T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR

SIÇANLARDA İSTEMLİ FİZİKSEL AKTİVİTE DÜZEYİNE SOSYAL KOŞUL FARKLILIĞININ ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Özge DİNDAR

Referans no: 10410245

EDİRNE – 2022

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR

SIÇANLARDA İSTEMLİ FİZİKSEL AKTİVİTE DÜZEYİNE SOSYAL KOŞUL FARKLILIĞININ ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Özge DİNDAR

Destekleyen Kurum: TÜBAP 2021/97

EDİRNE – 2022

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam ve eğitimim boyunca bilgi birikimi ve desteğiyle her daim yanımda olan tez danışmanım Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR'a, öğretim üyeleri Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK'e, Doç. Dr. Oktay KAYA'ya, Doç. Dr. Selçuk KORKMAZ'a, Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN'e, Dr. Öğr. Üyesi Orkide PALABIYIK'a, tezimin her aşamasında emeği geçen Arş. Gör. Muhammed Ali AYDIN'a ve çalışmamda emeklerini esirgemeyen asistan arkadaşlarıma, projemde maddi desteği olan TÜBAP'a ve değerli aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ **1**
GENEL BİLGİLER **3**
DENEYSEL ÇALIŞMALARDA SOSYAL İZOLASYON VE STRES **5**
EGZERSİZLE İLİŞKİLİ İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER: **5**
EGZERSİZDE KULLANILAN HAYVAN MODELLERİ **7**
EGZERSİZDE KULLANILAN DÖNEN TEKERLEK AKTİVİTESİ MODELİ **9**
EGZERSİZE BAĞLI OLUŞAN FİZYOLOJİK KARDİYAK HİPERTROFİ **11**
NATRİÜRETİK PEPTİDLER **12**
GEREÇ VE YÖNTEMLER **17**
BULGULAR **28**
TARTIŞMA **46**
SONUÇLAR **51**
ÖZET **52**
SUMMARY **54**
KAYNAKÇA **56**
ŞEKİLLER LİSTESİ **63**
ÖZGEÇMİŞ **66**
EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

ANP : Atrial Natriüretik Peptid

BNP : B tipi Natriüretik Peptid

CNP : C tipi Natriüretik Peptid

HDL : Yüksek Dansiteli Lipoprotein

IGF 1 : İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1

IL : Interlökin

IL-1β : Interlökin 1 β

IL-1α : Interlökin 1 α

IL 6 : Interlökin 6

KA / VA : Kalp Ağırlığı / Vücut Ağırlığı

LDL : Düşük Dansiteli Lipoprotein

NT-proBNP : N Terminal pro B tipi Natriüretik Peptid

SVA / VA : Sol Ventrikül Ağırlığı / Vücut Ağırlığı

TNF α : Tümör Nekroz Faktör α

GİRİŞ VE AMAÇ

İstemli tekerlek koşusu, laboratuvar hayvanlarının fiziksel aktivitesini ölçmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (1, 2). Kafeslere eklenmiş bir dönen tekerlek yardımıyla yaptırılan fiziksel aktivitenin, kemirgen türünün ömrünü yüzde on kadar arttırdığı ve olumlu psikolojik etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (3). İstemli egzersiz için dönen tekerlek kullanılan deneysel koşu aktivitelerinde, koşu bandı kullanılarak zorunlu şekilde yaptırılan egzersizlerde olduğu gibi elektrik uyaranı gibi zorlayıcı bir faktör gerekmemektedir. Ayrıca bu aktivite ile normal gece gündüz ritmine müdahale edilmemektedir. Bu nedenle dönen tekerlek kullanılan istemli egzersiz aktiviteleri, daha stressiz koşullar altında gerçekleştirilir.

Dönen tekerlek kullanılarak yaptırılan istemli fiziksel aktivite sırasında, çalışmacının doğrudan müdahalesi gerekmediğinden, bu yöntem uzun süreli deneysel çalışmalarda tercih edilmektedir (4). Bu tür egzersizler, doğal koşu düzeni sağladığı için insan yaşamındaki fiziksel aktiviteye benzer şekilde gerçekleştirilmektedir. Ancak bu olumlu özelliklerin yanı sıra, deneyler sırasında istemli tekerlek koşusunun süresinin doğru şekilde kaydedilebilmesi için deney hayvanlarının kafeslerde uzun süre tek olarak barınması gerekmektedir. Bu durumun sosyal olarak deney hayvanını nasıl etkilediği tam olarak bilinmemektedir.

Deney hayvanları sosyal canlılardır. Daha önce yapılan bir çalışmada sosyal izolasyon stresinin ölüm riskini arttırdığı ve olumsuz sağlık sonuçları ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (3). Bu nedenle fiziksel aktivite uygulanan çalışmalarda, sosyallik dışındaki incelemelerde dönen tekerlek kullanımı sırasında deney hayvanlarının izole edilmesinin olumsuz etkileri olabileceği düşünülebilir. Literatürde hayvanları izole eden istemli fiziksel aktivite çalışmaları geniş yer kaplamaktadır ancak istemli fiziksel aktivite yapan hayvanların sosyal olabileceği durumda fiziksel aktivitenin nasıl etkilendiği tam olarak bilinmemektedir.

Deneysel çalışmalarda fiziksel aktivite düzeyinin incelenmesi açısından kardiyak değişimlere bakılması yol gösterici olabilir. Günlük hayatta kaslarımızı kullanarak enerji tüketimi ile gerçekleşen, dayanıklılık egzersizine benzer şekilde sürdürülen, solunum ve kalp hızını farklı oranlarda arttıran aktiviteler, aynı zamanda kardiyovasküler adaptasyonla yakından ilişkilidir (5, 6). Kalp, bu adaptasyon sürecinde, kas kütlesini arttırarak hipertrofik değişime uğrayabilmektedir, böylece kan basıncı ve kan hacmindeki artışlara uyum sağlamaktadır.

Kardiyak hipertrofi, kalbin ventriküler duvar stresini en aza indirerek daha fazla iş yüküne maruz kaldığında kasılma fonksiyonunu en uygun şekilde sürdürmesini sağlar (7). Kardiyak hipertrofi, fizyolojik ve patolojik olmak üzere iki şekilde tanımlanır (8). Fizyolojik hipertrofi, patolojik hipertrofiden farklı olarak istirahatte normal kardiyak kontraktil fonksiyonda bir iyileşme sağlayıp kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu bir role sahipken (9) patolojik hipertrofi, kardiyak kontraksiyon ve enerji metabolizmasındaki bozulma ile ilişkilendirilmektedir (10). Fizyolojik hipertrofinin genellikle büyüme süreci ve hamileliğin yanı sıra egzersize yanıt olarak ortaya çıktığı görülmüştür (7). Literatürde dönen tekerlek olan kafeslerde istemli fiziksel aktiviteye maruz kalan farelerin, sedanter farelere kıyasla daha büyük bir kalp kütlesine sahip olduğu belirtilmiştir (4).

Bu tez çalışmasının amacı, sosyallik faktörünün istemli fiziksel aktivite düzeyine, fizyolojik kardiyak hipertrofiye ve stres faktörlerine etkisini incelemektir. Bu amaçla sosyal izolasyon olmadan istemli tekerlek koşusu yapan sıçanlarda, fizyolojik kardiyak hipertrofi (11), kardiyak performans ve kardiyak yeniden şekillenmenin düzenlenmesinde önemli role sahip olduğu belirtilen atriyal natriüretik peptid (ANP) ve B tipi natriüretik peptid (BNP) (12) düzeyleri, stres belirteçleri olan kortizol, interlökin-1beta (IL-1β), tümör nekroz faktör (TNFα) düzeyleri ve metabolik açıdan kan glikoz ve lipid düzeylerindeki değişim incelenmiştir.

GENEL BİLGİLER

Yazılı tarihin başlangıcından bu yana araştırmacılar, düzenli yapılan fiziksel aktivitenin sağlıklı yaşamın vazgeçilmez bir unsuru olduğunu belirtmişlerdir. Birçok bilim insanı, fiziksel aktivitenin yirmi beşten fazla kronik hastalığın hafifletici unsuru veya reçetesi olduğunu savunmuştur (13). Ayrıca fiziksel aktivite eksikliği, günümüzün de en önemli sağlık problemlerinden biridir (14). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, fiziksel hareket eksikliği, yıllık yaklaşık 3,2 milyon ölümle sonuçlanan ve küresel ölüm oranı en yüksek dördüncü risk faktörüdür (15). Koroner arter hastalığı, inme, hipertansiyon, kolon kanseri, meme kanseri, tip 2 diyabet, obezite, osteoporoz ve depresyon fiziksel olarak hareketsiz bir yaşam tarzıyla ilişkilendirilmektedir (16).

Fiziksel aktivite, kas iskelet sisteminin çalışmasıyla yapılan, bazal seviyenin üzerinde enerji harcanmasını gerektiren ve fiziksel uygunluğu arttıran tüm vücut hareketleri olarak tanımlanmaktadır (17). Fiziksel olarak yapılan tüm hareketlerde iskelet kasları enerji harcayarak fiziksel aktivite gerçekleştirmiş olur. Fiziksel aktivite ile ilgili olarak toplam enerji harcaması, kişinin toplam kas kütlesi miktarına, kas kasılmalarının yoğunluğuna, süresine ve sıklığına göre belirlenir. Gün içinde yapılan ev işleri, ev içerisindeki rutin aktiviteler, ulaşım için yürüyüş gibi hareketler fiziksel aktivite grubuna girmektedir. Bununla birlikte, fiziksel aktivitenin miktarı kişinin tercihine bağlıdır. Fiziksel aktivite çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Genel kullanılan bir yaklaşım, fiziksel aktivitenin gerçekleştiği zamanları günün bölümlerine entegre etmektir. Örneğin, uyurken, çalışırken ve boş zamanlarda yapılan fiziksel aktivite şeklinde gruplandırma yapılabilmektedir(18). Günün her bölümündeki fiziksel aktivitenin enerji harcaması toplanarak günlük ne kadar enerji harcandığı hesaplanmaktadır. Uyku sırasında fiziksel aktiviteden kaynaklı enerji harcaması genellikle küçük bir paya sahip

olacaktır. Boş zamanda yapılan fiziksel aktivite başlığı genişletilerek spor, kondisyon egzersizleri, ev işleri gibi alt başlıklara da ayrılabilmektedir (19).

Geçmiş yıllarda fiziksel aktivite ve egzersiz neredeyse aynı anlamda kullanılmaktaydı. Ancak günümüzde egzersiz, fiziksel aktivitenin alt basamağı olarak performansı arttırmak, fiziksel uygunluğu ve sağlıklı olma durumunu geliştirmek gibi amaçlarla yapılan planlı ve tekrarlı hareketler şeklinde tanımlanmaktadır (20). Ayrıca egzersiz, kalp ve damar sistemini etkileyen fizyolojik bir stres yaratmakta bu nedenle kalp performansını değerlendirmede de kullanılmaktadır. Egzersiz esnasında, kalp debisi ve metabolizma hızı artar. Bu artış, egzersizin tipi, süresi, yoğunluğu; kişinin kilosu, yaşı ve cinsiyetine, dolaşım ve solunum sistemi başta olmak üzere farklı sistemleri etkileyen hastalıklarının varlığına bağlı olarak değişir (21). Sağlığı geliştirmek, iyileştirmek veya tedavi amacıyla kullanılan egzersizler için terapötik egzersiz ifadesi de kullanılmaktadır.

Egzersiz, kas kontraksiyonunun tipine göre izometrik, izotonik ve izokinetik olarak üç gruba ayrılır. İzometrik egzersiz esnasında, egzersizi gerçekleştiren kas boyunda değişiklik olmadan kasılma meydana gelmektedir ve bu egzersiz sırasında gözle görülen bir eklem hareketi oluşmamaktadır. İzotonik egzersiz, konsantrik ve eksantrik kasılma sırasında gerçekleşir. Kasın boyundaki değişmeyi takiben kasın gerimi de değişerek hareketin bir noktasında kas gerimi maksimuma ulaşır. İzokinetik egzersiz yapan kasların hızları, izokinetik dinamometreler ile kontrol edilmektedir. Hareketin hızı sabittir fakat direnç ayarlanabilir. Kişinin harcadığı efor ile verilen direnç doğru orantılıdır (19). Ayrıca egzersiz, dinamik (izotonik, aerobik), statik (izometrik, anaerobik) ve direnç (izotonik ve izometrik) egzersizleri olarak ve egzersizin yoğunluğuna göre ise düşük, orta ve yüksek yoğunlukta egzersiz olarak sınıflandırılmaktadır (22). Dinamik egzersiz, aerobik kapasitede ya da kas gücünde veya her ikisinde iyileşme sağlamak için yeterli yoğunluk, süre ve sıklıkta yapılan egzersiz olarak tanımlanabilir (23). Büyük kas gruplarında ritmik kasılmalar sayesinde kasın uzunluğunda ve eklem hareketlerinde değişime sebep olan dinamik egzersizler, kasın geriliminde değişiklik yaratmamaktadır. Statik egzersizler ise küçük kas gruplarında büyük bir gücün geliştiği kasılmalarla kasın geriliminde değişikliğe yol açmamaktadır (22). Direnç egzersizleri ise kasları güçlendirmek amacıyla yapılan egzersizlerdir.

Fiziksel aktivite karmaşık bir davranıştır ve başka şekillerde de sınıflandırılabilir. Örneğin, hafif, orta ve ağır yoğunlukta fiziksel aktiviteler olarak sınıflandırma yaygın şekilde kullanılmaktadır.

DENEYSEL ÇALIŞMALARDA SOSYAL İZOLASYON VE STRES

Stres, bir canlının tehdit olarak algıladığı herhangi bir durum veya olay karşısında bedensel ve ruhsal olarak zorlanmasıyla meydana gelen durumlardır. Akut stres, nöroplastisitenin bozulması yoluyla gerçekleşir ve depresyonun başlamasına bir etken olabilir. Kronik stres ise nörokimyasal değişikliklere sebep olmakta ve kronik stresin depresyon benzeri davranışlarla birlikte psikiyatrik rahatsızlıkların meydana gelmesinde önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir (24). Daha önceki çalışmalarda, stresin bağışıklık sistemi üzerinde olumsuz sonuçları olduğundan bahsedilse de yeni kanıtlar daha farklı bulgular sunmaktadır. Bu çalışmalarda, stresli durumun süresi, bireyin bu duruma tepkisi ve bu durumu nasıl algıladığı gibi çeşitli etmenlere bağlı olarak bedensel savunmayı azaltabileceği gibi arttırabileceği de belirtilmektedir. Ayrıca stresli duruma karşı bireyin uyumu bağışıklık üzerinde farklı etkilere sahiptir.

Anneden ayrılma ve sosyal izolasyon gibi yaşamın erken evrelerinde meydana gelen stres, beyin gelişimi açısından risk faktörü oluşturabileceği gibi psikolojik rahatsızlıklara da sebep olmaktadır (24). Yapılan çalışmalarda, sosyal ilişkilerin dopaminerjik sistemi etkilediği ileri sürülmektedir (25, 26). Örneğin, ebeveyn bakımı açısından yetersiz büyüyen genç yetişkinlerin psikolojik bir stres faktörüne karşı daha yüksek oranda dopaminerjik ve kortizol düzeyinde değişim şeklinde tepkiler verdiği gözlenmektedir (27). Ayrıca sosyal izolasyon stresi, anksiyete, depresyon, bilişsel işlev bozukluğu gibi davranışsal anormallikleri tetiklemesinin yanı sıra kardiyovasküler hastalıklar, kardiyomiyopati, inme ve iskemiye yanıt vermede bozulma, obezite, metabolik hastalıklar, oksidatif stres, mitokondriyal işlev bozukluğu gibi hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (28).

Sıçanlar, insanlar gibi sosyal canlılardır. Sosyal temaslarının sıklığı ve yoğunluğu ergenlik dönemlerinde zirveye ulaştığı için yaşamlarının erken dönemlerinde grup halinde barınmaları önerilmektedir (29). Yetişkinlik dönemlerinde sosyal etkileşim nispeten azalmaktadır. Bu nedenle, izolasyon süresi ve izolasyonun zamanlaması stres faktörünün ne derece tetiklendiğini belirlemektedir (30).

EGZERSİZLE İLİŞKİLİ İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER

Tümör Nekroz Faktör α

İlk olarak 1975 yılında Carwell ve arkadaşları tarafından bağışıklık sisteminin uyarılmasıyla birlikte önemli sitotoksik aktivite gösteren dolayısıyla da tümör nekrozuna neden olan TNF α, iltihaplanma, hücre çoğalması, hücre farklılaşması ve apopitoz sırasında

bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynayan güçlü bir proinflamatuar sitokindir (31). 1984 yılında, tömör nekroz faktörün cDNA'sı klonlanmış, bundan birkaç yıl sonra ise her biri her iki sitokini bağlayabilen iki zar reseptörü tanımlanmıştır. Böylece TNF'nin büyük bir sitokin ailesinin, prototipik üyesi olduğu anlaşılmıştır (32). TNFα, hem zara bağlı şekilde hem de salgılanmış şekillerde gözlemlenen tip II transmembran proteinleri içeren üyelere sahiptir (33).

Makrofajlar, fibroblast kemotaksisinde, proliferasyonunda ve ek olarak kollajen sentezi ve bozulmasında düzenleyici rol oynarlar. İnterlökinler ve TNF gibi makrofaj kökenli hücrelerden salınan faktörler, fibroblastlarının göçü ve aktivasyonunda önemli bir role sahiptirler (2). Uygun şekilde yara iyileşmesinin sağlanması için TNFα'nın doku seviyeleri önem taşımaktadır (34). Feiken ve ark.nın (35) yapmış olduğu deneysel çalışmada yaranın oluşumundan 12 saat sonra TNFα lokal olarak tespit edilmiş, 72 saat sonra en yüksek seviyelerine ulaşmıştır.

Son zamanlardaki bulgular, yaşamın erken dönemlerinde meydana gelen stres faktörlerinin çok çeşitli fiziksel ve zihinsel problemler ile arasındaki bağlantıyı açıklarken periferik düşük dereceli inflamasyonun payını giderek daha önemli hale getirmektedir. İnflamasyon, patojenler gibi zararlı uyaranlara veya fiziksel yaralanmalara karşı vücudun, dokulara veya hücrelere verilen hasarlara ani tepkisidir. Bu yanıt, uyaranın devam etmesi halinde veya inflamatuar yanıtı azaltamaması durumunda devam eder ve yayılırsa düşük dereceli kronik inflamasyon ortaya çıkar. Bu kronik inflamasyon da bir çok sağlık sorunuyla ilişkilendirilmektedir (36).

TNFα artışı gibi inflamatuar sitokinlerin egzersize bağlı stres yanıtında da önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (37). TNFα'nın temel etkileri inflamasyon ve immünomodülasyondur. İnflamatuar yanıt sırasında TNFα'nın ilk olarak kan mononükleer hücrelerinde salgılandığı ayrıca yüksek yoğunluktaki kas aktivitesi gerçekleştiği zamanlarda kasılan iskelet kaslarından üretilip salgılandığı bilinmektedir (38, 39).

Interlökin 1β

Ateş ve inflamasyon gibi durumlardan sorumlu endojen faktörler üzerinde onlarca yıldır yapılan çalışmaların sonucunda bu durumların birçoğunun 1979 yılında interlökin-1 olarak adlandırılan faktör ailesi tarafından gerçekleştirildiği ileri sürülmüştür (40). Bu sitokinler, vücudun birçok hücresi tarafından salgılanan ve bu hücrelerin işleyişini etkileyen polipeptidlerdir. IL-1 ailesinin bazıları dolaşımda düşük seviyelerde bulunmalarına karşın

patojenlere karşı önemli rol oynar ve güçlü inflamatuar sinyaller indüklerler (41). IL-1α ve IL-1β, şu ana kadar bilinen on bir üyeden oluşan IL-1 ailesinin kurucu üyelerini oluşturur (42). IL-1 ailesinin üyelerinin çoğu, biyolojik olarak aktif olgun formlar elde etmek için bölünme gerçekleştirirler (43). IL-1β, inflamatuar sinyallere yanıt olarak çok sayıda hücre tarafından üretilir, salgılanır ve bağışıklık reaksiyonlarını tetikleyici etki gösterirler (44). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, IL-1β, akut inflamasyonda lökositlerin enfeksiyon bölgelerine sızması için ön hazırlık olarak, APC-uyarıcı aktiviteyi, immün ve endoteryal hücreler üzerinde yapışma reseptörlerinin yukarı regülasyonunu desteklerler (45).

IL-1β, IL-6 ve TNFα dahil olmak üzere proinflamatuar sitokinler, akut faz ve stres tepkilerini başlatır ve güçlendirirler (38). Yapılan bir çalışmada, stres içeren durum sırasında monosit alımının bloke edilmesiyle birlikte kaygı oluşumunun engellendiği ve kortikal IL-1β ekspresyonunun zayıfladığı tespit edilmişti (46). Buna ek olarak birkaç kemirgen stres modeli çalışmasında da beyinde IL-1β artmasına bağlı olarak korku ve kaygının da arttığı görülmüştür (47, 48).

Fiziksel aktivite, lökositlerin aracı olduğu, IL-1β ve TNFα'nın da katıldığı dolaşımdaki proinflamatuar sitokinlerin yüksek konsantrasyonları ile kendini gösteren subklinik bir inflamatuar yanıtı indüklenmektedir.

EGZERSİZDE KULLANILAN HAYVAN MODELLERİ

İnsan çalışmalarında kontrol edilemeyen değişkenlerin çoğu hayvan çalışmalarında daha kolay kontrol edilebildiği görülmüştür. Deney hayvanları ile uzun süren deneysel çalışmalar etik etkenler dikkate alınarak gerçekleştirilebilmekte ve birçok alanda uzun yıllardır tercih edilmektedir.

