünmekteyiz.

2.Sporada başarı elde etmiş (Türkiye, Avrupa, Dünya dereceleri kazanan) sporcuların Protein karakterizasyonuna bakılmasının daha yararlı olacağını düşünmekteyiz.

3. Bir yıllık antrenman periyodunda, sezon öncesi, müsabaka sezonu ve sezonun bitiminde, protein karakterizasyonunun belirlenmesi daha net sonuçlar vermesi

açısından önemlidir. Bilimsel çalışmalar yıllık antrenman periyoduna göre dizayn edilmelidir.

4. Protein dağılımına, kas kuvveti ve dayanıklılığının etkisinin olup olmadığının değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

5. Enerji kaynakları açısından aerobik dayanıklılık MaxVO₂ 'nin, protein karakterizasyonunu etkileyip etkilemediği bilimsel araştırma konusu olmalıdır.



6. KAYNAKLAR

- Adam B, Ardiçoğlu, Y: Klinik Biyokimya Analiz Metotları: 1. Baskı: Atlas Kitapçılık: 2002.
- Adam B, Yiđitođlu R, GokerZ: Biyokimya& Klinik Biyokimya UTS Serisi. 2. Baskı: Atlas Kitapçılık: 1990.
- Akkuş İ: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları- Konya-38, sağlık dizisi (5), 1995.
- Alessio HM, Goldfarb AH, Cao G (1997): Exercise-induced oxidative stressbefore and after vitamin C supplementation. International Journal of Sport Nutrition, 7:1-9.
- Aruoma OI (1998): Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. Journal of the American Oil Chemists' Society JAOCS, 75:199-212.
- Baban N (1980). Protein Biyokimyası. İstanbul Terziođlu Matematik Araştırma Enstitüsü Baskı Atölyesi, 50-55.
- Bellamy C O, Malcomson R D, Harrison D J, Wyllie A H.Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. Cancer Biology. 1995;6: 3-16.
- Berlett BS, Stadtman ER 1997. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stres. J. Biol. Chem. 272 (33): 20313- 20316.
- Busher JT, Chapter 101Serum Albumin and Globulin, Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations, 3rd edition. Editors: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, Boston: Butterworths; 1990.
- Bompa TO Antrenman Kuramı ve Yöntemi. Çev: İlknur Keskin A, Burcu Tuner, Hatice Küçükğöz, Tanju Bağırhan, Bağırhan Yayın Evi, Ankara, 2003.
- Bompa TO Sporda Çabuk Kuvvet Antrenmanı. Ankara. Spor Yayınevi ve Kitapevi. 2013;4: 31.
- Borensztajn J, Rune M, Babirak S, McGarr J, Oscai L Effects of exercise on lipoprotein lipase activity in rat heart and skeletal muscle. AmJ. Physiol. 1975;229: 394-397.
- Champe PC, and Harvey AR, (1997). Biyokimya Lipid Metabolizması. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E (Çeviren). 2. Baskı Ankara:Nobel Tıp Kitapevi, 213.
- Cheeseman KH, Slater TF (1993): An introduction to free radical biochemistry. British Medical Bulletin, 49:481-93.
- Chapple I. LC: Reactiveoxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. J. Clin. Period. 24:287-296,1997.
- Cohen JJ, Programmed cell death and apoptosis in lymphocyte development and function. American College of Physicians, CHEST. 1993; 103: 99-101.
- Cooke MS, Evans MD, Dizdaroğlu M, Lunec J (2003): Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 17:1195-1214.
- Cochrone G.G Cellular Injury by oxidants. The American J of Med. 1991; 91 (Suppl.3C); 23-30.
- Cooper CE, Vollaard NBJ, Choueiri T, Wilson MT: Exercise, free radicals and oxidative stress. BiochemSoc Trans, 30: 280-284, 2002.