Deney hayvanları ile su labirenti, su tankları, koşu bandı ve dönen tekerlek sistemi kullanılarak yüzme, yürüyüş ve koşu egzersizleri çalışmaları yapılmaktadır. Egzersizde kullanılan hayvan modellerinde, birçok su labirenti geliştirilmesine rağmen en yaygın kullanılan Richard Morris'in sistemidir. Morris su labirenti, bilinen anlamda bir labirent değil, yaklaşık yarısı su ile doldurulmuş, açık dairesel bir havuzdur. İç kısmı mümkün olduğunca basit şekilde tasarlanmış, hayvanın su yüzeyinin altına batmış ve sabit şekilde yerleştirilmiş nispeten küçük ve gizli bir platformu arayarak bulması hedefini içeren bir labirent sistemidir. Platformdaki su opaklaştırıcı bir madde eklenerek (çoğunlukla tempera boyası veya polipropilentopaklar) görünmez bir platform ve arka plan renk uyumu oluşturulur ya da renkli bir arka planda şeffaf platform kullanılarak kamufle edilir. Standart

olarak labirentin iki ana ekseni belirtilir ve her çizgi hayali bir + sembolü oluşturarak labirenti birbirine dik olarak ikiye böler. Her satırın sonunda, kuzey, güney, doğu, batı olacak şekilde dört ana nokta belirlenir. Güney noktası deneğin konumunu, kuzey kısmı karşısını, doğu kısmı deneğin sağını, batı kısmı ise solunu işaret eder. Bu labirenti yer ve mekansal öğrenimi değerlendirmek amacıyla tasarlamış olan Morris, 1984'te temel prosedürlerini tamamlamış olsa da sonraları öğrenme ve hafıza biçimlerini araştırmak için sisteme ayrıntılar eklemiştir (49). Su tankı kullanılan çalışmalarda, deney hayvanı tankın herhangi bir konumundan yüzmeye başlatıldığında gizlenmiş olan platforma giden yolda gezinmek için uzak ipuçlarını kullanır. Ayrıntılı analizler, kemirgenlerin tank duvarından açısal ayrılma ve mesafeyi içeren bir dizi ipucu kullanarak görevi gerçekleştirebildiklerini göstermiştir (50).

Hayvan çalışmalarında bilişsel süreçleri değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bu labirentte yüzme egzersizi ile öğrenme oranının artacağı ileri sürülmektedir (51). Örneğin, van Praag ve ark.nın (52) yapmış olduğu 45 günlük çalışmada, kontrol grubuna kıyasla su labirenti sistemine erişimin sağlandığı deney grubunda daha fazla kazanım elde edildiği görülmüştür. Tüm yöntemlerde olduğu gibi Morris su tankının da zayıf yönleri mevcuttur. Bu eksiklikler, küçük labirentlerin kullanılması, öğrenmeyi etraflıca değerlendirmeye olanak sağlamayan protokoller, referans belleği değerlendirmek için yapılan çalışmalarda uygun aralığın bulunamaması gibi eksikliklerden kaynaklanmaktadır.

Hayvan çalışmalarında uygulanan yüzme egzersizinde ise, sıçanlar 60 cm derinliğinde ılık su ile doldurulan bir yüzme havuzuna (150cm× 60cm× 70cm) yerleştirilmektedir. Her hayvan farklı bir şeride yerleştirilerek hayvanlar arasındaki etkileşim önlenmektedir. Yüzme havuzunun sıcaklığı 31 ± 1°C değerlerinde tutulmaktadır. Hayvanların yüzme egzersizini sürdürmesi için her hafta hayvanların ağırlıkları ölçülüp ağırlıklarının %5'i oranında kaudal dambıl kullanılmakta ve hayvanların kiloları arttıkça kaudal ağırlıklar arttırılmaktadır (53).

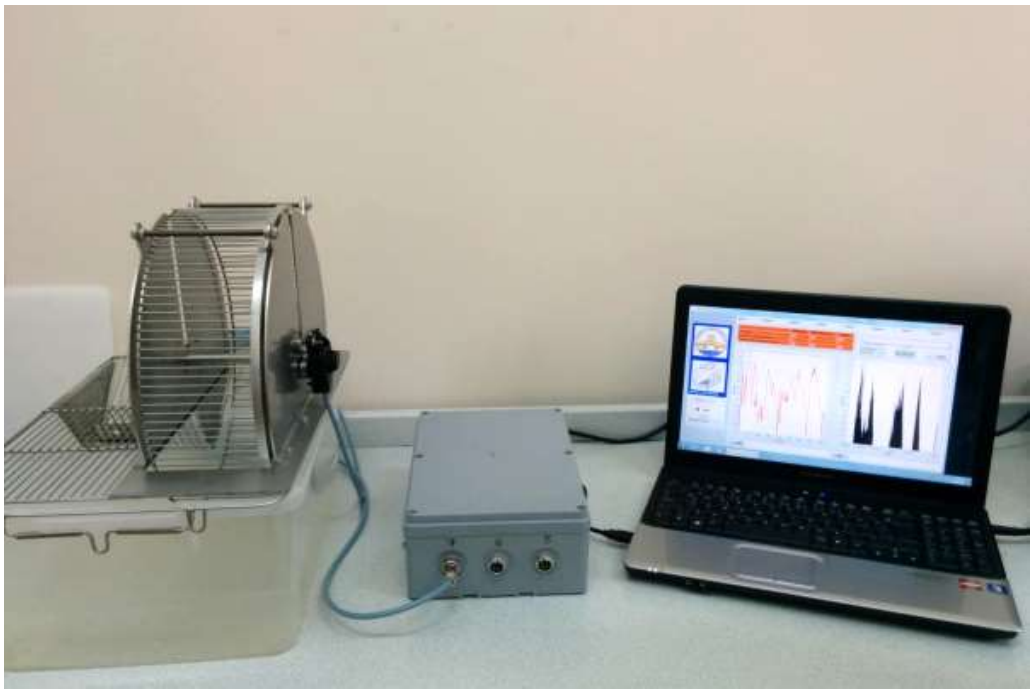
Hayvan çalışmalarında kullanılan bir diğer egzersiz modeli olan koşu bandı egzersizinin ise sıçanlarda hem kolinerjik fonksiyonu hem de uzamsal öğrenme üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu fiziksel aktivitenin uzamsal öğrenme fonksiyonunu belirgin şekilde arttırdığı ve hipokampus kolinerjik fonksiyonu geliştirdiği gözlemlenmiştir (54). Koşu bandı egzersizinin, dönen tekerlek aktivitesine göre dezavantajı günün belli bir kısmında araştırmacının gözetiminde gerçekleşmesi ve elektrik şoku gibi uyarıcı bir faktöre ihtiyaç duyulmasıdır. Bir diğer yandan, günün belli bir saatinde yapılması, insandaki egzersiz için

ayrılan zamana benzer şekilde gerçekleşir. Buna bağlı olarak da egzersiz protokolü belirli bir saat dilimini kapsayan araştırmalarda koşu bandı aktivitesi tercih edilebilmektedir.

EGZERSİZDE KULLANILAN DÖNEN TEKERLEK AKTİVİTESİ MODELİ

İnsanlar ve hayvanlardaki aktif olma eğilimi genetik ve çevresel faktörler tarafından şekillenir. Fiziksel aktivitedeki bireysel farklılıkların altında yatan nöral, endokrin ve fizyolojik mekanizmaları birbirinden ayırmak için deneysel modeller kullanılır ve fiziksel aktivite değerlendirilir (55). Kemirgenlerde egzersiz eğitimi sonucunda, egzersiz türüne ve miktarına bağlı olarak iskelet kaslarında, morfolojik ve metabolik özelliklerinden dolayı yüksek miktarda adaptasyon gözlemlenir (56). Ayrıca dönen tekerlek sisteminin kemirgen ömrünü %10 oranına kadar arttırdığı düşünülmektedir (57). Buna ek olarak çalışmalarda elde edilen kanıtlara göre, dönen tekerlek mekanizmasının mitokondriyal işlevi iyileştirdiği, antioksidan sistemi geliştirdiği ve deneysel patoloji modellerinde oksidatif stresi azalttığı gözlemlenmiştir (28, 58).

Dönen tekerlek ile yapılan egzersiz çalışmalarında daha çok fareler ve sıçanlar tercih edilir. Sıçanlarda kullanılan ve bizim de bu tez çalışmasında kullandığımız dönen tekerlek sistemi, çoğunlukla paslanmaz çelik yapıda ve çevresi yaklaşık olarak 1 metre uzunluğundadır. Sistemde, kemirgenin dönen tekerlekler üzerinde geçirdiği süreyi, toplam koşu aktivitesinin uzunluğunu ve hızını kaydetmek için bir sensör bulunmaktadır.



Şekil 1. Dönen tekerlek sistemi (96)

İstemli egzersizde, dönen tekerlek sistemi karmaşık olmayan ve ölçülebilir bir fiziksel aktivite metodu olduğu için yaygın kullanılan bir deneysel modeldir. Çoğu kemirgen, dönen tekerlek sisteminde içgüdüsel olarak koşmaya başlar ve böylece kolaylıkla ölçülebilen bir fiziksel aktivite metodu olarak deneysel çalışmalarda kullanılır (59). Dönen tekerlek aktivitesinde, kemirgenlerin koşma davranışı, koşu bandı egzersizinden daha doğal bir koşu modeli sağlar (60). Çünkü, dönen tekerlek sistemi, elektrik çarpması veya el ile müdahale gibi negatif bir uyarıcı gerektirmez ayrıca kemirgenlerin gece-gündüz periyoduna müdahale de gerekmediği için daha az stres içeren koşullar altında gerçekleşir (61). Dönen tekerlek sisteminin bir diğer olumlu etkisi ise çalışmacının sürekli müdahalesi gerekmediği için uzun süreli deneysel modellerde tercih edilebilmesidir.

Dönen tekerlek sistemi laboratuvar hayvanlarının fiziksel aktivite düzeyini değerlendirmek ve egzersizin etkilerini modellemek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (62). Fakat, egzersizin akut etkilerini incelemek için dönen tekerlek sisteminin kullanımı sınırlıdır, çünkü aktivitenin hızını ve süresini kontrol etmek olanaksızdır. Araştırmacının hayvan tarafından yapılan egzersiz üzerinde minimum etkisi vardır. Aktivitenin hızını ve süresini kontrol edememek de istemli tekerlek aktivitesinin en büyük dezavantajıdır.

Dönen tekerlek üzerinde koşma davranışının sadece fiziksel aktiviteyi yansıtmadığı, aynı zamanda genetik ve çevre ile etkileşime giren karmaşık ve dinamik bir davranış olduğu bilinmelidir. Bununla birlikte, kemirgenler tarafından gerçekleştirilen tekerlek aktivitesi hem türler arasında hem de tür içerisinde büyük değişiklikler gösterir (63). Dönen tekerlek aktivitesi, cinsiyet, zorlanma, yaş, koşu tekerleğinin tasarımı, diyet ve çevre koşullarından yoğun şekilde etkilenir ve bu durum istemli koşu süresini etkileyebilir.

Dönen tekerleklerde kemirgenler, tipik bir koşu düzenine sahiptir. Egzersiz kapasitesindeki değişiklikleri test etmek için, en az 1 hafta kadar adaptasyon süreci uygulanıp (64) tekerlek koşusu izlenebilir. Böylece uzun egzersiz sürelerine verilen fizyolojik tepkilerin beklenmeyen etkilerinden kaçınılmış olunur. Kemirgenler adaptasyondan sonra bu koşu aktivitesini arttırıp haftalarca koruyabilir fakat bir süre sonra denekler yaşlandıkça koşu aktivitesinde düzenli bir düşüş görülmeye başlanacaktır. Yaşlanmada egzersizin etkilerini incelemek için de uzun süreli veya ömür boyu istemli tekerlek aktivitesi tercih edilmektedir.

EGZERSİZE BAĞLI OLUŞAN FİZYOLOJİK KARDİYAK HİPERTROFİ

Kalbin temel görevi hem normal koşullar altında hem de stres durumunda periferik organların perfüzyonunu devam ettirmektir. Artmış ön yük veya art yük meydana geldiğinde bu görevi devam ettirebilmek için kalp kası hücreleri terminal olarak farklılaşırlar ve sınırlı bir çoğalma yeteneğine sahiptirler. Bu yüzden kalp, kasılma kuvvetini ve iş yükünü artırmak amacıyla hipertrofik yeniden şekillenme ile hacmini ve kas kütlesini değiştirir. Bu dinamik yanıt sırasında, kardiyomiyositlerin boyutu artar, şekilleri değişir, gen ekspresyonu değişir ve hücre iskeleti ile hücre dışı matriksi yeniden şekillenir (65). Kalp, kalp kası kütlesini arttırarak kan basıncındaki veya kan hacmindeki sürekli artışa uyum sağlar ve miyokarddaki bu büyüme kalp hipertrofisi olarak isimlendirilir. Kardiyak hipertrofi, ventriküler duvar stresini en aza indirir, kalp normalden daha fazla iş yükü ile karşılaşsa bile kasılma işlevini devam ettirir (66).

Kardiyak hipertrofi, fizyolojik kardiyak hipertrofi ve patolojik kardiyak hipertrofi olarak sınıflanabilir. Her iki hipertrofi türü de başlangıçta kardiyak strese adaptif bir yanıt olarak meydana gelir. Fakat altta yatan moleküler mekanizmalar tamamen birbirinden farklıdır. Patolojik hipertrofiye, sistemik veya pulmoner hipertansiyon, miyokard infaktüsü, koroner arter hastalığı, sarkomerik proteinleri kodlayan genlerin mutasyona uğraması, diyabetik ve metabolik kardiyomyopati, viral ve bakteriyal miyokardit, kapak yetmezliği ve doğuştan kalp bozuklukları gibi etmenler neden olur. Patolojik hipertrofi, artan miyosit hücrelerinde ölüm, fibrotik yeniden şekillenme ve çoğunlukla kalp yetmezliğine kadar ilerleyen sistolik ve diyastolik mekanizmalarda azalma ile ilişkilidir (67). Fizyolojik kardiyak hipertrofi ise doğumdan erken yetişkinliğe kadar kalbin normal büyüme sürecini gerçekleştirmesini, annenin kalbinin hamilelik süresince büyümesini ve aşırı veya tekrarlı egzersiz sonucunda sporcunun kalbinin büyümesini ifade eder. Bebeğin doğumundan erken yetişkinliğine kadar gerçekleşen fizyolojik hipertrofi, büyüyen canlının daha ileri dolaşım ihtiyacı, dolaşımdaki artan büyüme hormonu ve insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF 1) seviyeleri tarafından indüklenir (68). Gebeliğin neden olduğu kardiyak hipertrofi, bebeğin en hızlı büyüdüğü üçüncü trimesterde en yoğun şekilde gözlemlenir. Gebedeki dolaşım hacmi ve kalp debisindeki en büyük artış bu dönemde görülür (69). Egzersize bağlı kardiyak hipertrofi ise 19.yy'ın sonlarına doğru maraton koşucularına uygulanan elektrokardiyografik çalışmalarla tanımlanmaya başlanmıştır (70).

Fizyolojik hipertrofi, vücut kütlesine göre normalize edilmiş kalp ağırlığındaki %10-20 arasında artışı ifade eden bir değerdir. Uzun süreli ve tekrarlı antrenman sonucunda sol

ventrikül ağırlığındaki artış ‘’sporcu kalbi’’ olarak adlandırılmaktadır (71). Kuvvet antrenmanıyla gelişen hipertrofi ve dayanıklılık antenmanı ile gelişen hipertrofi olmak üzere iki ayrı morfolojinin ayırt edilebileceğini öne süren Morganroth ve ark.na göre (72), yüksek dinamik etkilere sahip koşu gibi sporlarla ilgilenen sporcular, dayanıklılık antrenmanının yüksek kardiyak debisi ile ilişkili hacim aşırı yüklenmesinin neden olduğu duvar kalınlığında orantılı bir artışla ağırlıklı olarak artmış sol ventrikül büyümesi geliştirmişlerdir. Bu nedene bağlı olarak, dayanıklılık eğitimi almış sporcuların, sol ventrikül duvar kalınlığı ile sol ventrikül yarıçapı arasında değişmeyen bir ilişki ile karakterize eksantrik sol ventrikül hipertrofisi gösterdiği düşünülmektedir. Daha çok statik veya izometrik egzersiz gibi kuvvet antrenmanı ile ilgilenen sporcularda ise yüksek sistemik arteriyel basınçla beraber değişmeyen sol ventrikül boyutu ile artmış sol ventrikül duvar kalınlığı gözlemlenmiştir. Dayanıklılık antenmanı yapan kalp eksantrik hipertrofi geliştirirken, kuvvet antenmanlı kalbin konsantrik hipertrofi geliştirdiği sonucuna ulaşılmıştır.

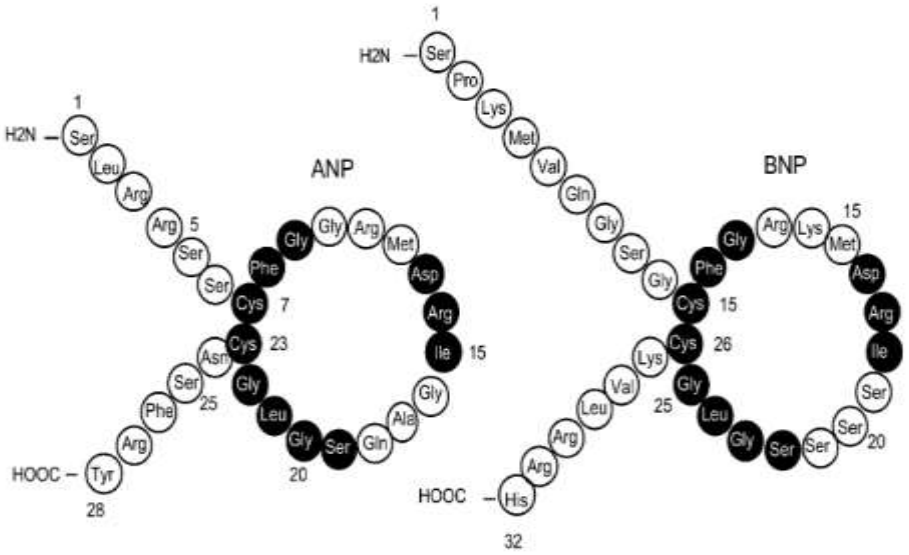
Bir başka çalışma ise dinamik ve statik antrenman yapan sporcularda farklı adaptasyonların meydana geleceğini belirtip kuvvet antrenmanlı kalp ile dayanıklılık antrenmanlı kalp hipotezini doğrularken bunun mutlak değil göreceli bir kavram olduğunu ileri sürmüştür. Tüm dayanıklılık antrenmanlarında kalp debisindeki artışla birlikte kan basıncının artacağını her kuvvet antrenmanında olduğu gibi de kalp artış hızının, kalp debisinin ve kan basıncının artacağını belirtmişlerdir (73).

NATRİÜRETİK PEPTİDLER

Natriüretik peptidler vücutta geniş bir şekilde dağılım gösteren ve birbirleriyle bağlantı halinde olan bir polipeptid ailesi olarak tanımlanır. Vazodilatatör, diüretik ve natriüretik gibi etkileri olan ve vücutta birçok işlevi olan polipeptidlerdir. Natriüretik peptid ailesi; Atriyal natriüretik peptit (ANP), B tipi natriüretik peptit (BNP), C tipi natriüretik peptit (CNP) ve insan vücudunda bulunmayan Ürodilatin ve Dendroaspis natriüretik peptit (DNP) şeklinde sınıflandırılmaktadır. 1981’de Bold ve ark.’nın öncülük ettiği çalışmalarda miyositler tarafından sentezlenen ve salgılanan 28 aminoasit içeren ve bir kalp hormonu olan ANP keşfedilmiştir. Daha sonraki senelerde natriüretik peptid ailesi genişlemiştir (74).

Kardiyak atriyumdan salgılanan ANP’nin, kan basıncını ve kalp hipertrofisini azaltmak üzerine endokrin ve parakrin şekilde etkili olduğu gözlemlenirken, BNP ventriküllerden salgılanır ve dolaşıma verilir. Ayrıca BNP, ventriküllerdeki fibrozu azaltmak

için lokal şekilde etki göstermektedir. CNP'nin ise uzun kemik büyümesini uyardığı bilinmektedir (12).



Şekil 2. Natriüretik Peptitlerin Kimyasal Yapısı (95).

Kardiyak natriüretik peptitler ANP (28 amino asit) ve BNP (32 amino asit) yapı olarak homologdur ve bir disülfid köprüsü ile bir halka oluşturur. Aynı amino asit siyah olarak işaretlenmiştir.

Atrial Natriüretik Peptid

Yapılan bilimsel çalışmalar sonucunda kalple ilgili klasik bakış açısının değişmesine ANP keşfedilmesi katkı sağlamıştır. Kalbin yalnızca dolaşım işlevi olan bir organ olmadığı bununla birlikte önemli bir endokrin fonksiyonu olduğu görülmüştür. ANP sırasıyla altı ve beş aminoasitten oluşan amino ve karboksi terminal kuyrukları ile on yedi üyeli bir aminoasit halkası oluşturan 28 aminoasitten oluşur. ANP'yi kodlayan gen üç ekzona sahiptir ve transkripti 151 amino asitlik bir prekürsor preproANP'ye dönüştürülür. 25 amino asitli sinyal peptidi daha sonra çıkarılır ve hormonun doku formu olan 126 amino asit proANP (y-ANP) elde edilir. ProANP'nin salgılanması sırasında transmembran enzim corin tarafından proteolitik olarak ANP'ye dönüştürüldüğü düşünülmektedir (75). Atrial natriüretik peptidin 28 aminoasitli olgun formu insanda bir metionin içerdiği sıçanlarda ise izolösin olan 12. pozisyonda sadece bir aminoasidin farklı olmasıyla türler arasında iyi korunmuştur. Bu

formun dolaşımdaki hali insanlarda, atlarda, şempanzelerde, köpeklerde, koyunlarda ve domuzlarda aynıdır. Bu olgun form sıçanlar, fareler ve tavşanlar arasında aynıdır (76).

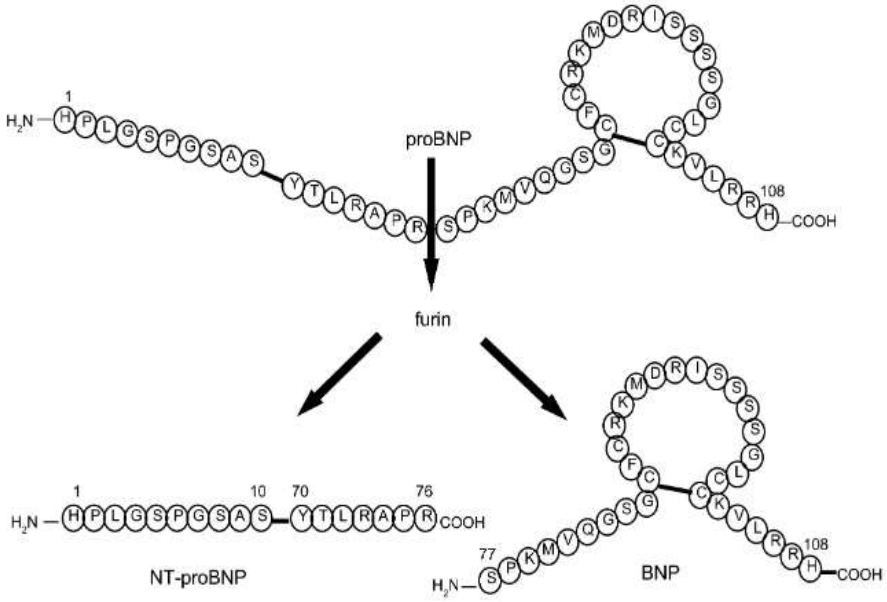
Asıl olarak atrial gerilmeye bağlı olan ANP, kardiyomiyositlerde sentezlenen ve salgılanan bir polipeptid hormondur (77). ANP'nin etki ettiği mekanizma natriürez, diürez, vazodilatasyon ve renin-anjiotensin sistemi ile sempatik sinir sistemi gibi hücre dışı sıvı hacmini ve kan basıncını arttırma eğilimindedir (78). Egzersiz sırasında ANP temel olarak, kardiyovasküler sistemin egzersize adaptasyonunu sağlar; egzersizde kan basıncı değişikliğini ayarlamak için koroner arteri genişletir, koroner arterin kan akış hacmini yükseltir. Kalbin beslenmesini sağlar bunun yanında böbreğin kan akış hacmini düzenler, vücuttaki su ve elektrolit dengesini düzenler ve sonuç olarak homeostazı sağlamış olur (78).

ANP'nin etkisi, kalp kası hücreleri vasıtasıyla kana salındıktan sonra hedef hücrenin yüzeyindeki natriüretik peptid reseptörleriyle birleşerek gerçekleşir (79). Egzersiz sırasında maksimum kalp debisi, solunum artışı ve ekstremitedeki kas aktivitesinin artışı, venöz dönüşte atrial disfonksiyonda önemli bir artışa neden olur ve ANP salınımını arttırır (77).

B Tipi Natriüretik Peptid

ANP'nin keşfinden dört yıl sonra Sudoh ve ark. (80) tarafından domuz beyin dokularından izole edilerek beyin natriüretik peptit (BNP) keşfedilmiştir. BNP, 108 amino asit içeren prohormon proBNP'yi kodlar. Dolaşımda biyolojik olarak aktif 32 amino asitli BNP hormonu, prohormonun NT-proBNP olarak adlandırılan n-terminal kısmından ayrıdır.

Kalpte hacim genişlemesi ve basınç yüklenmesine cevap olarak BNP, miyosit gerilmesine sebep olur ve ventriküllerden salgılanır. Fizyolojik olarak dolaşımda BNP seviyeleri, ANP seviyelerinden daha düşük oranda bulunmalarına rağmen bazı kalp hastalıklarında, ventriküllerden salgılanan stres kaynaklı bir hormon olduğu için patofizyolojik olarak büyük bir öneme sahiptir. BNP seviyelerinde bu gibi durumlarda ANP'den daha fazla artış gözlemlenir (81). Bu yüzden plazma BNP ve NT-proBNP, klinikte kalp yetmezliği tanısı ve prognozu için faydalı biyobelirteçler olarak kullanılmaktadır.



Şekil 3. Biyolojik olarak aktif BNP ve NT-proBNP'ye enzimatik bölünmeyi gösteren proBNP'nin şematik çizimi (95).

Yapılan bir çalışma göstermiştir ki hem BNP hem de NT pro-BNP egzersizin hemen sonrasında değişim göstermektedir (82). Yine bir başka çalışmada, kalp yetmezliği tanısı alan hastalarda egzersiz eğitimi alan hastaların BNP ve NT pro-BNP seviyelerinde olumlu etkiler gözlemlenmiştir ve daha da önemlisi natriüretik peptidlerdeki bu değişiklikler fonksiyonel kapasite ile ilişkilendirilmiştir (83).

CNP Tipi Natriüretik Peptid

Natriüretik peptidler, kardiyovasküler sistem içinde spesifik rollere sahip, yapısal anlamda birbirleriyle bağlantılı insan vücudunda üç hormondan oluşan bir aile olarak tanımlanmaktadır. ANP ve BNP'nin daha erken keşfiyle birlikte daha ayrıntılı incelenmelerine karşın C tipi natriüretik peptid hakkında diğer ikisine nispeten daha az bilgi bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda CNP'nin doku dağılımının ve etki mekanizmasının ailenin diğer üyeleri olan ANP ve BNP'ye göre farklı olduğu vurgulanmıştır. CNP'nin çeşitli endojen rollerinin ortaya çıktığı bu çalışmalarda, vasküler tonus, lökosit aktivasyonu, anjiogenez, endotelyal hücre ve düz kas proliferasyonu, koroner kan akışının kontrolü gibi etkileri olduğu ileri sürülmektedir (84). CNP'nin, CNP-53 ve başlangıçta domuz beyninde keşfedilen CNP-22 olmak üzere doku ve plazmada bulunan iki formu vardır (85). Yapısal olarak peptidi serbest bırakan endotel hücrelerde ve kondrositlerde CNP seviyeleri yüksek düzeyde bulunurken kardiyovasküler sistemdeki diğer

hücreler ve fibroblastlar ek olarak ayrıca CNP üretirler. Ancak sağlıklı bireylerde CNP seviyeleri, doku ekspresyonu ve plazmada düşüktür bu durumda CNP'nin kalp ve kan damarlarında lokal bir parakrin/otokrin aracı olduğu varsayılmaktadır (84). CNP'nin plazmada yarılanma ömrü 2.6 dakika kadar sürmektedir (86). Buna karşın, kalp yetmezliği gibi rahatsızlıkları olan hastalarda, CNP seviyelerinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu gibi CNP salınımının yüksek olduğu veya gen ekspresyonunun arttığı uyaranların çoğunda TNFα, IL1β gibi inflamatuar sitokinler kardiyovasküler sistem sağlığıyla ilişkilendirilebilir (87, 88)

GEREÇ VE YÖNTEMLER

DENEY HAYVANLARI VE GRUPLAR

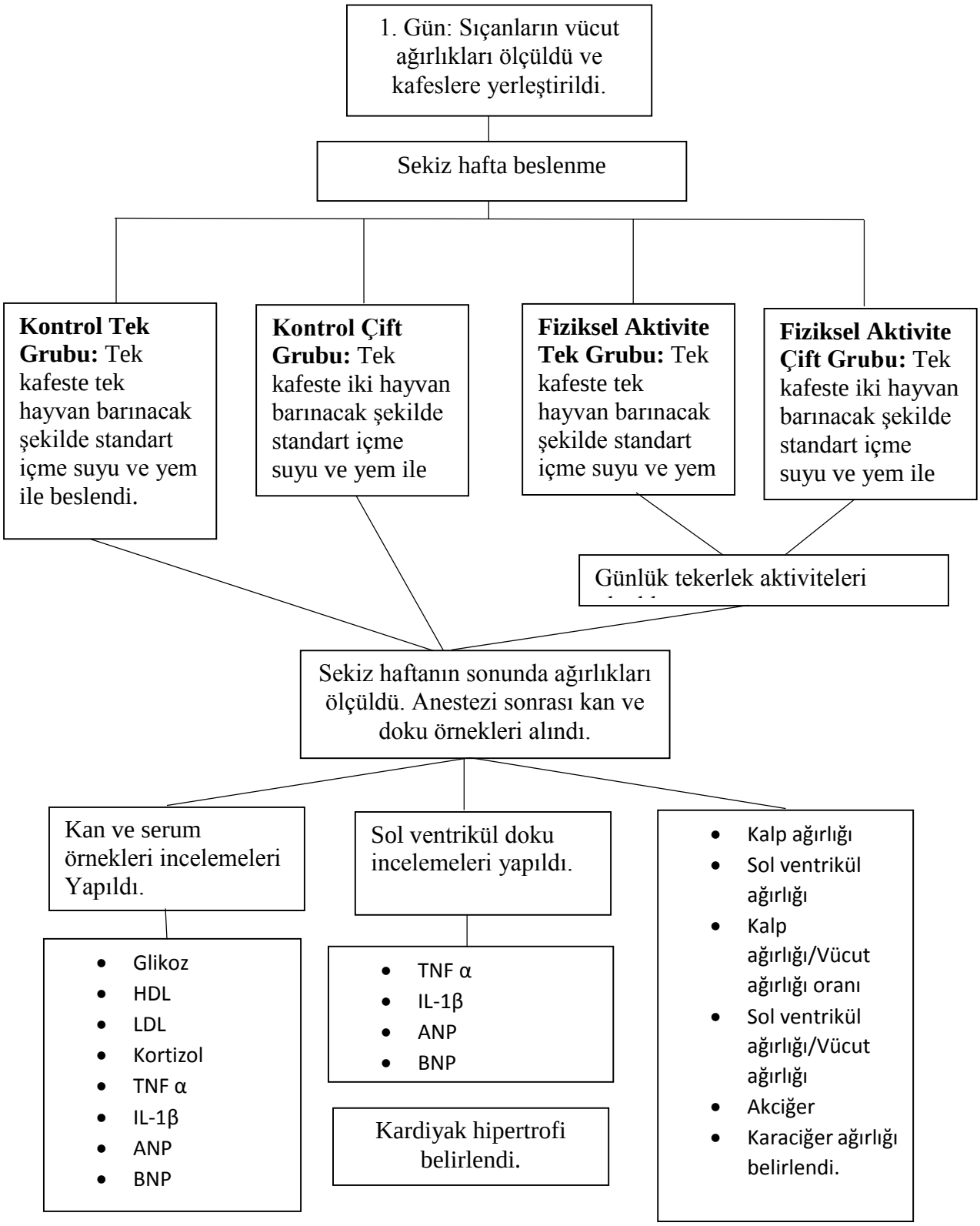
Bu tez çalışmasında, 7-8 haftalık Spraque-Dawley türü dişi sıçanlar, Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nden temin edilmiştir. Tüm hayvanlar, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık periyoduna uyularak, %50-55 nem oranı, 21±2°C sıcaklıktaki ortamda tutulmuştur. Tüm sıçanlara, sekiz hafta boyunca %24 protein, %5,5 yağ, %11 karbonhidrat ayrıca selüloz, vitamin ve mineral karışımı içeren standart sıçan yemi ve normal içme suyu *ad libitum* verilmiştir.

Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından yapılan değerlendirme sonucunda 28.05.2021 tarihli kararı ile etik kurul onayı alınmıştır (Ek 1). Çalışma, Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Birimi ve Fizyoloji Anabilim Dalı Moleküler Fizyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiş ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (TÜBAP-97).

DENEY PROSEDÜRÜ

Sıçanlar, rastgele Kontrol Tek (KT), Kontrol Çift (KÇ), Fiziksel Aktivite Tek (FAT) ve Fiziksel Aktivite Çift (FAÇ) olarak 4 gruba ayrıldı. Çalışmada yer alan KT (n=6), KÇ (n=6), FAT (n=5) ve FAÇ (n=6) grubu tüm sıçanlar su ve standart yem ile sekiz hafta beslendi. Sekiz haftalık zaman periyodunda sıçanlar, FAT grubunda tek kafeste tek hayvan, FAÇ grubunda ise tek kafeste iki hayvan olacak şekilde aktivite ölçer tekerleklerin (Atatek Otomasyon End. Ürün. San. Ltd. Şti) bulunduğu kafeslerde tutularak gönüllü fiziksel aktivite yaptılar.

Sekiz haftalık dönem sonunda tüm hayvanların vücut ağırlıkları ölçüldü ve ardından anestezi amacıyla ketamin (60 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) intraperitoneal yolla uygulandı. Anestezi altındaki sıçanlarda toraks açılarak, kalpten vakumlu tüpe yaklaşık 10 ml kadar kan örneği alındı. Kan örnekleri oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Sonrasında +4°C de 15 dakika boyunca 3000 devirde santrifüj (MPW 350R, Polonya) edildi. Çalışma planına göre serumlar -80°C derin dondurucuya (Aucma DW-86L630, Shanghai, China) yerleştirildi. Kan alımının hemen ardından dokular çıkartılarak kalp ağırlıkları, sol ventrikül ağırlıkları, septum+sol ventrikül ağırlıkları, karaciğer ve akciğer ağırlıkları hassas terazi (Mettler Toledo, AB204-S, İsviçre) ile tartıldı. Kardiyak hipertrofiyi belirlemek için sol ventrikülün vücut ağırlığına oranı ve toplam kalp ağırlığının vücut ağırlığına oranı belirlendi. Bu çalışmada sekiz haftalık beslenme süresi boyunca deney gruplarındaki tüm hayvanların içme suyunda bakteri gelişimini önlemek için, sulukları her hafta temizlendi.

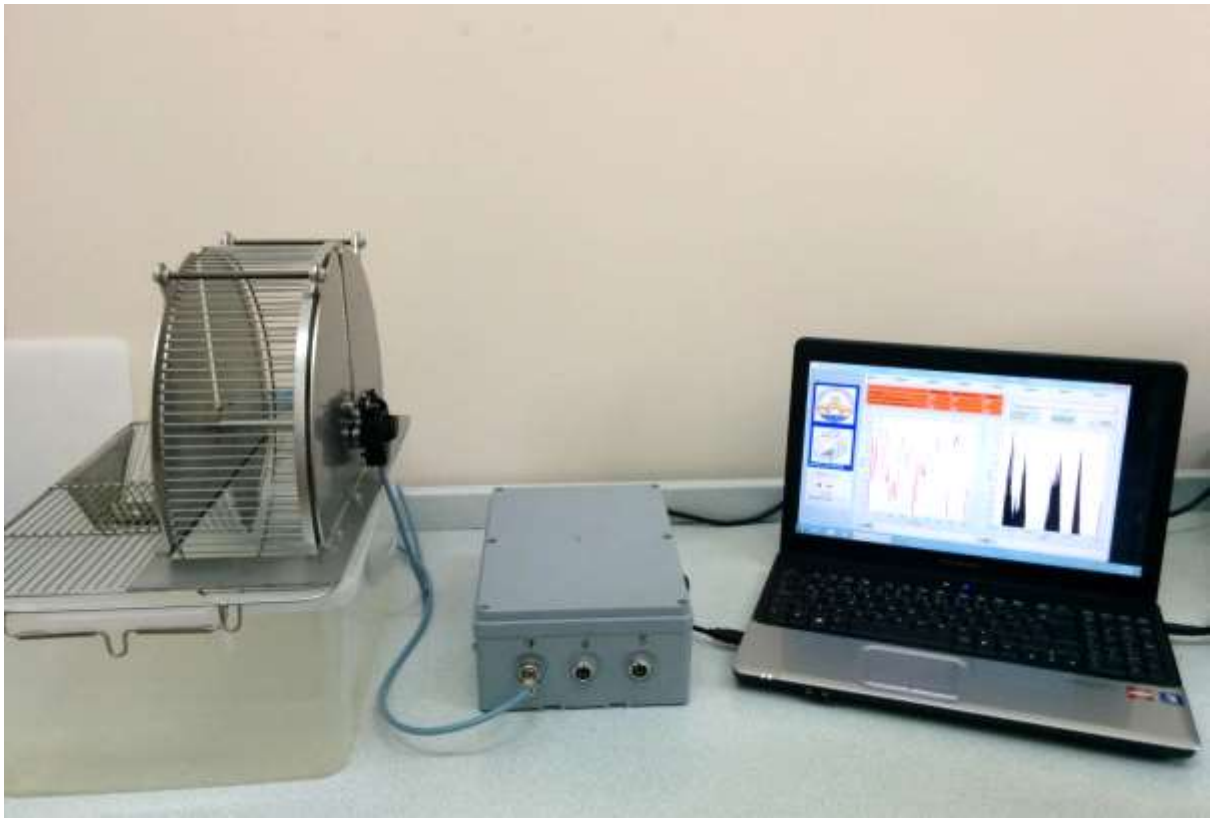


Şekil 4. Deneysel dizayn.

VÜCUT AĞIRLIĞI BELİRLENMESİ VE FİZİKSEL AKTİVİTENİN YAPTIRILMASI

Hayvanların deneyin başlangıcından itibaren iki haftada bir olacak şekilde ve deney sonlanmadan hemen önce vücut ağırlıkları ölçüldü.

Sıçanların gönüllü fiziksel aktivite yapabilmeleri için kafeslere monte edilen dönen bir tekerlek ve dönme sıklığını kaydeden bir kayıt düzeneği kullanıldı (Şekil 5).



Şekil 5. Gönüllü tekerlek aktivitesi kayıt düzeneği (96)

Bu düzenekte fiziksel aktivite yapan FAT grubunda her kafeste tek hayvan bulunurken FAÇ grubunda her kafeste iki hayvan bulundu. Deney boyunca her gün tekerleğin her iki yönde dönme sayısı takip edildi. Uygulamaya başlamadan önce FAT ve FAÇ gruplarındaki sıçanlara bir hafta boyunca dönen tekerlekli kafeslerde tekerleği tanımaları ve kullanabilmeleri için alıştırma yaptırıldı. Günlük tekerlek devirleri saat yönü, saat yönünün tersi ve toplam tur sayısı olarak kaydedildi. Dönen tekerlek, 31,5 cm çapında ve 10 cm genişliğinde, tekerleğin kafes içi yüksekliği de 7 cm idi. Tekerleğin çevresi ise 1,081 metreydi. Tekerlek kafesten çıkarılabilir ve temizlenebilir özellikteydi. Günlük tekerlek aktiviteleri km/gün olarak belirlendi.

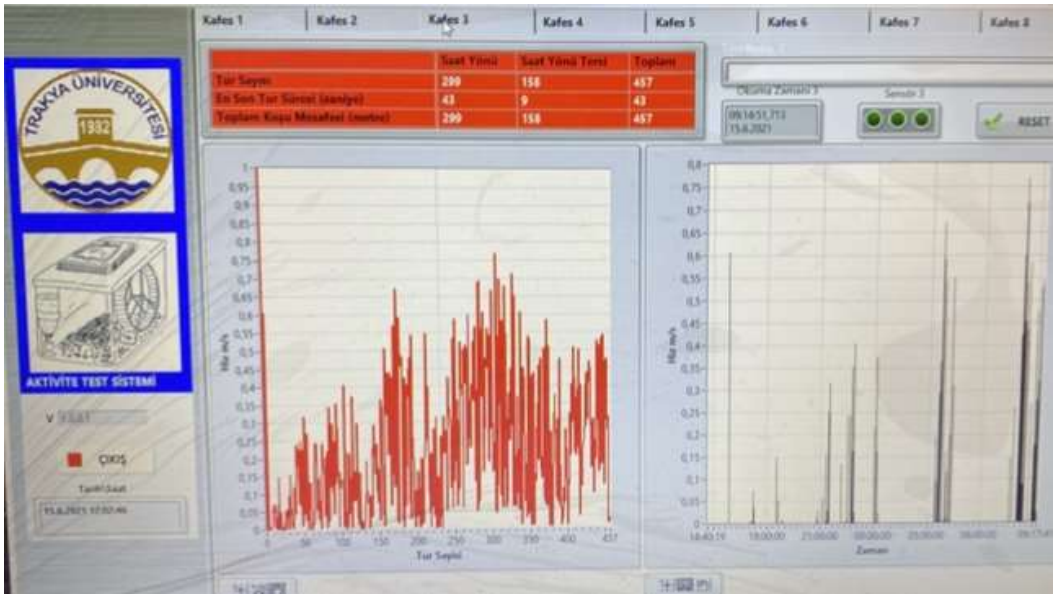


Şekil 6. Hayvanların tek tek barındığı kontrol grubu ve dönen tekerlekli kafesler



Şekil 7. Hayvanların ikişerli barındığı kontrol grubu ve dönen tekerlekli kafesler

Ayrıca, Şekil 8'te gösterildiği gibi 24 saatlik zaman periyodunda kafes içindeki hayvanın aktif olduğu zamanlar; hız-zaman grafiğiyle, hayvanın dönen tekerlekteki her bir turun hızı; hız-tur sayısı grafiği belirlendi.