- CriquiMH, (1986). Epidemiology of Atherosclerosis. Am J Cardiol. 1986; 57: 18-23.
- Cummings M C, Winterfold C M, Walker N I Apoptosis. Am. J. Surg. Pathol.,1997; 21: 88-101.
- Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T : Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Tranplantasyon Dergisi. 3-4;92- 95,1997.
- Çolakoğlu S, Kırkalı G, Çolakoğlu M, Örmen M, Akan P 1998: Egzersizde E vitamini desteğinin oksidan stres ve dayanıklılık üzerine etkileri. Klinik Gelişim, 11:412-415.
- Demirsoy A (2005): Kalıtım ve Evrim, 13. Baskı. Ankara, Meteksan A.Ş., 206-358.
- Dilek ON, Serbest Radikaller ve Cerrahi. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği III.Ulusal Kongresi. Afyon. 23-30 Mart 2003;6.
- Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H 2002: Free Radical-induced damage toDNA: mechanisms and measurement. Free Radical Biolog and Medicine, 32:1102-15.
- Dündar U Antrenman Teorisi. Ankara. Bağırhan Yayinevi. 2000.
- Dündar U Antrenman Teorisi. Ankara. Nobel Basimevi. 2003.
- Dündar Y, Aslan R 1999: Oksidan-antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü. Hayvancılık Araştırma Dergisi, 9:1-39.
- Elmore S, Apoptosis: 2007 A review of programmed cell death. Toxicol. Pathol; 35(4): 495–516.
- Emery P, Luqmani R The validity of surrogate markers in rheumatic disease. Br. J. Rheumatol 1993; 32: 3–8.
- Ergen E., Demirel H., Guner R., Turnagol H., Basoğlu S., Zergeroğlu AM. Egzersiz Fizyolojisi Ankara Nobel Yayınları 1993
- Ersöz G, Köksoy A, Zergeroglu AM,Yavuzer S,Akut-Kronik fiziksel egzersiz ve İmmunoglobulinlerSpor Bilimleri Dergisi ,6:3,1995 3-12.
- Evans P, Lyras L, Halliwell B Measurement of protein carbonyls in human brain tissue. Methods Enzymol 1999; 300: 145-156.
- Foss ML, Keteyian SJ, Fox's Physiological Basis for Exercise and Sport. 6th ed. WCB/McGraw-Hill; 1998.
- Fox, Bowers, Foss. Beden Eğitimi ve Sporun Fizyolojik Temelleri. (Çeviri: Mesut Cerit). Ankara. Spor Yayinevi ve Kitap Evi. 2012: 11-239.
- Fraga, CG, Shigenaga, MK, Park, JW, Degan P, Ames BN. 1990. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy- 2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. Proc. Natl. Acad. Sci., 87 (12): 4533-4537.
- Gözükara E,1990 :Biyokimya Lipidlerin Metabolizması, Ankara Nobel Tıp Kitapevi, 321-345.
- Gundasheva D, 2015:Electrophoretic Analysis of Serum Proteins in Strenuously Trained Horses Revaccinated Against Equine Herpes Virus 4/1 and Equine Influenza Virus.Veterinarija ır zootechnika (vet med zoot). T. 69 (91).
- Gruys E, Toussaint MJ, Niewold TA et al. Monitoring health by values of acute phase proteins. Acta Histochem 2006; 108 229–232.
- Guyton AC, 1980: Textbook of Medical Physiology. Fifth Edition W.B. Saunders Company. Philadelphia. 110.

- Günay M. Egzersiz Fizyolojisi. Ankara. Bağırhan Yayın Evi. 1999.
- Günay M, Tamer K, Cicioğlu İ, 2006: Spor Fizyolojisi ve Performans Ölçümü. Ankara, Gazi Kitabevi.
- Gutteridge JMC: Free Radicals in Biology and Medicine, Third Edition, Oxford Science Publications, 22-24. 2001.
- Gülbahar Ö 2007: Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilgisi. Turk. J. Geriatrics., 10 (1): 43-48.
- Halliwell B, Antioxidants in human health and disease. Ann. Rev. Nutr. 16: 33-50, 1996.
- Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE 1992: Free Radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 119(6), 598-620.
- Hazır T Enerji Sistemleri. Hacettepe Üniversitesi. Ankara. Yüzme Bilim ve Teknoloji Dergisi. 1995;1.
- http://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/1050/mod_resource/content/1/12.%20Plazma%20proteinleri%20Biyokimyasal%20izlenmesi.pdf Erişim tarihi: 06.12.2016.
- <http://ipi.oregonstate.edu/ss02/contents.html> Angela Mastaloudis 10.10.2016.
- [http://tipeu.cumhuriyet.edu.tr/Donem2/II.Komite\(DolasimKomitesi\)/Fizyoloji/SenaERDAL/index.html](http://tipeu.cumhuriyet.edu.tr/Donem2/II.Komite(DolasimKomitesi)/Fizyoloji/SenaERDAL/index.html) 23.11.2016.
- Jonathan M, PhD and Euan A MDA, 1997 Perspective on Exercise, Lactate, and the Anaerobic Threshold, Chest 111:787-95.
- Karatosun HS, 1997 Değişik Yüklenme Yöntemlerinde Tükürük Laktik Asid Dinamiğinin İncelenmesi. Antalya. Akdeniz Üniversitesi. Beden Eğitimi ve Spor Öğretmenliği Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- Kılınç K, Kılınç A Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi 2002;33:110-118.
- Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M Serbest Radikaller. Arşiv, 2004; 13:120-13.
- Kürkçü R, Çakmak A, Gökhan İ, 2011; Adölesan Dönemdeki Futbolcularda Düzenli Egzersiz Programının Lipid Profili Üzerindeki Etkileri. e-Journal of New World Sciences Academy Sports Sciences 6: (1), 25-30.
- Lowry SF Cytokine mediators of immunity and inflammation. Arch Surg 1993; 128: 1235-1241. 28.
- Matwejew LP Antrenman Dönememesi. Ankara. Bağırhan Yayınevi. 2004.
- McArdle WD, Katch FI, Katch VL, Essentials of Exercise Physiology. 2th ed. Johnson E, Gulliver K, eds. Lippincott Williams and Wilkins 2000;170-205.
- Mc Dowell L, 1992; The effects of exercise training on salivary immunoglobulin A and cortisol responses to maximal exercise. Int J Sports Med 13: 577-80.
- Montgomery R, Conway T, Spector, A, Chappell D: Çeviri Editörü: Altan N.: Biyokimya. 6. Baskı: Palme Yayınları: Ankara: 2000.
- Mountz JD, Zhou T, Apoptosis and Autoimmunity. In: Koopman WJ. ed. A Textbook of Rheumatology: Arthritis and Allied Conditions. Lippincott Williams & Wilkins 2001.
- Nagle FJ, 1973; Physiological Assessment of Maximal Performance. In: Wilmore JH. Edt. Exercise and Sport Sciences Reviews, New York: Academic Press; 313-339.