Şekil 8. Tekerlek aktivitesi sonucu meydana gelen grafikler

METABOLİK İNCELEMELER

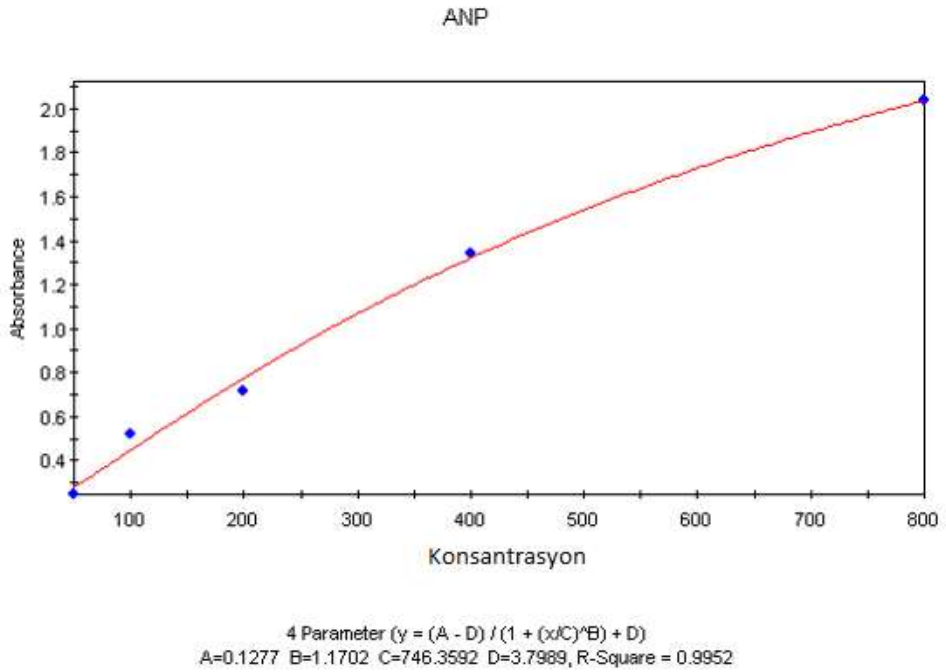
Serum örnekleri oda ısısında çözüldükten sonra glukoz, total kolesterol, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ölçümleri Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Laboratuvarı'nda bulunan otoanalizör (Abbot Architect c16, Amerika) ile ölçüldü.

Doku Örneklerinin Homojenizasyonu

Tüm gruplardan elde edilen kalp dokuları çalışma yapılıncaya kadar -80°C'de saklandı. Dokular, ağırlığının 10 katı olacak şekilde 0.01 M PBS (Ph 7.2) tamponu ile homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 1500g de, 15 dk, +4°C'de santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi. ELISA çalışmalarında kullanılan doku homojenatları ise 0.01 M PBS (PH 7.2) tamponu ile %10'luk (w:v) olacak şekilde hazırlanarak 5000 g de, 5dk, +4°C'de santrifüj edilerek hazırlandı.

ANP Düzeyinin Ölçülmesi

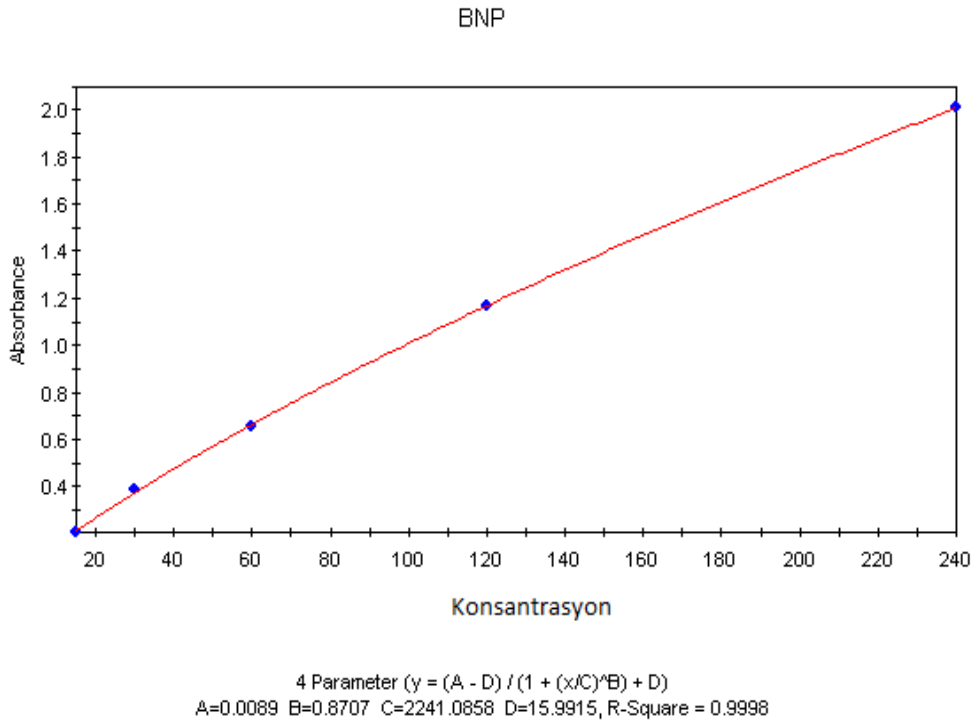
Serum ve doku örneklerinde ANP düzeyinin değerlendirilmesi ELISA yöntemi ile kit kullanılarak (BT LAB Cat. No: E0642Ra, Shanghai, China) yapıldı. Çalışma öncesinde -80°C' de muhafaza edilen serum ve doku örnekleri ayrıca kit prosedürüne uygun olarak muhafaza edilen tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Standartlar hazırlanarak ilgili kuyucuklara 50 µL pipetlendi. Serum örnekleri ve doku homojenatları 40 µL pipetlenerek üzerlerine 10 µL biotinlenmiş antikor eklendi. Ardından streptavidin-HRP antikoru her kuyucuğa, kör (blank) kuyucukları hariç 50 µL olacak şekilde pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 60 dk etüvde inkübasyona bırakıldı. Ardından laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkama cihazı ile kitte belirtilen koşullarda 5 kez (350 µL) yıkama yapıldı. Yıkamanın ardından 50 µL substrat A solüsyonu ve 50 µL substrat B solüsyonu pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 10 dk inkübe edildi. İnkübasyonun ardından her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu pipetlenerek reaksiyon durduruldu ve 450 nm'de ELISA reader cihazında absorbans okumaları yapıldı. Ölçümün standart regresyon grafiği Şekil 9'da verilmiştir.



Şekil 9. ANP düzeyinin standart çalışması regresyon grafiği

BNP Düzeyinin Ölçülmesi

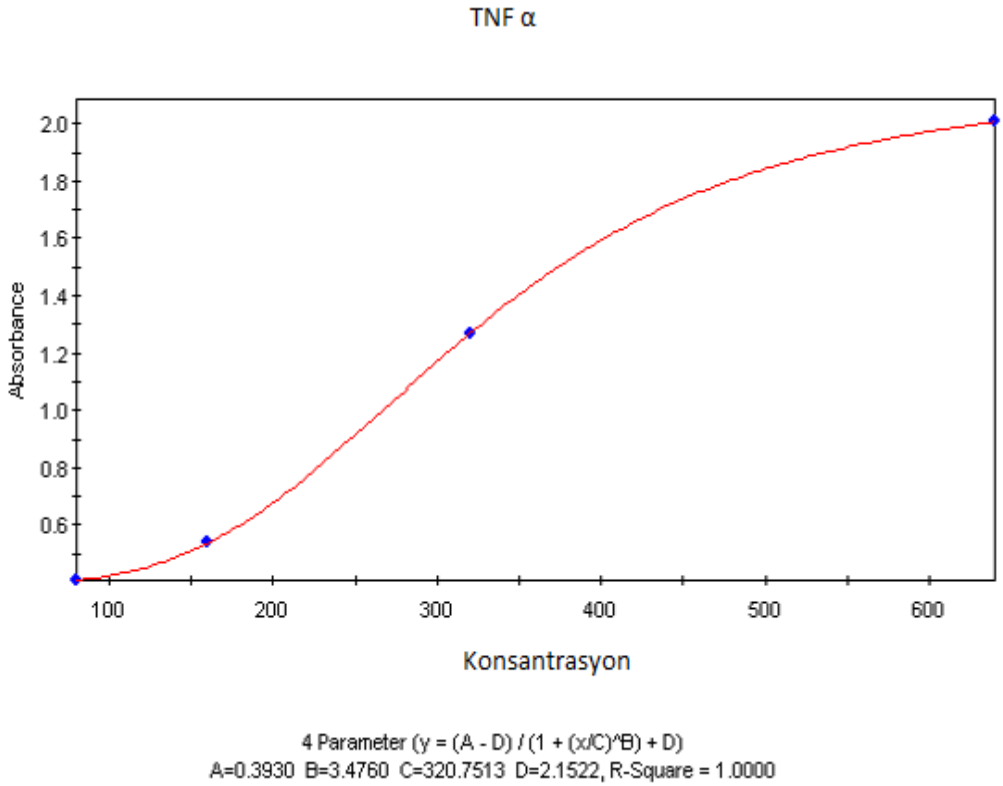
Serum ve doku örneklerinde BNP düzeyinin değerlendirilmesi ELISA yöntemi ile kit kullanılarak (BT LAB Cat. No: E0475Ra, Shanghai, China) yapıldı. Çalışma öncesinde - 80°C' de muhafaza edilen serum ve doku örnekleri ve ayrıca kit prosedürüne uygun olarak muhafaza edilen tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Standartlar hazırlanarak ilgili kuyucuklara 50 µL pipetlendi. Serum örnekleri ve doku homojenatları 40 µL pipetlenerek üzerlerine 10 µL biotinlenmiş antikor eklendi. Ardından streptavidin-HRP antikoru her kuyucuğa (blank kuyucukları hariç) 50 µL olacak şekilde pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 60 dk etüvde inkübasyona bırakıldı. Ardından laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkama cihazı ile kitte belirtilen koşullarda 5 kez (350 µL) yıkama yapıldı. Yıkamanın ardından 50 µL substrat A solüsyonu ve 50 µL substrat B solüsyonu pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 10 dk inkübe edildi. İnkübasyonun ardından her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu pipetlenerek reaksiyon durduruldu ve 450 nm'de ELISA reader cihazında absorbans okumaları yapıldı. BNP ölçümünün standart regresyon grafiği şekil 10'da verilmiştir.



Şekil 10. BNP düzeyinin standart çalışması regresyon grafiği

TNFα Düzeyinin Ölçülmesi

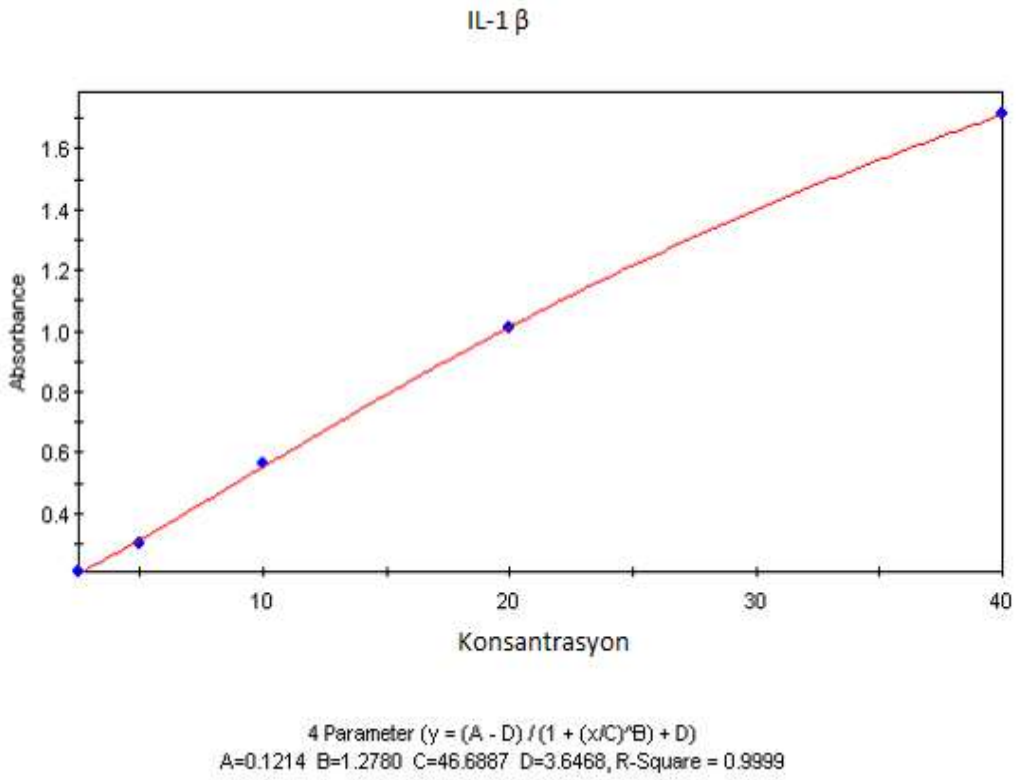
Serum ve doku örneklerinde TNFα düzeyinin değerlendirilmesi ELISA yöntemi ile kit kullanılarak (BT LAB Cat. No: E0764Ra, Shanghai, China) yapıldı. Çalışma öncesinde - 80°C' de muhafaza edilen serum ve doku örnekleri ve ayrıca kit prosedürüne uygun olarak muhafaza edilen tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Standartlar hazırlanarak ilgili kuyucuklara 50 µL pipetlendi. Serum örnekleri ve doku homojenatları 40 µL pipetlenerek üzerlerine 10 µL biotinlenmiş antikor eklendi. Ardından streptavidin-HRP antikoru her kuyucuğa (blank kuyucukları hariç) 50 µL olacak şekilde pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 60 dk etüvde inkübasyona bırakıldı. Ardından laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkama cihazı ile kitte belirtilen koşullarda 5 kez (350 µL) yıkama yapıldı. Yıkamanın ardından 50 µL substrat A solüsyonu ve 50 µL substrat B solüsyonu pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 10 dk inkübe edildi. İnkübasyonun ardından her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu pipetlenerek reaksiyon durduruldu ve 450 nm'de ELISA reader cihazında absorbans okumaları yapıldı. Çalışmanın standart regresyon grafiği Şekil 11'de gösterilmiştir.



Şekil 11. TNFα düzeyinin standart çalışması regresyon grafiği

IL-1β Düzeyinin Ölçülmesi

Serum ve doku örneklerinde IL-1β düzeyinin değerlendirilmesi ELISA yöntemi ile kit kullanılarak (BT LAB Cat. No: E0119Ra, Shanghai, China) yapıldı. Bu ölçümün öncesinde -80°C' de muhafaza edilen serum ve doku örnekleri ve ayrıca kit prosedürüne uygun olarak muhafaza edilen tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Standartlar hazırlanarak ilgili kuyucuklara 50 µL pipetlendi. Serum örnekleri ve doku homojenatları 40 µL pipetlenerek üzerlerine 10 µL biotinlenmiş antikor eklendi. Ardından streptavidin-HRP antikoru her kuyucuğa (blank kuyucukları hariç) 50 µL olacak şekilde pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 60 dk etüvde inkübasyona bırakıldı. Ardından laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkama cihazı ile kitte belirtilen koşullarda 5 kez (350 µL) yıkama yapıldı. Yıkamanın ardından 50 µL substrat A solüsyonu ve 50 µL substrat B solüsyonu pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 10 dk inkübe edildi. İnkübasyonun ardından her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu pipetlenerek reaksiyon durduruldu ve 450 nm'de ELISA reader cihazında absorbans okumaları yapıldı. Ölçüme ait standart regresyon grafiği Şekil 12'de gösterilmiştir.



Şekil 12. IL-1β düzeyinin standart çalışması regresyon grafiği

HİSTOLOJİK İNCELEME

Ventriküllerin enine transmural dilimleri kesitlere ayrıldı (5 m) ve histolojik inceleme için rutin takip aşamaları uygulandı. Kesitler, hema-toksilen ve eozin ile boyandı. Işık mikroskobik incelemesi bir Nikon eclipse E600 mikroskop ile yapıldı ve dijital görüntüler alındı. Rastgele seçilmiş, uzunlamasına yönlendirilmiş kardiyomiyositlerin enine transnükleer genişlikleri, sistem kalibre edildikten sonra tek bir araştırmacı tarafından ölçüldü. 100 LV kardiyomiyositlerin ortalama değeri, her numuneyi temsil edecek şekilde bir değer belirlendi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bulguların istatistiksel analizleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda gerçekleşti. Değerler ortalama ± standart sapma olarak gösterildi. Grup sayıları güç analizi yapılarak belirlendi. Gruplar arası karşılaştırmalar verilerin normal dağılması durumunda One-way ANOVA ile yapıldı. İkili karşılaştırmalar için ise Fisher LSD ve Tukey HSD analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak belirlendi. Verilerin analizinde SPSS 20.0 paket programı (Lisans No:10240642) kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmamızda Spraque-Dawley türünde dişi sıçanlar kullanılarak standart yem ve su ile beslenen tüm sıçanlar sağlıklı bir şekilde deneyi tamamlamışlardır. Sekiz hafta süren deney protokolü sırasında fiziksel aktivite kaydı yapılmış, beslenme süreci sonunda hipertrofi ile ilgili belirteçler, stres belirteçleri, metabolik ve morfolojik belirteçlerin ölçümleri aşağıdaki şekilde saptanmıştır.

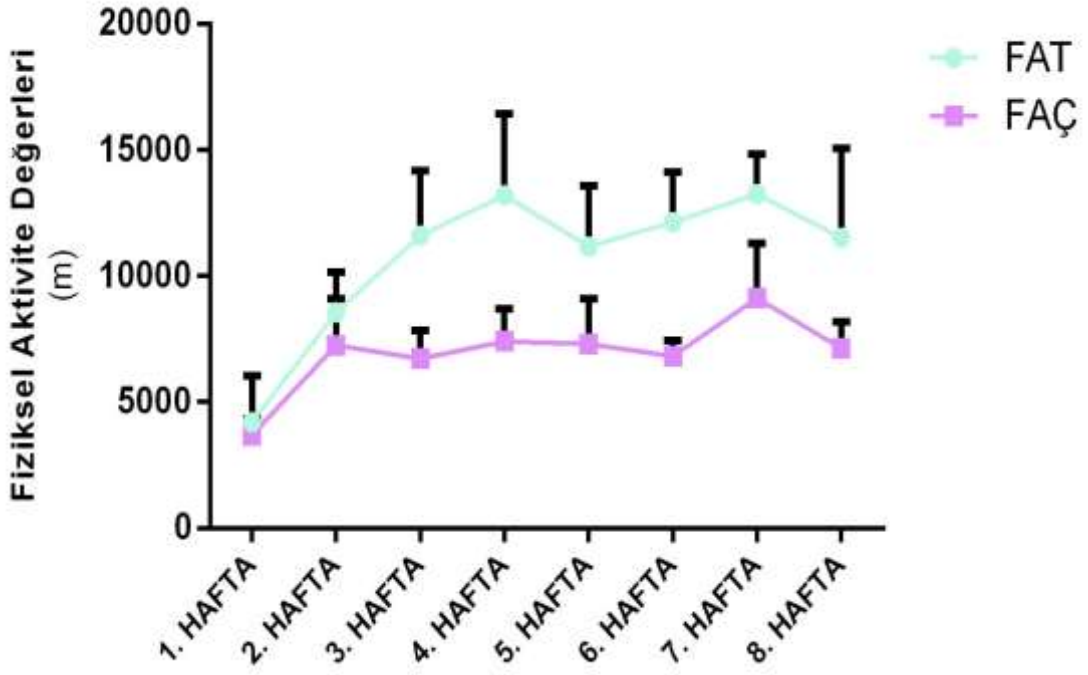
İSTEMLİ FİZİKSEL AKTİVİTE ÖLÇÜMLERİ

Çalışmamızda dönen tekerlek bulunan kafeslerde 8 hafta boyunca barınan FAT ve FAÇ olarak adlandırılan sıçanlarının haftalık fiziksel aktivite ortalama değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Çift olarak barındırılan gruptaki toplam fiziksel aktivite değeri hayvan sayısına bölünerek her bir sıçan için ortalama değer hesaplanmıştır ($p<0,001$)(4).

Tablo 1. Fiziksel aktivite yapan tek ve çift kafes başına kat edilen günlük ortalama mesafeler

Gruplar	FAT (n=5)	FAÇ (n=6)
1. Hafta (m)	4203± 1844	3689± 652
2. Hafta (m)	8559± 1598	7262± 1842
3. Hafta (m)	11613± 2557	6732± 1132
4. Hafta (m)	13210± 3228	7406± 1305
5. Hafta (m)	11178± 2420	7309± 1800
6. Hafta (m)	12138± 2009	6823± 627
7. Hafta (m)	13261± 1580	9125± 2183
8. Hafta (m)	11529± 3550	7137± 1061

FAT: Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift



Şekil 13. Fiziksel aktivite yapan gruplarda fiziksel aktivitenin günlük ortalamaları.

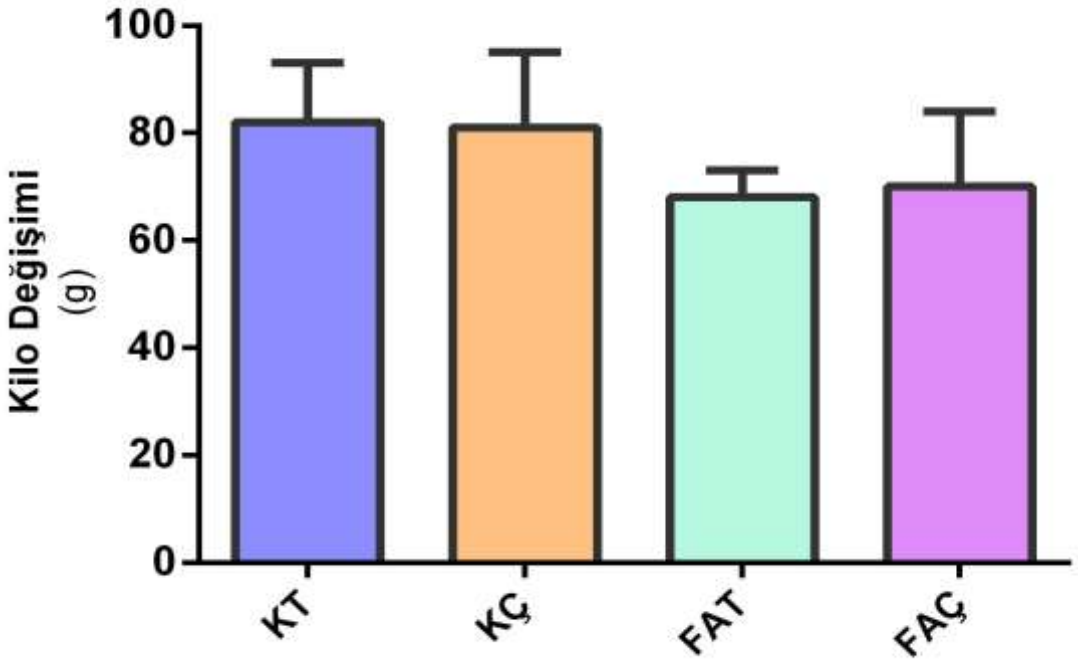
FAT: Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift

VÜCUT AĞIRLIKLARINDAKİ DEĞİŞİM

Çalışmamızda yer alan hayvanların ağırlıkları deneyin başladığı günden başlayarak düzenli olarak ölçülmüştür (Tablo 2). Bu çalışmada yer alan dört grubun iki haftada bir ölçülen kilo değişimlerinde istatistiksel olarak farklılık saptanmadı (p=0,204, Şekil 14).

Tablo 2. Grupların iki hafta aralıklarla kilo değişimi

Gruplar	KT (n=6)	KÇ (n=6)	FAT (n=5)	FAÇ (n=6)
Adaptasyon (gr)	121±5	126±11	128±11	131±12
0.Hafta (gr)	149±7	150±11	147±8	145±11
2.Hafta (gr)	185±10	186±10	147±8	180±10
4.Hafta (gr)	200±10	200±11	191±12	194±11
6.Hafta (gr)	215±13	216±14	203±12	203±12
8.Hafta (gr)	231±13	231±14	216±8	216±14



Şekil 14. 1. Hafta ile 8. Hafta arasındaki kilo değişimi.

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift

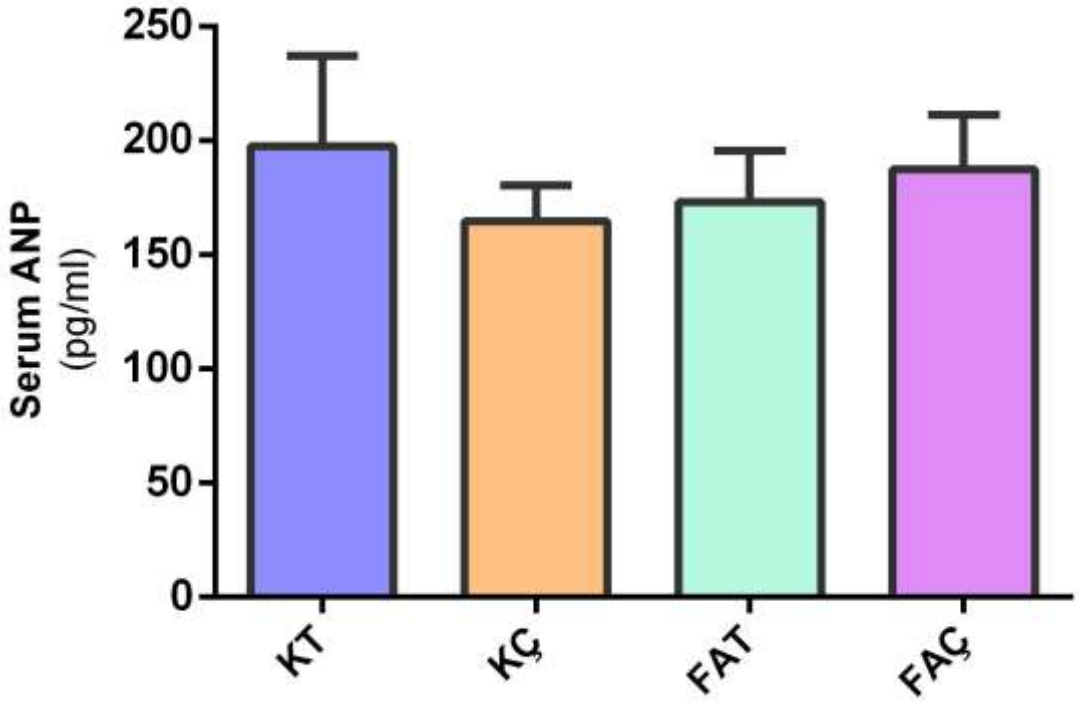
SERUMDA VE SOL VENTRİKÜL DOKULARINDA NATRİÜRETİK PEPTİD DÜZEYLERİ

Sol ventrikül dokuları ve kan örneklerinin istatistiksel incelenmesinde ANP düzeyinde farklılık saptanmamış ancak serum BNP düzeyinde anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (Tablo 3). KÇ grubundaki serum BNP düzeyleri KT grubuna göre daha düşüktür. (p=0,029, Şekil 17). Fakat KÇ grubu ile FAÇ arasında (p=0,39), KT grubu ile FAT arasında (p=0,535) anlamlı bir fark gözlenmedi. BNP açısından sol ventrikül dokularında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Serum ve doku natriüretik peptid düzeyleri

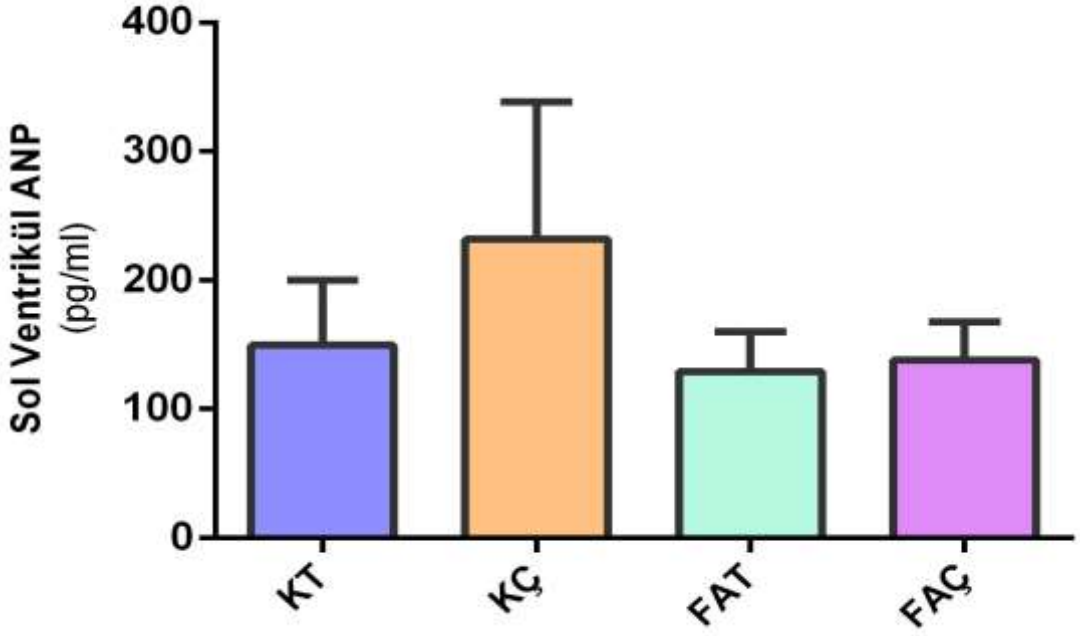
Gruplar	KT Ort±SD	KÇ Ort±SD	FAT Ort±SD	FAÇ Ort±SD	P
ANP serum (pg/ml)	197.68± 39.56	164.66± 15.58	173.02± 22.49	187.33± 24.07	0,193
BNP serum (pg/ml)	67.05± 6.60	57.13± 3.74	62.44± 6.30	62.36± 5.35	**0,048**
ANP sol venrikül (pg/mg)	149.62± 50.26	231.83± 106.65	129.2± 30.94	138.16± 29.29	0,059
BNP sol ventrikül (pg/mg)	52.33± 18.15	51.83± 7.19	50± 8.57	43± 10.46	0,525

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift



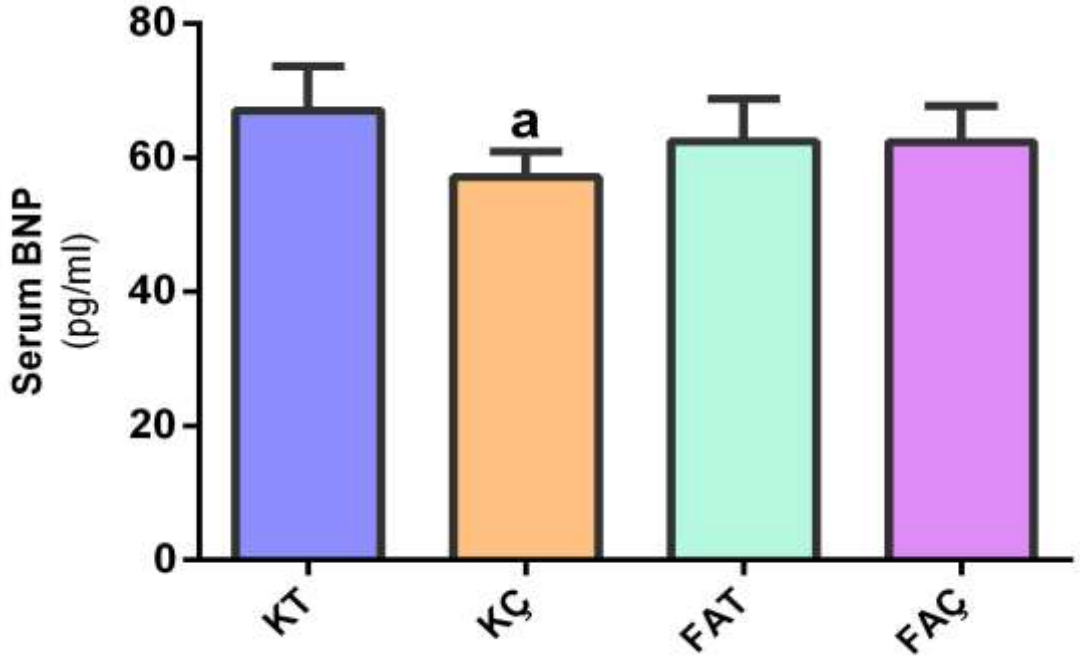
Şekil 15. Serum ANP değerlerinin karşılaştırılması

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift



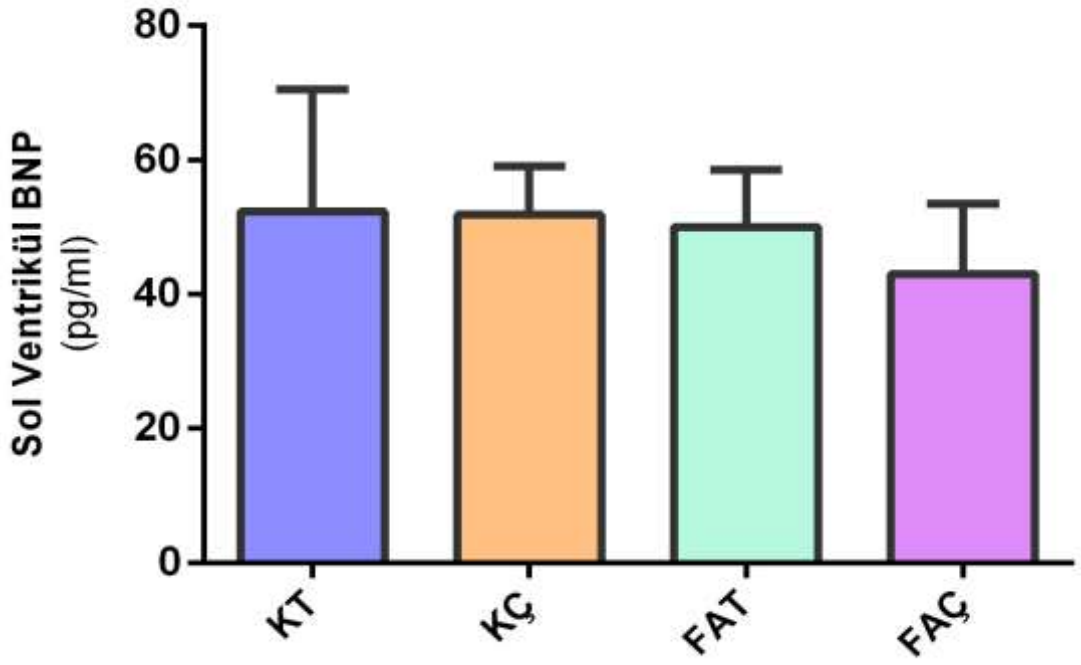
Şekil 16.Sol ventrikül ANP değerlerinin karşılaştırılması

KT: Kontrol Tek KÇ: Kontrol Çift FAT: Fiziksel Aktivite Tek FAÇ: Fiziksel Aktivite Çift



Şekil 17. Serum BNP değerlerinin karşılaştırılması

. KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift **a;**KT grubuna göre anlamlı farklılık



Şekil 18. Sol ventrikül BNP değerlerinin karşılaştırılması

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift

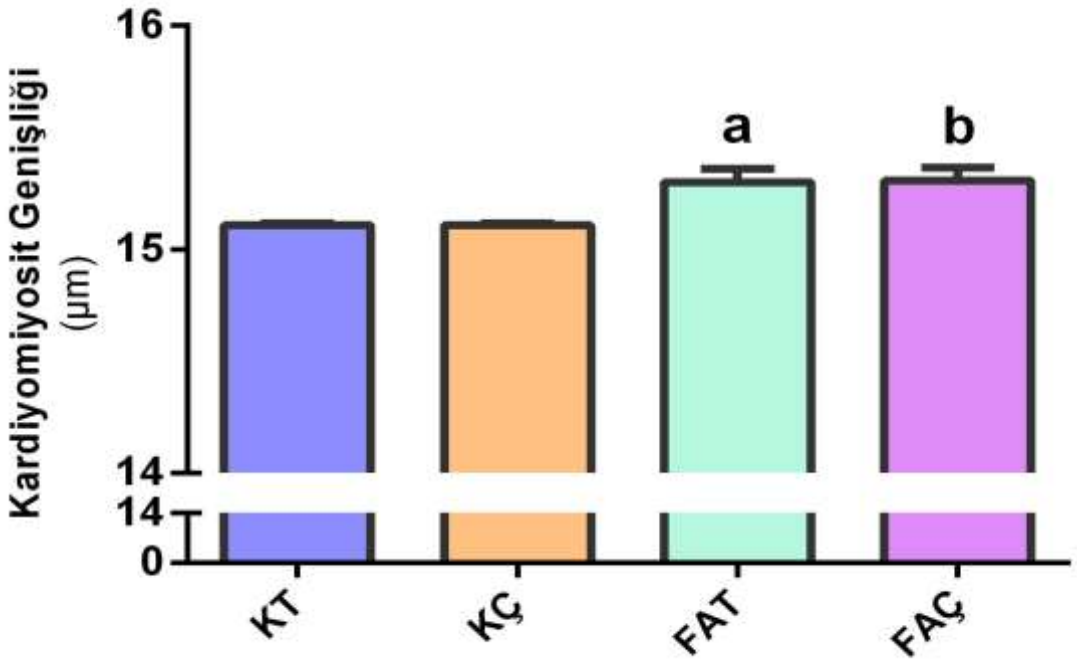
SOL VENTRİKÜL DOKUSUNUN MORFOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda sol ventrikül kardiyomiyosit genişliğinde anlamlı farklılıklar saptanmıştır (Tablo 4). FAT grubunun kardiyomiyosit genişliğinin, KT grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır ($p<0,001$, Şekil 19). FAÇ grubunun kardiyomiyosit genişliği de KÇ grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p<0,001$, Şekil 19). FAT ve FAÇ grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4. Kardiyomiyosit genişliği değişimi

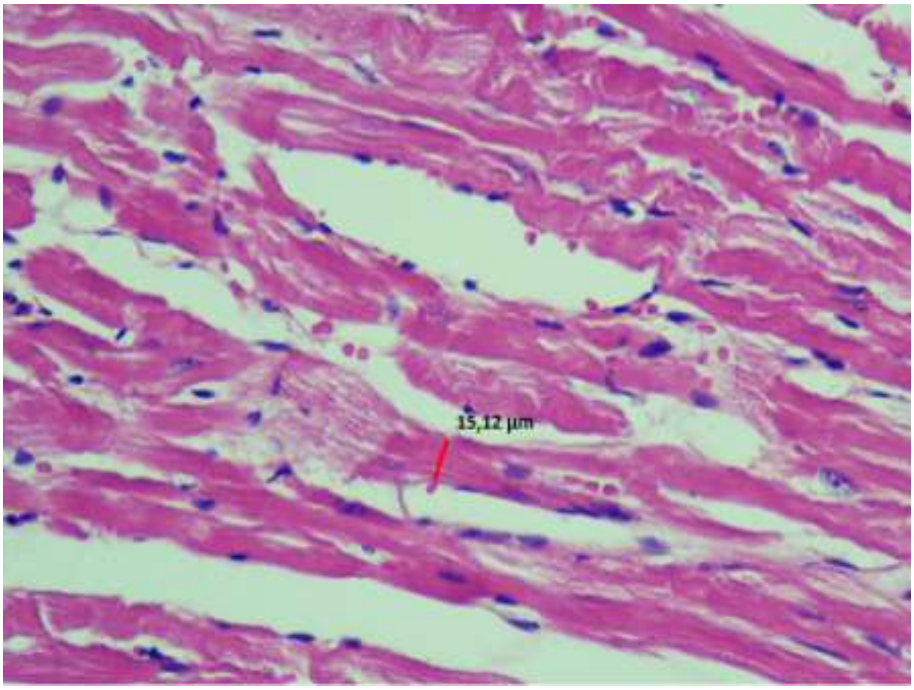
Gruplar	KT Ort+SD	KÇ Ort+SD	FAT Ort+SD	FAÇ Ort+SD	P
Kardiyomiyosit genişliği ((μm)	15.108±0.009	15.108±0.009	15.300±0.061	15.308±0.058	**<0,001**

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift

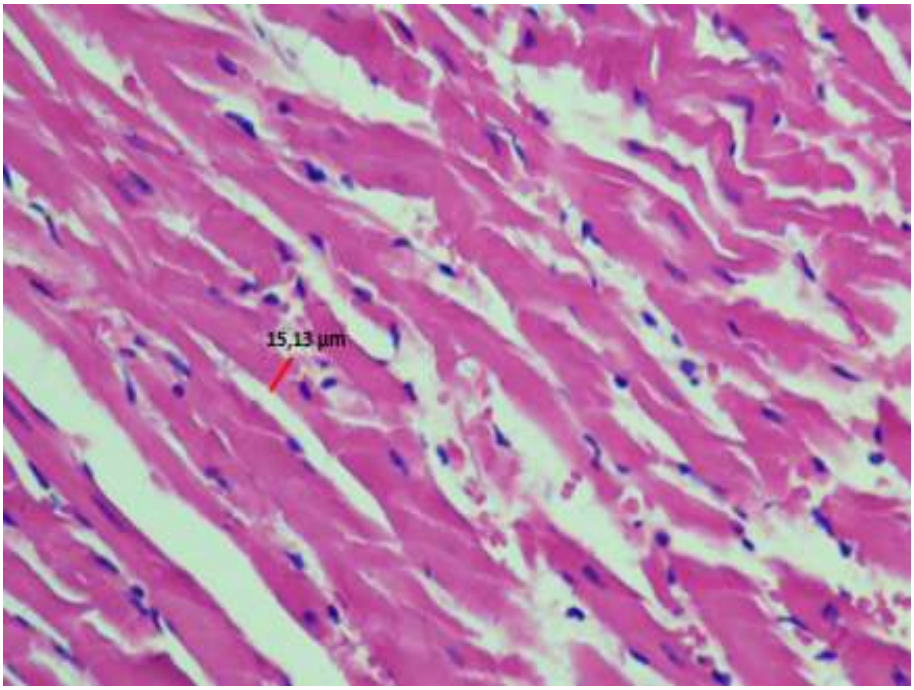


Şekil 19.Kardiyomiyosit genişliğinin gruplar arasında karşılaştırması

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift. **a;**KT grubuna göre anlamlı farklılık **b;**KÇ grubuna göre anlamlı farklılık