- Navarro A, Boveris A,2004;Rat brain and liver mitochondria develop oxidative stress and lose enzymatic activities on aging. *Am J Physiol Regul. Integr. Comp. Physiol.* 287:1244-1249.
- Nehlsen-Cannarella SL, Nieman DC, Jensen J, Chang G 1991; The effects of moderate exercise on lymphocyte function and serum immunoglobulin. *int J Sports Med* 12:391-8.
- Onat T, Emerk K, Sözmén E, İnsan Biyokimyası. Palme Yayınları, Ankara, 2002.
- Orhan H, Holland BV, Krab B, et al 2004; Evaluation of a multi-parameter biomarker set for oxidative damage in man: increased urinary excretion of lipid, protein and DNA oxidation products after one hour of exercise. *Free Radical Research*, 38:1269-1279.
- Oyelola O O, Rufai MA.1993; Plasma lipid, lipoprotein and apolipoprotein profiles in Nigerian university athletes and non-athletes. *Br J Sp Med*; 27(4).
- Pınarbaşı E. Apoptosis (Programlı Hücre Ölümü) (in) *Moleküler Biyoloji*. Yıldırım A., Bardakçı F, Karataş M., Tanyolaç B. (Editör),2007; 423-468, Nobel Yayın, Ankara
- Pinzani P, Petruzzi E, Orlando C, Gallai R, Serio M, Pazzagli M, Serum antioxidant capacity in healthy and diabetic subjects as determined by enhanced chemiluminescence. *J. Biolumin. Chemilumin.* 13, 321–325, 1998
- Preedy VR., Seitz HF.: *Alcohol and Heart Disease*, Chapter 12. KY, USA: Taylor, 2002; 120-122.
- Reznick AZ, Packer L, 1994; Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol*, 233:357-363.
- Rice-Evans CA, Diplock AT, Symons MCR.: *Techniques in free radicals research*. Elsevier, Amsterdam, vol 22. 1991.
- Roshal M, Zhu Y, Planelles V, 2001; Apoptosis in AIDS. *Apoptosis*, 6: 103–116.
- Sadava D, Hillis DM, Heller HC, Berenbaum MR, Yaşam Biyoloji bilimi 9. Baskıdan çeviri Ankara Palme yayıncılık 2014;886-892,1085-1086.
- Skarpanska SA, Szyszka K, 2001; et al. The influence of diet rich antioxidant vitamins on the glutathione level and the content of lipid peroxidation product in the blood of rowers. *Med Sport*, 5: 35-40.
- Squier M K, Miller A C, Malkinson A M, Cohen J J, Calpain activation in apoptosis. *J. Cell Physiol.* 1994; 159(2): 229-237.
- Sönmez GT. *Egzersiz ve Spor Fizyolojisi*. Bolu. Ata Ofset Matbaacılık 2002: 163-167.
- Stadtman ER. 2001. Protein oxidation in aging and age-related diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 928 (1): 22-38.
- Staley K., Blaschke AJ., Chun J. (1997): Apoptotic DNA fragmentation is detected by a semiquantitative ligation-mediated PCR of blunt DNA ends. *Cell Death and Differentiation*, 4: 66-75.
- Tamer K,1996;Farklı Aerobik Antrenman Programlarının Serum Hormonları, Kan Lipidleri ve Vücut Yağ yüzdesi Üzerine Etkisi Gazi Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi.1:1-11.
- Tekcan M. 2009 : Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis. *Androloji Bülteni*,37:131-136.
- Thompson PD, Cullinane EM, Sady SP, Flynn MM, Chenevert CB, Herbert PN.1991;High density lipoprotein metabolism in endurance athletes and sedentary men.84:140-152.

- Trump B F, Berezesky I K, Chang S H, Phelps P C, The pathways of cell death: oncosis, apoptosis, and necrosis Toxicol. Pathol. 1997; 25: 82–8.
- Urso ML, Clarkson PM. 2003; Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. Toxicology, 189:41-54.
- Uluğ M, Uluğ NC, Selek Ş. 2010; Akut Brusellozlu Hastalarda Akut Faz Reaktanlarının Düzeyi. Klinik Dergisi,7:48-50.
- Üstüdal M, Karaca L, Türköz Y. Biyokimya. Medipres. Malatya, 2003.
- Wu LL, Chiou CC, Chang PY et al 2004; Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. Clinica Chimica Acta: International Journal of Clinical Chemistry, 339:1-9.
- www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-25.pdf. 11.22.2016.
- www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf 24.11.2016.
- www.reboundhealth.com/cms/images/pdf/serumalbuminandglobulin%20id%2014563.pdf 27.10.2016.
- Vaux DL, Flavell RA. 2000; Apoptosis Genes and Autoimmunity. Current Opinion in Immunology, 12, 719-724.
- Yıldırım A, Şahin Y N, Turhan H, Şen İ, Kaplan İ. Fırat Tıp Dergisi 2008;13(4): 239-242.
- Yılmaz B. Fizyoloji Canlılık Olaylarıyla İlgili Fiziksel ve Kimyasal Kurallar, Beden Sıvıları, Kan Bağışıklık, Alerji, Lenf. Kemik İliği ve Kan Dolaşımı 2. Basım Ankara. Feryal Matbaacılık 2000; 45-47.
- Yıldırım A, Şahin YN, Turhan H, Şen İ, Kaplan İ. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Atatürk Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu, Fırat Tıp Dergisi 2008;13(4): 239-242.
- Yin H, Xu L, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. Chem Rev 2011;111:5944- 5972.
- Yeum K J, Russell MR, Krinsky I N, Adlani G. 2004; Biomarkers of antioxidant capacity in hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. Archives of Biochemistry and Biophysics. 430: 97-103