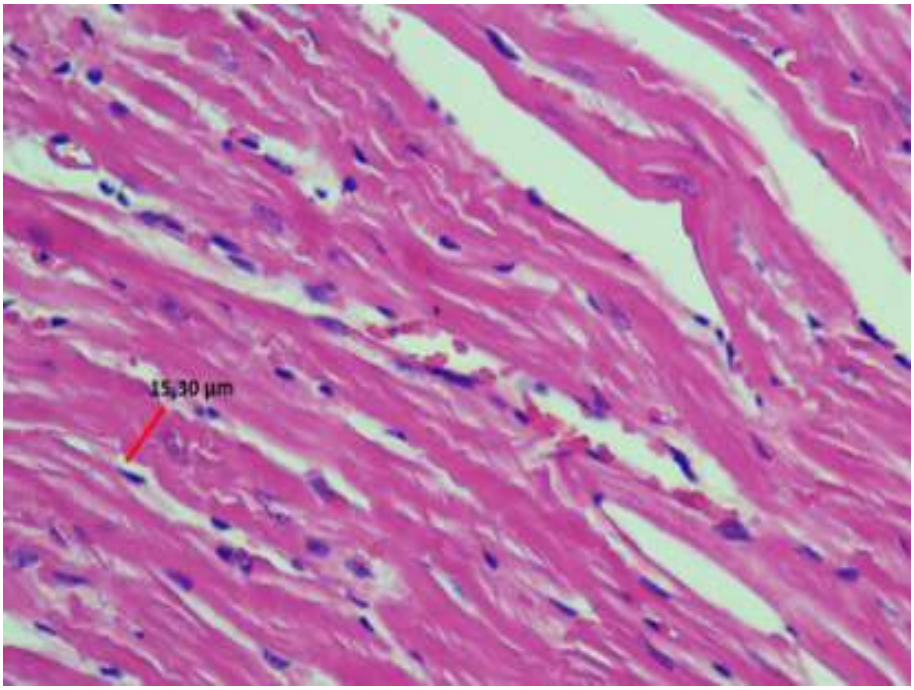
A



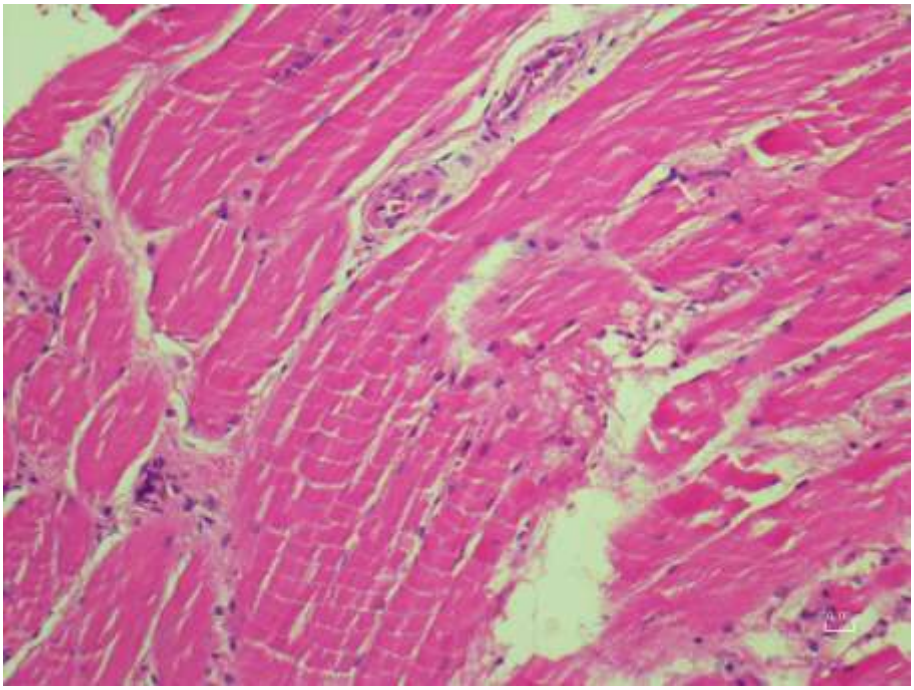
B

Şekil 20. Kontrol gruplarının kardiyomiyosit genişlikleri

A: Kontrol Tek grubu; B: Kontrol Çift grubu,



A



B

Şekil 21. Fiziksel aktivite gruplarının kardiyomiyosit genişlikleri

A: Fiziksel Aktivite Tek grubu B: Fiziksel Aktivite Çift grubu

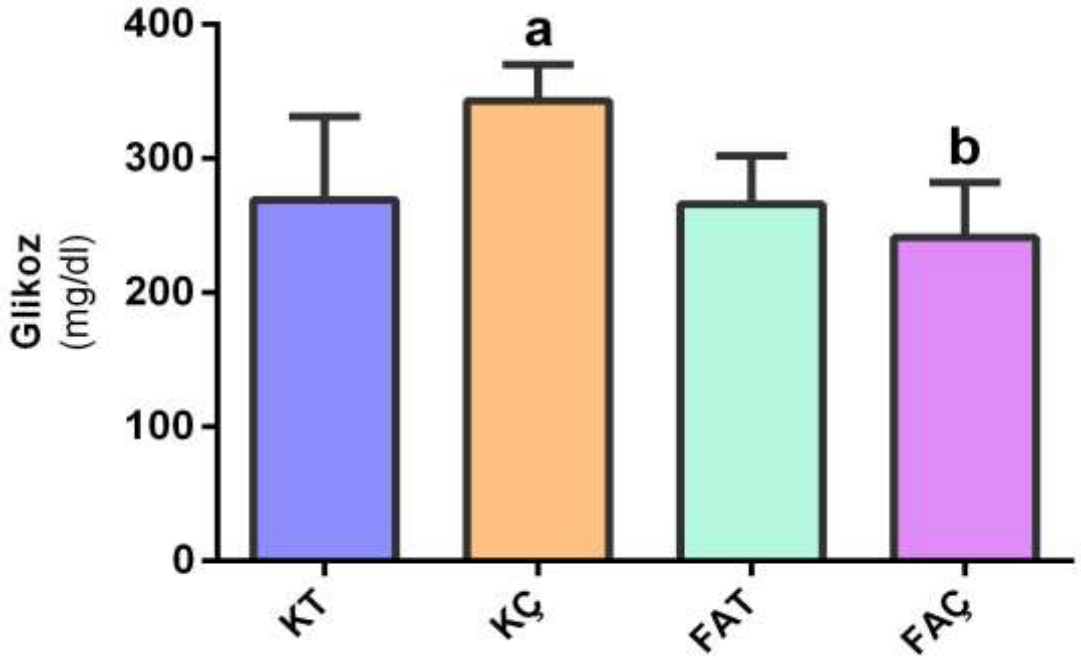
METABOLİK BELİRTEÇLER

Sıçanlardan alınan kan örneklerinde yapılan analizlerde glikoz ve HDL seviyelerinde anlamlı farklılıklar saptanmıştır (Tablo 5). FAÇ grubundaki glikoz seviyeleri, KÇ grubuna göre anlamlı bir şekilde düşüktür (p=0,004, Şekil 22). KÇ grubu glikoz seviyelerinin, KT grubu glikoz seviyelerine göre yüksek olduğu saptanmıştır (p=0,042, Şekil 22). FAÇ grubundaki HDL seviyelerinin, KÇ grubuna göre daha düşük olduğu görüldü (p=0,002). FAT grubu HDL seviyeleri, KT grubu HDL seviyelerine göre düşük olduğu görüldü (p<0,001). Diğer grupların LDL seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 5).

Tablo 5. Metabolik belirteçlerin değişimi

Gruplar	KT ORT±SD	KÇ ORT±SD	FAT ORT±SD	FAÇ ORT±SD	P
Glikoz (mg/dl)	269± 62	343± 27	266± 36	241± 41	**0,005**
HDL (mg/dl)	59± 7	60± 6	38± 4	44± 6	**<0,001**
LDL (mg/dl)	7±1	6± 0.8	4±1	6±1	0,056

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift



Şekil 22. Glikoz değerlerinin karşılaştırılması

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift
b; KÇ grubuna göre anlamlı farklılık **a;** KT grubuna göre anlamlı farklılık

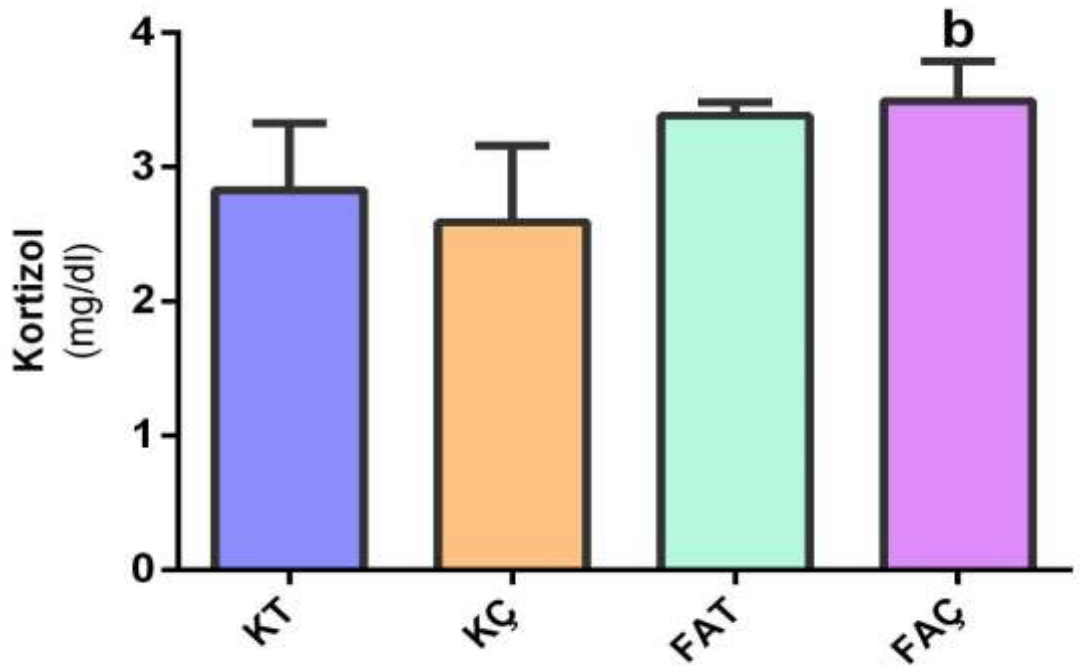
STRES BELİRTEÇLERİ

Sıçanlardan alınan kan ve sol ventrikül doku örnekleri ile yapılan istatistiksel analizde serum kortizol seviyelerinde farklılık saptanmıştır (Tablo 6). İkili karşılaştırmalarda ise FAÇ grubunun serum kortizol seviyelerinin, KÇ grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlendi (p=0,008, Şekil 23). Grupların IL-1β serum ve sol ventrikül düzeylerinde; TNFα serum düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır. TNFα sol ventrikül düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmıştır. KT grubu FAÇ grubuna göre anlamlı azalma göstermiştir (p<0,016).

Tablo 6. Stres belirteçlerinin serum ve doku düzeylerinin incelenmesi

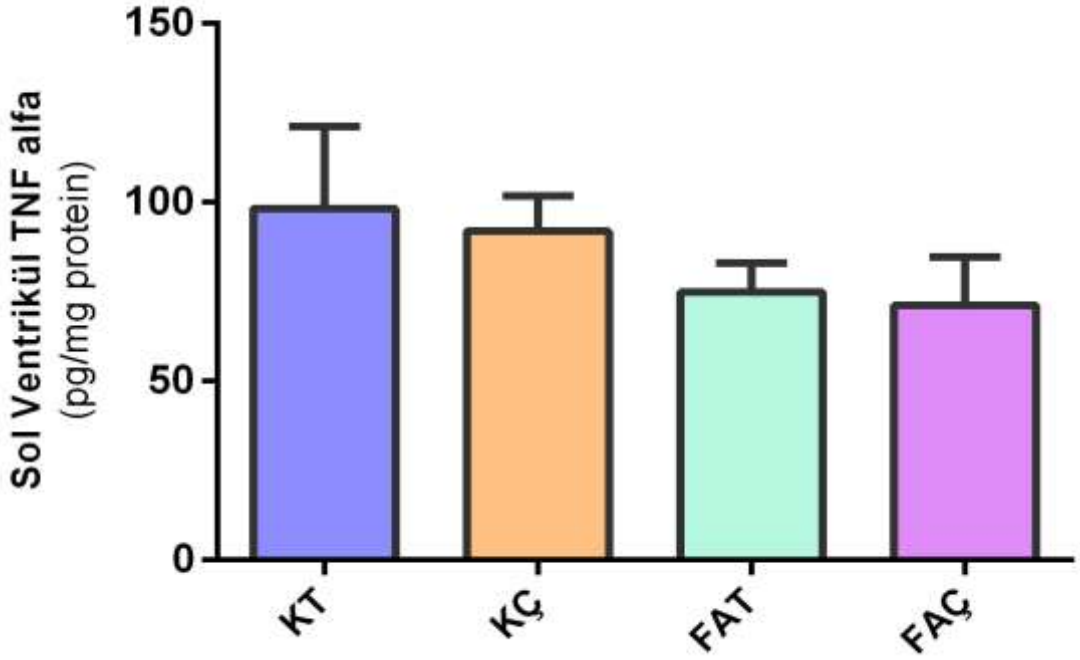
Gruplar	KT Ort±SD	KÇ Ort±SD	FAT Ort±SD	FAÇ Ort±SD	p
Kortizol (mg/dl)	2.83± 0.50	2.59± 0.57	3.38± 0.10	3.49± 0.30	**0,005**
IL-1β serum (pg/ml)	6.05± 1.26	5.98± 1.04	5.05± 1.01	5.94± 0.49	0,345
IL-1β sol ventrikül (pg/mg)	8.8± 4.8	7.25± 0.75	5.70± 1.40	4.91± 1.63	0,098
TNFα serum (pg/ml)	178.59± 16.57	176.39± 8.59	165.12± 17.34	159.63± 9.20	0,073
TNFα sol ventrikül (pg/mg)	98.33± 22.87	91.89± 9.98	74.88± 8.12	71.13± 13.67	**0,016**

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift



Şekil 23. Kortizol değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

KT: Kontrol Tek **KÇ:**Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift **b;** KÇ grubuna göre anlamlı farklılık



Şekil 24. TNFα doku düzeylerinin karşılaştırılması

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift

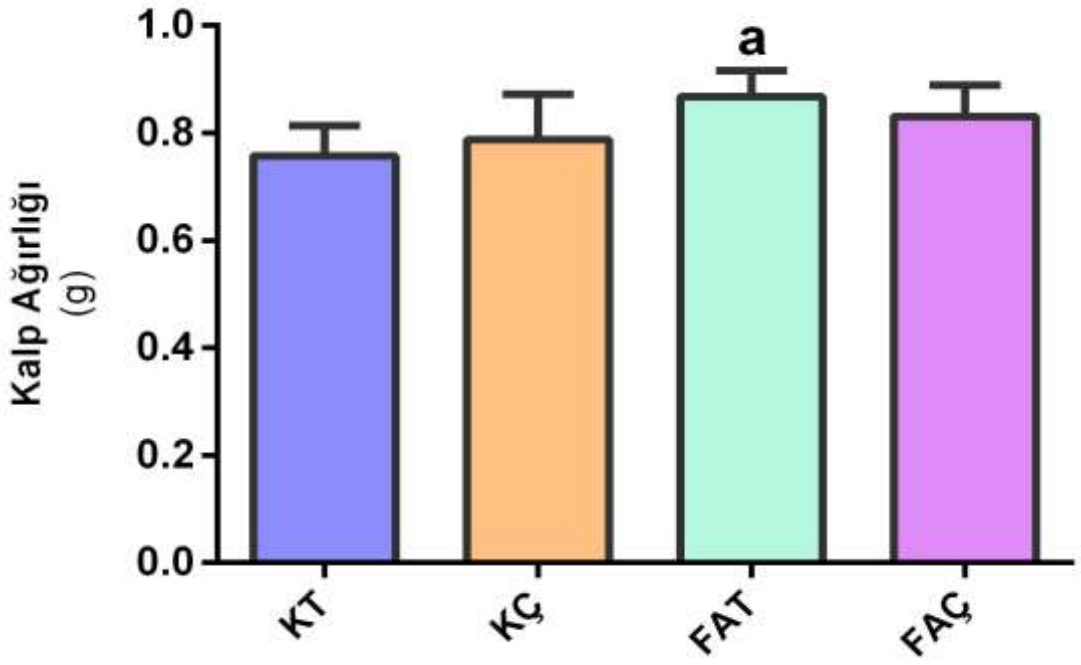
KARDİYAK HİPERTROFİ BELİRTEÇLERİ, AKCİĞER VE KARACİĞER AĞIRLIKLARININ İNCELEMESİ

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda gruplardaki kalp ağırlıkları karşılaştırıldığında FAT grubunun kalp ağırlığı, KT grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır ($p=0,010$, Şekil 26). Kardiyak hipertrofi belirteci olarak kabul edilen; Kalp Ağırlığı/Vücut Ağırlığı (KA/VA) ($p<0,001$) ve Sol Ventrikül Ağırlığı/Vücut Ağırlığı (SV/VA) oranlarında anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ($p=0,001$, Şekil 27,28). Sol ventrikül ağırlıklarının FAT grubunda, KT grubuna göre yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0,026$, Şekil 29). Akciğer ağırlığı ve karaciğer ağırlıklarında yapılan istatistiksel analizlerde gruplarda anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 7).

Tablo 7. Kalp,Akciğer, Karaciğer ağırlıkları ile ilgili parametrelerin incelenmesi

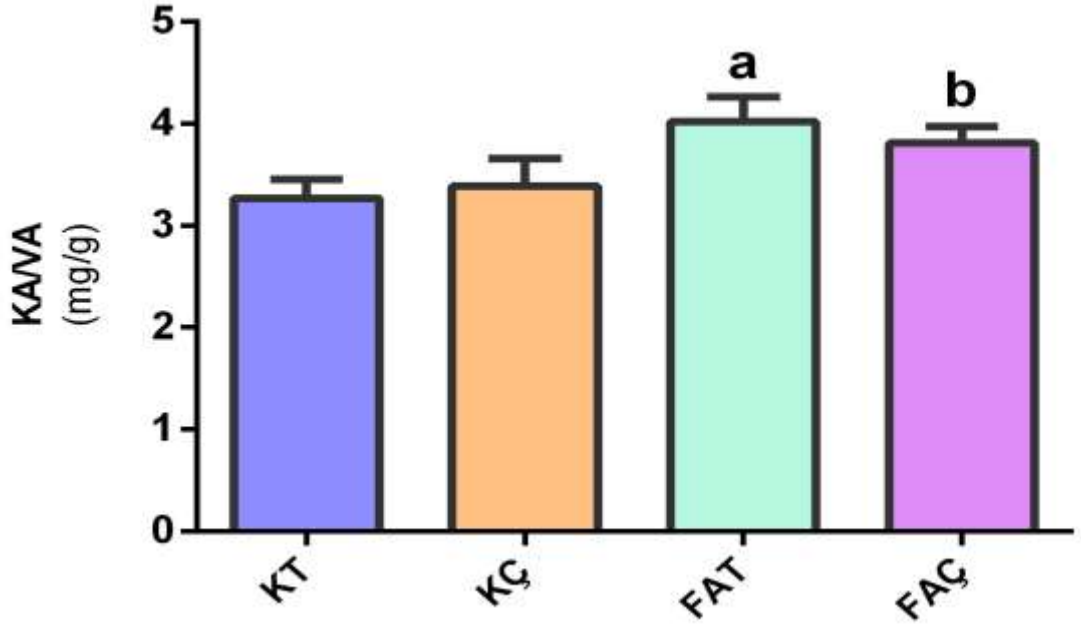
Gruplar	KT Ort+SD	KÇ Ort+SD	FAT Ort+SD	FAÇ Ort+SD	p
Kalp Ağırlığı	0.75±0.05	0.78±0.08	0.86±0.04	0.83±0.05	**0,047**
KA/VA (mg/g)	3,27±0,18	3,39±0,27	4,02±0,24	3,81±0,16	**<0,001**
SV/VA (mg/g)	1,81±0,11	1,80±0,15	2,24±0,28	2,16±0,17	**<0,001**
Sol Ventrikül Ağırlığı (g)	0.41±0.02	0.41±0.03	0.48±0.06	0.47±0.04	**0,041**
Akciğer Ağırlığı (g)	1.10±0.10	1.16±0.04	1.18±0.07	1.24±0.06	0,050
Karaciğer Ağırlığı (g)	9.90±1.04	10.45±1.03	10.33±0.33	10.05±0.69	0,676

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift



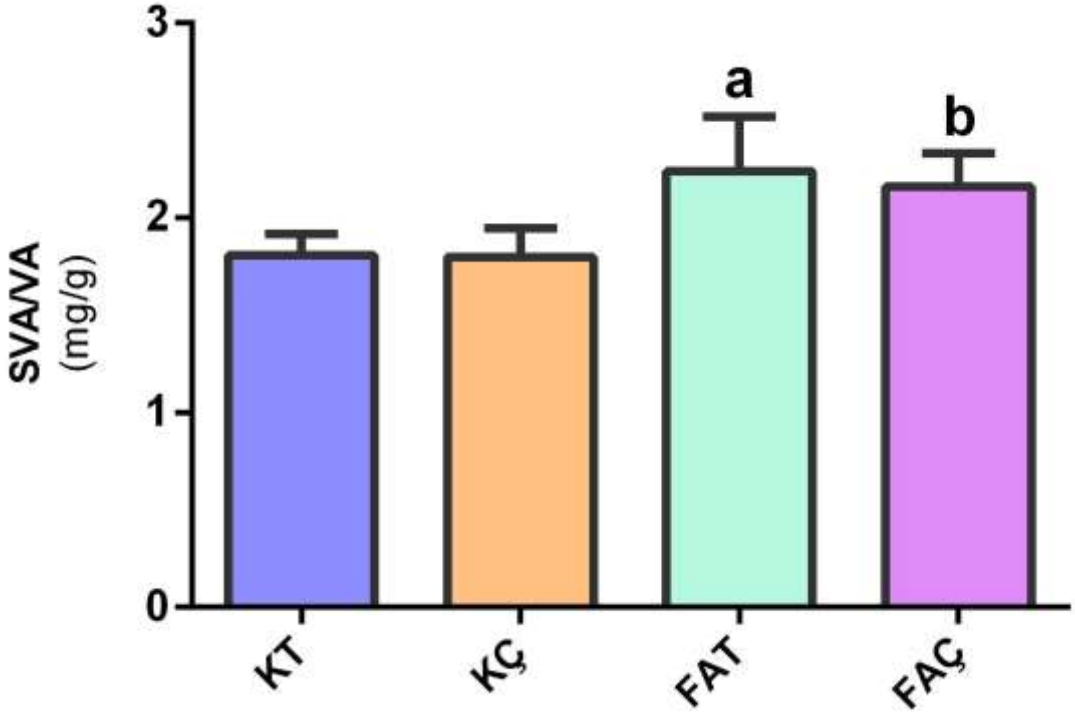
Şekil 25.Kalp ağırlıkları karşılaştırması.

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift
a; KT grubuna göre anlamlı farklılık



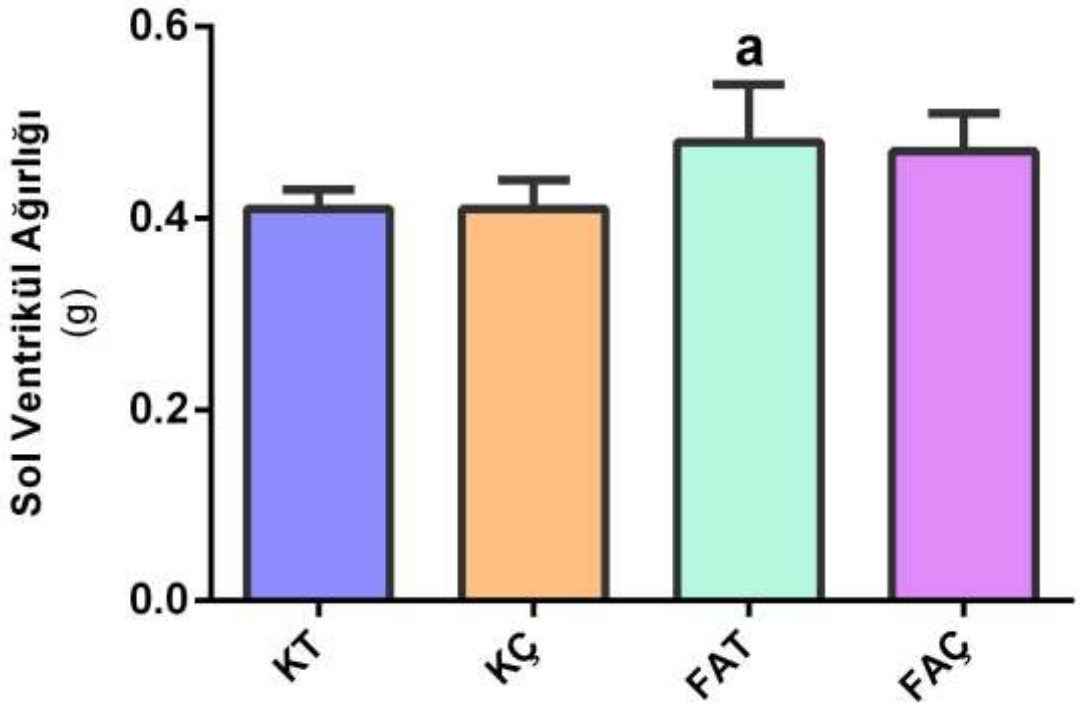
Şekil 26.Kalp ağırlığı/Vücut Ağırlığı oranının karşılaştırması.

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift
a; KT grubuna göre anlamlı farklılık **b;** KÇ grubuna göre anlamlı farklılık



Şekil 27.Sol Ventrikül/Vücut Ağırlığı oranının karşılaştırması

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift
a; KT grubuna göre anlamlı farklılık **b;** KÇ grubuna göre anlamlı farklılık



Şekil 28. Sol Ventrikül Ağırlığı karşılaştırması

KT: Kontrol Tek **KÇ:** Kontrol Çift **FAT:** Fiziksel Aktivite Tek **FAÇ:** Fiziksel Aktivite Çift **a;** KT grubuna göre anlamlı farklılık

TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında elde edilen bulgulara göre, sıçanların çift olarak barındırıldığı ve istemli dönen tekerlek aktivitesi yaptırıldığı deneysel modelde, tek olarak barındırılmalarına benzer şekilde kardiyak hipertrofi oluştuğu saptanmıştır. Bu durum sıçanların kardiyak açıdan istemli fiziksel aktivite uygulamasından benzer şekilde etkilendiğini düşündürmektedir. Ancak çalışmamız aktivite amacıyla sıçanların kafeslerde çift olarak barındırılmasının stresi artırıcı yönde belirtilere yol açabileceğini de göstermektedir.

Kalp, egzersize bağlı artan ön yük karşısında kas kütlesini ve hacmini büyüterek hipertrofik bir adaptasyon gerçekleştirmektedir (65). Bu çalışmada, kardiyak hipertrofi açısından kardiyomiyosit genişlikleri incelenmiştir. Sıçanların kardiyomiyosit genişliklerini karşılaştırdığımızda fiziksel aktivite yapan her iki grupta da kardiyomiyosit genişliklerinin artmış olması hipertrofiyi gösteren dikkate değer bir belirteç olarak düşünülebilir. Fiziksel aktiviteyi tek ya da çift olarak gerçekleştiren gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmaması, fiziksel aktivitenin hipertrofiye neden olduğunu desteklerken, sosyallik faktörünün kardiyomiyosit genişlikleri üzerinde fark yaratmadığını düşündürmektedir.

Bu çalışmada ayrıca grupların kalp ağırlıkları, sol ventrikül ağırlıkları saptanmış, vücut ağırlığı ile standardize edilmiş kalp ağırlığı/ vücut ağırlığı ve sol ventrikül/vücut ağırlığı oranları hesaplanmıştır Kardiyak hipertrofi belirteci olan kalp ağırlığı/ vücut ağırlığı oranı ile sol ventrikül ağırlığı/vücut ağırlığı oranları incelendiğinde, kardiyomiyosit genişliklerinde saptanan bulgulara benzer şekilde kontrol gruplarına kıyasla fiziksel aktivite yapan gruplarda bu değer artmıştır. Aynı zamanda fiziksel aktivite grupları arasında bir anlamlılık meydana

gelmemiştir. Bu durum, fiziksel aktivitenin tek veya çift yapılıyor olmasının, fiziksel aktiviteye adaptif yanıt olarak kardiyak hipertrofi oluşumunu etkilemediğini ve her iki koşulda da hipertrofi geliştiğini göstermektedir.

Çalışmamızda diğer kardiyak hipertrofi belirteçleri olan, natriüretik peptidler incelediğinde BNP sol ventrikül düzeylerinde çift kontrol gruplarında tek kontrol gruplarına kıyasla artış saptandı. Ancak bu sonuçlar fiziksel aktif olmayan gruplarda elde edildiği için hipertrofi açısından anlam ifade etmemekte, kontrol grupları arasındaki anlamlı farkın neden kaynaklandığı bilinmemektedir. Bu zamana kadar sosyallik açısından yapılan deneysel çalışmalarda oksidatif stres gibi parametrelere bakıldığı görülmüştür (3, 4) ancak BNP düzeyinin incelendiği çalışmaya rastlamadık. Serum BNP, serum ANP ve ANP sol ventrikül dokularındaki ANP düzeylerinde ise gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Egzersize adaptasyon sağlamaya yardımcı olarak bilinen ve egzersiz ile salınımının artması beklenen ANP (77), yarılanma ömrü açısından değerlendirildiğinde, 17 saniye ile 2.5 dakika arasında değişen sürelerde dolaşımdan temizlenmekte olduğu bilinmektedir (8). Serum ANP düzeyinde anlamlı bir fark görülmemesinin sebebi yarılanma ömrünün kısa olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca literatürde yapılan bazı çalışmalarda da kardiyak hipertrofi gelişimine rağmen natriüretik peptid parametrelerinde değişiklik olmadığı belirtilmiştir (89).

Sosyal izolasyon stresinin insanlarda günlük aktiviteyi büyük oranda etkilediği morbidite ve mortaliteye varan sonuçlara sebebiyet verdiği bilinmektedir (87). Literatürde de sosyal izolasyon stresinin anksiyete ve depresyon gibi davranışsal anormalliklere sebep olan klinik çalışmalar mevcuttur (88,89). Deney hayvanlarının kullanıldığı istemli dönen tekerlek aktivitelerinde de genel olarak hayvanlar sosyal izolasyona maruz kalırlar ve sosyal izolasyon stresi açısından nasıl etkilendikleri tam olarak bilinmemektedir. Cunha M. P. ve ark. (3) bu bilgiler ışığında, sosyal olarak izole edilen fareler ile üçlü gruplar şeklinde barındırılan fareler kullanarak yaptıkları çalışmada, oksidatif stres parametrelerini incelemişler, sosyal izolasyon stresinin oksitadif strese neden olduğunu ve bu durumun barınma koşullarına bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda, gruplar stres açısından değerlendirildiğinde, IL-1β serum ve IL-1β sol ventrikül seviyelerinde anlamlı bir fark gözlenmediği için sosyal izolasyon, stres oluşturucu bir durum gibi gözükmemektedir. Ayrıca, TNFα serum ve TNFα sol ventrikül düzeylerinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır.

Bir diğer parametre olan ve iskelet kaslarınnın enerji homeostazını düzenlemede kilit rol oynayan kortizol, egzersiz yoğunluğunun dozuna göre yükselme eğilimindedir (51). Bunun yanı sıra kortizolün metabolizmayı bir sonraki fiziksel aktiviteye hazırlamaya eğilimi, fiziksel

aktiviteye adaptasyonu geliştirmeye yardımcı olur ve bu yüzden egzersizin kortizol artışına yol açtığı bilinmektedir (90, 91). Çalışmamızda, egzersiz yapan ve sosyal olarak barındırılan hayvanların (FAÇ grubu), sosyal olan ve egzersiz yapmayan kontrol (KÇ grubu) grubuna göre kortizol seviyeleri artış göstermiş ($p=0,008$) bunun yanında, fiziksel aktivitenin tek veya çift yapılıyor olması kortizol düzeylerini etkilememiştir. Bu durum sıçanların kullanıldığı deneysel koşullarda egzersizi sosyal olarak yapmalarının strese neden olabileceğini düşündürebilir. Kortizol düzeylerindeki bu yükselme dikkate alındığında, kafeslerde çift olarak barındırılmak strese yol açan bir faktör olabilir. Fakat diğer stres parametreleri olan TNF α ve IL-1β düzeylerinde gruplar arasında herhangi bir değişim saptanmamıştır. Ayrıca FAT ve KT grupları arasında kortizol düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık mevcut değildir. Bulgularımız, kortizol düzeylerinde fiziksel aktiviteden kaynaklanabilecek olası değişimi desteklememektedir.

Deney hayvanlarında dönen tekerlek kullanımıyla gerçekleşen istemli fiziksel aktivite haftalar boyunca gerçekleştirilebilen bir egzersiz uygulama metodudur. Deneye başlanılan ilk üç hafta boyunca artarak devam eden fiziksel aktivite performansı sergileyen deney hayvanları, zaman geçtikçe nispeten sabit bir performansla devam etmiş, yedinci haftadan sonra performanslarında düşüş meydana gelmiştir. Performanstaki düşüşün sebebinin yaşlanmanın etkisi olabileceği bildirilmektedir. Deney hayvanları yaşlandıkça performanslarının bu durumdan etkilendiği ve günlük koşu düzeylerinin azaldığı belirtilmektedir (92).

Cunha M. P. ve ark.nın (3) sosyal olarak izole edilen fareler ile üçlü gruplar şeklinde barındırılan fareler kullanarak yaptıkları çalışmada farelerin kat ettikleri toplam mesafeyi üçe bölerek fare başına düşen bir kat edilen mesafe ortalaması hesaplanmış ve bu ortalamaya göre grup halinde barınan hayvanların izole olanlara kıyasla daha az mesafe kat ettiklerini belirtilmiştir. Bu durumun, kullandıkları C57BL6 farelerinin türünden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Bizim çalışmamızda Spraque-Dawley türü sıçanlar kullanılmış ve aynı yöntemle grup halinde barınan sıçanların toplam kat ettikleri mesafe ikiye bölünerek hayvan başına günlük bir mesafe ortalaması hesaplanmıştır. Cunda M. P. Ve ark.nın (3) belirttiği gibi, bizim çalışmamızda da tek olarak barınan sıçanlar sosyal olarak barınanlara göre daha fazla mesafe kat etmektedir. Fakat çalışmamızda, Cunha ve ark.'na benzer şekilde grup halinde yapılan fiziksel aktivitenin ortalaması, her hayvanın eşit fiziksel aktivite yaptığı varsayılarak oluşturulan bir hesaplamadır. Bu nedenle bu değer, her hayvanın eşit fiziksel aktivite yapıp yapmadığını tam olarak göstermeyebilir. Bu durum dikkate alınarak çalışmamızda sosyal koşul farklılığının fiziksel aktivite üzerine etkisinde kardiyak hipertrofi ve stres parametrelerini ön planda tutulmuştur.

Çalışmamızda dönen tekerlekli kafeslerde bulunan sıçanların fiziksel aktivite kayıtları incelendiğinde, tek başına fiziksel aktivite yapan FAT grubunda günlük fiziksel aktivite düzeyi 1960 metre/gün ile 17119 metre/gün arasında değişmekte olup ortalama 10711±658 metre/gün olarak saptandı. Sosyal olarak fiziksel aktivite yapan FAÇ grubunda günlük olarak toplam değer 3234 metre/gün ile 10836 metre/gün olarak değişmekte ve ortalama 6935±619 metre/gün mesafe koşulmuş bulunmaktadır. Literatüre göre fiziksel aktivite düzeyleri değerlendirildiğinde 2-5 km/gün düşük, 6-9 km/gün orta, >11 km/gün ise yüksek aktivite olarak sınıflandırılmaktadır (93). Buna göre tek başına fiziksel aktivite gerçekleştiren sıçanların orta düzey ile yüksek düzey arasında fiziksel aktivite yaptığı gözlenirken, sosyal olarak aktivite yapan sıçanlarda kişi başına ortalama değere baktığımızda orta değer aralığında fiziksel aktivite yaptığı belirlenmiştir. Fakat çift fiziksel aktivite grubunda hangi hayvanın ne kadar koştuğu tam olarak bilinmediği için, bu çalışmada fiziksel aktivite belirteci olarak, kardiyak hipertrofiyi gösteren belirteçler ön planda tutulmuştur.

Fiziksel aktivitenin düzenli şekilde gerçekleşmesi yağ dokuda azalmayla birlikte kilo kaybına neden olur. Yapılan çalışmalarda yağ dokusunun azalmayla birlikte kilo kaybının yaşanması fiziksel aktivitenin türüne, yoğunluğuna ve süresine göre değişim göstermektedir. Yaptığımız çalışmada da fiziksel aktivite yapan tek (FAT grubu) ve çift (FAÇ) grubunda da kontrol gruplarına (KT, KÇ) kıyasla kilo alımları farklı şekilde gerçekleşmiş olsa da ilk hafta ve son hafta arasındaki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bunun deneyde yer alan sıçanların sağlıklı, genç yaş grubunda olması ve fiziksel aktivite düzeyinin orta düzeylerde kalmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

Bu tez çalışmasında, hayvanların metabolik belirteçler açısından değerleri incelendiğinde, çift olarak fiziksel aktivite yapan grupta çift kontrol grubuna göre glikoz değerlerinin daha düşük olduğu görüldü. Ayrıca iki fiziksel aktivite grubu arasında belirgin bir farklılık tespit edilmedi. Bu nedenle bu çalışmada, fiziksel aktivite uygulamanın sosyal koşullarda glikoz seviyeleri üzerinde dikkate değer bir farklılığa yol açtığı düşünülmektedir. Metabolik belirteçlerden olan lipidler açısından HDL düzeyleri incelendiğinde, aerobik egzersiz sırasında plazmada konsantrasyonunun arttığı (94) bilinmesine karşın ilginç olarak bu çalışmada fiziksel aktivite yapanlarda HDL seviyeleri daha düşüktü. Bu çalışmada serum LDL düzeyleri de incelenmiştir. Hücrelere kolesterol taşımakla görevli olan LDL'nin yüksek seviyeleri, kardiyovasküler hastalıklar ve ölümle ilişkilendirilmektedir. Bunun yanı sıra egzersizin, hepatik trigliserid lipaz aktivasyonunun azalmasına yol açarak yoğun ve küçük olan LDL partiküllerinin azalmasına sebep olduğu belirtilmektedir (51). Bu çalışmada, LDL

düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Ancak elde edilen bulgular, özellikle FAT grubu açısından istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmamış (p=0,056) bir azalmayı işaret ediyor olabilir.

Sonuç olarak, çalışmamızda sosyal olarak izole edilen ve sosyal olarak izole edilmeden fiziksel aktivite yapan her iki grupta kardiyak hipertrofi oluşumu gösteren bulguları saptanmıştır. Fiziksel aktivite ile uyarılan kardiyak hipertofi modelleri açısından hayvanların sosyal olacak şekilde bulundurulması uygun olabilir. Fakat stres parametreleri yönünden sosyal olarak bulunan kortizol düzeyinde IL-1β ve TNFα düzeylerinde anlamlı farklılık saptanmaması bu konunun ileri çalışmalarla desteklenmeye ihtiyacı olduğunu düşündürmektedir.

SONUÇLAR

Sekiz hafta süren bu çalışmada standart yem ve su erişimi olan Spraque-Dawley türü dişi sıçanlarda istemli fiziksel aktivitenin sosyal koşul farklılığında, kardiyak hipertrofi belirteçlerine ve stres parametrelerine etkisi araştırıldı. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar şu şekildedir:

1. Asosyal veya sosyal koşullar altında barındırılan ve aynı zamanda fiziksel aktivite yapmalarına izin verilen her iki grup sıçanda da kardiyak hipertrofi belirteci olan sol ventrikül ağırlığı/ vücut ağırlığı ve kalp ağırlığı/ vücut ağırlığı oranı anlamlı şekilde artmıştır. Bu durum da sosyal koşul farklılığının, fiziksel aktiviteye bağlı oluşan kardiyak hipertrofi modelini etkilemediğini göstermektedir.
2. Bir diğer kardiyak hipertrofi belirteci olan kardiyomyosit genişliğini değerlendirildiğinde de yukarıdakine benzer şekilde asosyal ve sosyal koşulların kardiyak hipertrofi oluşumunda belirgin bir fark yaratmadığı görülmüştür.
3. Bunun yanı sıra, fiziksel aktiviteyi sosyal olarak gerçekleştiren grupta kontrol grubuna kıyasla bir stres parametresi olan kortizol seviyeleri artmıştır. Diğer stres parametreleri olan serum IL-1β, sol ventrikül IL-1β, Serum TNFα ve sol ventrikül TNFα belirteçlerinde kontrol grupları ve aktivite grupları arasında anlamlı bir fark meydana gelmemiştir. Bu nedenle bu konu ileri çalışmalarla desteklenebilir.

ÖZET

Sıçanlarda istemli tekerlek koşusu yaygın olarak bir fiziksel aktivite modeli olarak kullanılır ancak istemli tekerlek koşusuna maruz kalan sıçanlarda sosyal izolasyonun fizyolojik kardiyak adaptasyon ve stres belirteçleri üzerine etkileri tam olarak açıklanamamıştır. Bu çalışmada, sosyal olarak izole edilen sıçanlarda istemli fiziksel aktivitenin kardiyak hipertrofi ve stres belirteçlerine etkisi araştırıldı.

Spraque-Dawley türü dişi sıçanlar sekiz hafta boyunca standart yem ve su ile beslendi ve iki haftalık aralıklarla tüm sıçanların vücut ağırlıkları ölçüldü. Fiziksel aktivite tek ve fiziksel aktivite çift grubundaki sıçanlar dönen tekerlek bulunan kafeslerde istemli fiziksel aktivite yaptı. Kontrol tek, kontrol çift grubu ise standart kafeslerde tutuldu. Sekiz haftanın sonunda alınan kan örneklerinde ve ventrikül kasında atrial natriüretik peptid, B tipi natriüretik peptid, tümör nekroz faktör α ve interlökin 1 β düzeyleri incelendi. Kardiyomiyosit boyutları histolojik olarak belirlendi.

Fiziksel aktivite tek ve fiziksel aktivite çift gruplarında kardiyomiyosit genişliklerinin, sol ventrikül ağırlığı/vücut ağırlığı oranının kontrol gruplarına göre yüksek olduğu belirlendi (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$). Kontrol çift grubunda serum B tipi natriüretik peptid düzeylerinin kontrol tek grubuna göre daha düşük olduğu belirlendi ($p=0,029$). Fiziksel aktivite çift grubunun serum kortizol seviyelerinin, kontrol çift grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlendi ($p=0,008$). Serum interlökin 1β, sol ventrikül interlökin 1β, Serum tümör nekroz faktör α ve sol ventrikül tümör nekroz faktör α düzeylerinde kontrol grupları ve aktivite grupları arasında anlamlı bir fark meydana gelmemiştir.

Bu çalışmada fiziksel aktivitenin kardiyak hipertrofi oluşturucu etkilerinin sosyal olan ya da olmayan her iki grupta da benzer olduğu saptanmıştır. Ancak, fiziksel aktiviteyi sosyal olarak gerçekleştirmenin stres oluşturucu bir etkisi olup olmadığının ileri çalışmalarla desteklenmesi gerekebilir.

Anahtar Kelimeler: İstemli fiziksel aktivite, kardiyak hipertrofi, natriüretik peptid, stres,egzersiz

THE EFFECT OF SOCIAL CONDITION DIFFERENCE OF VOLUNTARY PHYSICAL ACTIVITY LEVEL IN RATS

SUMMARY

Voluntary wheel running is extensively used as a physical activity model, but the effects of socially isolation on physiological cardiac adaptation and stress markers in rats subjected to voluntary wheel running have not been fully elucidated. In this study, the effects of voluntary physical activity on cardiac hypertrophy and stress markers were investigated in social isolation.

Spraque-Dawley female rats were fed with standard diet and water for eight weeks, and body weights were measured at two-week intervals of all rats. The rats housed in the single or double cages for performing voluntary physical activity. Control groups were kept in standard cages as single and double groups. Atrial natriuretic peptide, B-type natriuretic peptide, tumor necrosis factor-α and interleukin 1 β levels were examined in blood samples and in ventricle muscles at the end of eight weeks. Cardiomyocyte dimensions were determined by histologically.

Cardiomyocyte width and left ventricular weight/body weight ratio, which are hypertrophy indicators, were higher in the physical activity single and physical activity double groups compared to the control groups ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, respectively). Serum B-type natriuretic peptide levels were lower in the control double group compared to the control single group ($p=0.029$).

It was observed that serum cortisol levels in the physical activity double group were significantly higher than in the control double group (p=0.008). No significant difference was shown in serum interleukin 1 β, left ventricular interleukin 1 β, serum tumor necrosis factor α and left ventricul tumor necrosis factor α levels between the control and physical activity groups.

In this study, it was found that the effects of physical activity on cardiac hypertrophy were similar in both social and non-social groups. However, it may need to be supported by further studies on whether performing physical activity socially has a stress-inducing effect.

Key Words: Voluntary physical activity, cardiac hypertrophy, natriuretic peptide, stress, exercise

KAYNAKÇA

1. Novak CM, Burghardt PR, Levine JA. The use of a running wheel to measure activity in rodents: relationship to energy balance, general activity, and reward. Neuroscie Biobehav Rev 2012;36(3):1001-14.

2. Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. Am J Surg 1998;176(2):26S-38S.

3. Cunha MP, Machado DG, Mancini G, Glaser V, de Paula Martins R, Andreza F, et al. The effect of voluntary wheel running on the antioxidant status is dependent on sociability conditions. Pharmacol Biochem Behav 2020;198:173018.

4. Manzanares G, Brito-da-Silva G, Gandra P. Voluntary wheel running: patterns and physiological effects in mice. Braz J Med Biol Res 2018;52.

5. Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. Public Health Rep. 1985;100(2):126.

6. Allen DL, Harrison BC, Maass A, Bell ML, Byrnes WC, Leinwand LA. Cardiac and skeletal muscle adaptations to voluntary wheel running in the mouse. J App Physiol 2001;90(5):1900-8.

7. Oldfield CJ, Duhamel TA, Dhalla NS. Mechanisms for the transition from physiological to pathological cardiac hypertrophy. Canadian J Physiol Pharmacol 2020;98(2):74-84.

8. Nakamura M, Sadoshima J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy. Nat Rev Cardiol 2018;15(7):387-407.

9. Oláh A, Mátyás C, Kellermayer D, Ruppert M, Barta BA, Sayour AA, et al. Sex differences in morphological and functional aspects of exercise-induced cardiac hypertrophy in a rat model. Frontiers Physiol 2019;10:889.

10. Seo DY, Kwak H-B, Kim AH, Park SH, Heo JW, Kim HK, et al. Cardiac adaptation to exercise training in health and disease. Pflügers Archiv Euro J Physiol 2020;472(2):155-68.

11. Holtwick R, van Eickels M, Skryabin BV, Baba HA, Bubikat A, Begrow F, et al. Pressure-independent cardiac hypertrophy in mice with cardiomyocyte-restricted inactivation of the atrial natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase- A. J Clin Investigat. 2003;111(9):1399-407.

12. Bie P. Natriuretic peptides and normal body fluid regulation. Comprehensive Physiol 2011;8(3):1211-49.

13. Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence. CMAJ 2006;174(6):801-9.

14. Davis JC, Verhagen E, Bryan S, Liu-Ambrose T, Borland J, Buchner D, et al. 2014 consensus statement from the first Economics of Physical Inactivity Consensus (EPIC) conference (Vancouver). British J Sports Med 2014;48(12):947-51.

15. Organization WH. Global recommendations on physical activity for health: World Health Organization; 2010.

16. Bouchard CE, Shephard RJ, Stephens TE, editors. Physical activity, fitness, and health: international proceedings and consensus statement. International Consensus Symposium on Physical Activity, Fitness, and Health, 2nd, May, 1992, Toronto, ON, Canada; 1994: Human Kinetics Publishers.

17. Xao-feng Y, Sheng-tao Y. " Physical Activity Guidelines Advisory Committee Report, 2008"-Background & Process Review. Sport Sci. Rev. 2011.

18. Montoye HJ. Physical activity and health: an epidemiologic study of an entire community: Prentice-Hall; 1974.

19. Otman A, Köse N, Karakaya M. Egzersiz tedavisinde temel prensipler ve yöntemler. Meteksan Aş. 2006:21-51.

20. Zorba E. Saygın Ö. Fiziksel aktivite ve fiziksel uygunluk. Ankara: Fırat Matbaacılık Ltd. Şti, 2013.

21. Olgun H. Özer S. Genç sporcularda aritmi ve ani ölüm Hacettepe Tıp Derg. 2006;37(3):132-41.

22. Hurkmans E, van der Giesen FJ, Vlieland TPV, Schoones J, Van den Ende EC. Dynamic exercise programs (aerobic capacity and/or muscle strength training) in patients with rheumatoid arthritis. Cochrane Database of Syst Rev 2009(4).

23. Sherwin C. Voluntary wheel running: a review and novel interpretation. Animal Behav. 1998;56(1):11-27.

24. Selten J-P, Booij J, Buwalda B, Meyer-Lindenberg A. Biological mechanisms whereby social exclusion may contribute to the etiology of psychosis: a narrative review. Schizophrenia Bull 2017;43(2):287-92.

25. Howes OD, McCutcheon R, Owen MJ, Murray RM. The role of genes, stress, and dopamine in the development of schizophrenia. Biol Psychiatr 2017;81(1):9-20.

26. Pruessner JC, Champagne F, Meaney MJ, Dagher A. Dopamine release in response to a psychological stress in humans and its relationship to early life maternal care: a positron emission tomography study using [11C] raclopride. J Neurosci 2004;24(11):2825-31.

27. Vanderschuren LJ, Trezza V. What the laboratory rat has taught us about social play behavior: role in behavioral development and neural mechanisms. Neurobiol Childhood.. 2013:189-212.

28. Cunha MP, Oliveira A, Pazini FL, Machado DG, Bettio LE, Budni J, et al. The antidepressant-like effect of physical activity on a voluntary running wheel. Med Sci Sports Exerc. 2013;45(5):851-9.

29. Jequier E. Thermogenic responses induced by nutrients in man: their importance in energy balance regulation. Experientia Suppl 1983:26-44.

30. Dragoş D, Tănăsescu MD. The effect of stress on the defense systems. J Medicine Life. 2010;3(1):10.

31. Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. Trends Cell Biol. 2001;11(9):372-7.

32. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. Cell Death & Differentiation. 2003;10(1):45-65.

33. Zhou T, Mountz JD, Kimberly RP. Immunobiology of tumor necrosis factor receptor superfamily. Immunologic Res. 2002;26(1):323-36.

34. Salomon GD, Kasid A, Cromack DT, Director E, Talbot TL, Sank A, et al. The local effects of cachectin/tumor necrosis factor on wound healing. Ann Surg .1991;214(2):175.

35. Feiken E, Rømer J, Eriksen J, Lund LR. Neutrophils express tumor necrosis factor-α during mouse skin wound healing. J Invest. Dermatol. 1995;105(1):120-3.

36. Hostinar CE, Nusslock R, Miller GE. Future directions in the study of early-life stress and physical and emotional health: implications of the neuroimmune network hypothesis. **J** Clin Child Adolesc Psychol. 2018;47(1):142-56.

37. Peake J, Della Gatta P, Suzuki K, Nieman D. Cytokine expression and secretion by skeletal muscle cells: regulatory mechanisms and exercise effects. Exerc. Immunol. Rev. 2015;21:8-25.

38. Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN. Exercise elevates plasma levels but not gene expression of IL-1β, IL-6, and TNF-α in blood mononuclear cells. J App Physiol. 2000;89(4):1499-504.

39. Weinstock C, König D, Harnischmacher R, Keul J, Berg A, Northoff H. Effect of exhaustive exercise stress on the cytokine response. Medicine & Science in Sports & Exercise (MSSE)1997;29(3):345-54.

40. Aarden L. Revised nomenclature for antigen-nonspecific T cell proliferation and helper factor. J Immunol. 1979;123:2928-9.

41. Palomo J, Dietrich D, Martin P, Palmer G, Gabay C. The interleukin (IL)-1 cytokine family–Balance between agonists and antagonists in inflammatory diseases. Cytokine. 2015;76(1):25-37.

42. Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The interleukin-1 family: back to the future. Immunity. 2013;39(6):1003-18.

43. Awad F, Assrawi E, Louvrier C, Jumeau C, Georgin-Lavialle S, Grateau G, et al. Inflammasome biology, molecular pathology and therapeutic implications. Pharmacol. Ther.2018;187:133-49.

44. Dinarello CA. An expanding role for interleukin-1 blockade from gout to cancer. J. Mol. Med.. 2014;20(1):S43-S58.

45. Bent R, Moll L, Grabbe S, Bros M. Interleukin-1 beta—a friend or foe in malignancies? Int. J. Mol. Sci.2018;19(8):2155.

46. Wohleb ES, Powell ND, Godbout JP, Sheridan JF. Stress-induced recruitment of bone marrow-derived monocytes to the brain promotes anxiety-like behavior. J J Neurosci. 2013;33(34):13820-33.

47. Wohleb ES, Hanke ML, Corona AW, Powell ND, La'Tonia MS, Bailey MT, et al. β-Adrenergic receptor antagonism prevents anxiety-like behavior and microglial reactivity induced by repeated social defeat. J Neurosci. 2011;31(17):6277-88.

48. Wohleb ES, Patterson JM, Sharma V, Quan N, Godbout JP, Sheridan JF. Knockdown of interleukin-1 receptor type-1 on endothelial cells attenuated stress-induced neuroinflammation and prevented anxiety-like behavior. J Neurosci. 2014;34(7):2583-91.

49. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. J. Neurosci. Methods.1984;11(1):47-60.

50. Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. Nat. Protoc. 2006;1(2):848-58.

51. Kramer AF, Erickson KI. Capitalizing on cortical plasticity: influence of physical activity on cognition and brain function. TiCS 2007;11(8):342-8.

52. Van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. J Neurosci. 2005;25(38):8680-5.

53. Ma Z, Qi J, Meng S, Wen B, Zhang J. Swimming exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves microRNAs and synergistic regulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. European J App Physiol 2013;113(10):2473-86.

54. Fordyce D, Wehner J. Physical activity enhances spatial learning performance with an associated alteration in hippocampal protein kinase C activity in C57BL/6 and DBA/2 mice. Brain Res. 1993;619(1-2):111-9.

55. Haskell- Luevano C, Schaub JW, Andreasen A, Haskell KR, Moore MC, Koerper LM, et al. Voluntary exercise prevents the obese and diabetic metabolic syndrome of the melanocortin- 4 receptor knockout mouse. The FASEB journal. 2009;23(2):642-55.

56. Froelicher VF, Myers J. Exercise and the Heart: WB Saunders company; 2006.

57. Holloszy JO. Longevity of exercising male rats: effect of an antioxidant supplemented diet. Mech. Ageing Dev. 1998;100(3):211-9.

58. Aguiar Jr A, Stragier E, da Luz Scheffer D, Remor A, Oliveira P, Prediger R, et al. Effects of exercise on mitochondrial function, neuroplasticity and anxio-depressive behavior of mice. Neurosci.. 2014;271:56-63.

59. Bassett DR, Schneider PL, Huntington GE. Physical activity in an Old Order Amish community. Medicine & Science in Sports & Exercise. 2004;36(1):79-85.

60. Goh J, Ladiges W. Voluntary wheel running in mice. Curr. Protoc. Mouse Biol. 2015;5(4):283-90.

61. Ishihara A, Roy RR, Ohira Y, Ibata Y, Edgerton VR. Hypertrophy of rat plantaris muscle fibers after voluntary running with increasing loads. J App Physiol. 1998;84(6):2183-9.

62. Friedman WA, Garland Jr T, Dohm MR. Individual variation in locomotor behavior and maximal oxygen consumption in mice. Physiology & Behavior. 1992;52(1):97-104.

63. De Bono J. Adlam D, Paterson DJ, Channon KM. Novel quantitative phenotypes of exercise training in mouse models Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2006;290:R926-R34.

64. Tayfur P. Fruktozdan Zengin Beslenmede Serum Natriüretik Peptid Düzeyleri ve Lipoliz Üzerine İstemli Fiziksel Aktivitenin Etkisi (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2021.

65. Gibb AA, Hill BG. Metabolic coordination of physiological and pathological cardiac remodeling. Circ. Res. 2018;123(1):107-28.

66. Van Berlo JH, Maillet M, Molkentin JD. Signaling effectors underlying pathologic growth and remodeling of the heart. J Clin Investigat. 2013;123(1):37-45.

67. Porrello ER, Widdop RE, Delbridge LM. Early origins of cardiac hypertrophy: does cardiomyocyte attrition programme for pathological 'catch- up'growth of the heart? Clin. Exp. Pharmacol 2008;35(11):1358-64.

68. Eghbali M, Wang Y, Toro L, Stefani E. Heart hypertrophy during pregnancy: a better functioning heart? Trends Cardiovasc. Med. 2006;16(8):285-91.

69. Winsor T, Beckner G. Hypertrophy of The Heart -Electrocardiographic Distinction Between Physiologic and Pathologic Enlargement. Calif. Med. 1955;82(3):151.

70. Pelliccia A, Maron BJ. Outer limits of the athlete's heart, the effect of gender, and relevance to the differential diagnosis with primary cardiac diseases. Cardiol. Clin. 1997;15(3):381-96.

71. Morganroth J., Maron BJ.,Henry WL., Epstein SE. Comparative left ventricular dimensions in trained athletes. Ann. Intern. Med. 1975;82(4):521-4.

72. Pluim BM, Zwinderman AH, van der Laarse A, van der Wall EE. The athlete's heart: a meta-analysis of cardiac structure and function. Circulation. 2000;101(3):336-44.

73. Stryjewski PJ, Nessler B, Cubera K, Nessler J. Natriuretic peptides. History of discovery, chemical structure, mechanism of action and the removal routes. Basis of diagnostic and therapeutic use. Przeglad lekarski. 2013;70(7):463-7.

74. De Bold A, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. Life Sci.. 1981;28(1):89-94.

75. Yan W, Wu F, Morser J, Wu Q. Corin, a transmembrane cardiac serine protease, acts as a pro-atrial natriuretic peptide-converting enzyme. PNAS 2000;97(15):8525-9.

76. Potter LR, Yoder AR, Flora DR, Antos LK, Dickey DM. Natriuretic peptides: their structures, receptors, physiologic functions and therapeutic applications. cGMP: Generators, Effectors and Therapeutic Implications. 2009:341-66.

77. Pan S. Alterations of atrial natriuretic peptide in cardiomyocytes and plasma of rats after different intensity exercise. Scandinavian. J Sci Med Sport 2008;18(3):346-53.

78. McGrath MF, de Bold MLK, Adolfo J. The endocrine function of the heart. Trends Endocrinol. Metab. 2005;16(10):469-77.

79. Shanshan P, Yan Z, Aiyun L, Chen P. Effect of exercise on gene expression of atrial natriuretic peptide receptor of kidney. Life Sci. 2005;76(17):1921-8.

80. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. Nature. 1988;332(6159):78-81.

81. Valli N, Gobinet A, Bordenave L. Review of 10 years of the clinical use of brain natriuretic peptide in cardiology. J. Lab. Clin. Med. . 1999;134(5):437-44.

82. Smart NA, Steele M. Systematic review of the effect of aerobic and resistance exercise training on systemic brain natriuretic peptide (BNP) and N-terminal BNP expression in heart failure patients. Int. J. Cardiol. 2010;140(3):260-5.

83. Smart NA, Meyer T, Butterfield JA, Faddy S, Passino C, Malfatto G, et al. Individual patient meta-analysis of exercise training effects on systemic brain natriuretic peptide expression in heart failure. EJPC 2012;19(3):428-35.

84. Moyes AJ, Hobbs AJ. C-type natriuretic peptide: a multifaceted paracrine regulator in the heart and vasculature. Int. J. Mol. Sci.. 2019;20(9):2281.

85. Wu C, Wu F, Pan J, Morser J, Wu Q. Furin-mediated processing of Pro-C-type natriuretic peptide. J. Biol. Chem. 2003;278(28):25847-52.

86. Hunt P, Richards A, Espiner E, Nicholls M, Yandle T. Bioactivity and metabolism of C-type natriuretic peptide in normal man. J. Clin. Endocr. 1994;78(6):1428-35.

87. Suga S, Itoh H, Komatsu Y, Ogawa Y, Hama N, Yoshimasa T, et al. Cytokine-induced C-type natriuretic peptide (CNP) secretion from vascular endothelial cells—evidence for CNP as a novel autocrine/paracrine regulator from endothelial cells. Endocrinol. 1993;133(6):3038-41.

88. Osterbur K, Yu D-H, DeClue AE. Interleukin-1β, tumour necrosis factor-α and lipopolysaccharide induce C-type natriuretic peptide from canine aortic endothelial cells. Res. Vet. Sci. 2013;94(3):478-83.

89. Wu Q-Q, Xiao Y, Yuan Y, Ma Z-G, Liao H-H, Liu C, et al. Mechanisms contributing to cardiac remodelling. Clin. Sci. 2017;131(18):2319-45.

90. Duclos M, Gouarne C, Bonnemaison D. Acute and chronic effects of exercise on tissue sensitivity to glucocorticoids. J. Appl. Physiol. 2003;94(3):869-75.

91. Duclos M, Minkhar M, Sarrieau A, Bonnemaison D, Manier G, Mormède P. Reversibility of endurance training- induced changes on glucocorticoid sensitivity of monocytes by an acute exercise. Clin. Endocrinol. 1999;51(6):749-56.

92. Ghorbanzadeh V, Mohammadi M, Dariushnejad H, Chodari L, Mohaddes G. Effects of crocin and voluntary exercise, alone or combined, on heart VEGF-A and HOMA-IR of HFD/STZ induced type 2 diabetic rats. J. Endocrinol. Invest.2016;39(10):1179-86.

93. Ruiz-Ramie JJ, Barber JL, Sarzynski MA. Effects of exercise on HDL functionality. Current opinion in lipidology. 2019;30(1):16.

94. Herbert PN, Bernier DN, Cullinane EM, Edelstein L, Kantor MA, Thompson PD. High-density lipoprotein metabolism in runners and sedentary men. Jama. 1984;252(8):1034-7.

95. Hall, C. Essential biochemistry and physiology of (NT- pro) BNP. Eur. J. Heart Fail.*6*(3), 257-260.

96. Tayfur P. Fruktozdan Zengin Beslenmeye Bağlı Metabolik ve Kardiyak Hemodinamik Değişimlerde Fiziksel Aktivitenin Etkisi (tez). Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2016

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Dönen tekerlek sistemi 9
Şekil 2. Natriüretik Peptitlerin Kimyasal Yapısı. 13
Şekil 3. Biyolojik olarak aktif BNP ve NT-proBNP'ye enzimatik bölünmeyi gösteren proBNP'nin şematik çizimi. 15
Şekil 4. Deneysel dizayn. 19
Şekil 5. Gönüllü tekerlek aktivitesi kayıt düzeneği 20
Şekil 6. Hayvanların tek tek barındığı kontrol grubu ve dönen tekerlekli kafesler 21
Şekil 7. Hayvanların ikişerli barındığı kontrol grubu ve dönen tekerlekli kafesler 21
Şekil 8. Tekerlek aktivitesi sonucu meydana gelen grafikler 22
Şekil 9. ANP düzeyinin standart çalışması regresyon grafiği 24
Şekil 10. BNP düzeyinin standart çalışması regresyon grafiği 25
Şekil 11. TNFα düzeyinin standart çalışması regresyon grafiği 26
Şekil 12. IL-1β düzeyinin standart çalışması regresyon grafiği 27
Şekil 13. Fiziksel aktivite yapan gruplarda fiziksel aktivitenin günlük ortalamaları. 29
Şekil 14. 1. Hafta ile 8. Hafta arasındaki kilo değişimi. 31
Şekil 15. Serum ANP değerlerinin karşılaştırılması 32
Şekil 16.Sol ventrikül ANP değerlerinin karşılaştırılması 33
Şekil 17. Serum BNP değerlerinin karşılaştırılması 33
Şekil 18. Sol ventrikül BNP değerlerinin karşılaştırılması 34
Şekil 19.Kardiyomiyosit genişliğinin gruplar arasında karşılaştırması 35
Şekil 20. Kontrol gruplarının kardiyomiyosit genişlikleri 36
Şekil 21. Fiziksel aktivite gruplarının kardiyomiyosit genişlikleri 37

Şekil 22. Glikoz değerlerinin karşılaştırılması 38
Şekil 23. Kortizol değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması 40
Şekil 24. TNFα doku düzeylerinin karşılaştırılması 40
Şekil 25.Kalp ağırlıkları karşılaştırması. 43
Şekil 26.Kalp ağırlığı/Vücut Ağırlığı oranının karşılaştırması. 43
Şekil 27.Sol Ventrikül/Vücut Ağırlığı oranının karşılaştırması 44
Şekil 28. Sol Ventrikül Ağırlığı karşılaştırması 45

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Fiziksel aktivite yapan tek ve çift kafes başına kat edilen günlük ortalama mesafeler.....29
Tablo 2. Grupların iki hafta aralıklarla kilo değişimi.....30
Tablo 3. Serum ve doku natriüretik peptid düzeyleri.....32
Tablo 4. Kardiyomiyosit genişliği değişimi.....34
Tablo 5. Metabolik belirteçlerin değişimi.....38
Tablo 6. Stres belirteçlerinin serum ve doku düzeylerinin incelenmesi.....39
Tablo 7. Kalp,Akciğer, Karaciğer ağırlıkları ile ilgili parametrelerin incelenmesi.....42

ÖZGEÇMİŞ

Edirne'nin Uzunköprü ilçesinde doğdum. Lise eğitimimi Muzaffer Atasay Anadolu Lisesi'nde tamamladım. Lisans eğitimimi Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü'nde tamamladım. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladım.

EKLER

EK-1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 2021/05 **Karar Tarihi**: 28.05.2021
Karar No: 2021.05.06
Hayvan Sayısı ve