7. EKLER

EK A: Etik Kurul Onayı



GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU

Bu araştırmanın yürütülmesi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 28.01.2016 tarih ve 3/13 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir. Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır. Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:

- a. Araştırmanın bilimsel adı:** Elit sporcularda oksidatif stres etkilerinin SDS-PAGE ile karakterizasyonu
- b. Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:**Elit sporcularda oksidatif stres etkilerinin SDS-PAGE yöntemi ile karakteri edilmesi.
- c. Sorumlu Araştırmacının adı:** Zeliha BAŞTÜRK
- d. Araştırmanın içeriği:** Bu araştırmanın amacı, farklı branşlardaki sporcu gruplarının submaksimal ve maksimal egzersizler sonrasında organizmanın maruz kaldığı oksidatif stres etkilerinin serum protein konsantrasyonu, profili ve içeriğindeki değişiklikleri tespit etmektir.
- e. Araştırmanın amacı:** Elit sporcularda oksidatif stres etkilerinin SDS-PAGE yöntemi ile karakterizasyonu ile protein içerik, profil ve konsantrasyonlarının gözlenmesi.
- f. Araştırmanın niteliği:** Tez çalışması
- g. Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** 12.30.2014- 10 veya 12 Hafta
- h. Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** 28

2. Zararların Tazmini ve Araştırma Konusundaki Diğer Soruların Cevaplandırılması: Çalışmalar sırasında oluşabilecek her türlü maddi zarar sorumlu araştırmacı tarafından tazmin edilecektir.

a. Sorumlu Araştırmacının

Adı: Zeliha BAŞTÜRK

Telefon Numarası: 0 532 221 98 60

Görev Yeri: Sinerjim Spor Merkezi, Meram/KONYA

3. Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı, Çalışmadan Çıkarılma: Gönüllü katılımcıların çalışmayı reddetme, çalışmadan istedikleri zaman çekilme hakları ve lüzumu halinde çıkarılma hakları vardır.

GÖNÜLLÜNÜN ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI

- Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.
- Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler , rahatsızlıklarsırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.
- Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.
- Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.
- Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.
- Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.
- Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediyimi biliyorum.
- Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.
- Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Bu tür durumlarda kimliğimin yayınlanmasında her hangi bir sakınca yoktur.
- Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren ‘‘Gönüllü Bilgilendirme Formu’’ adlı metni kendi anadilimde okudum.
- Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı.
- Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.
- Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.
- Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

Gönüllünün;

Araştırmacının;

Adı- Soyadı:

Adı- Soyadı:

İmzası:

İmzası:

Adresi :

Adresi:

Tel:

Tel:

8. ÖZGEÇMİŞ

18 Haziran 1971 yılında Konya’da doğdu. Konya Karatay ilçesi Mahmut Şevket Paşa ilkokulunda ilk öğrenim ve Konya Meram Kız Meslek Lisesi’nde orta öğrenimini tamamladı. Boks ve Kick Boks spor dallarında milli sporcu oldu ve milli takım antrenörlüğü yaptı. 2012 yılında Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Öğretmenliğinden mezun oldu. 2013 yılında Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalında yüksek lisans eğitim programına girmiştir. Halen Altın Kemer Spor Okulu ve Sinerjim Sağlıklı Yaşam ve Spor Merkezi’nde Kick Boks, Taekwondo, Step, Aerobik ve Pilates eğitmenliği ile devam etmektedir.

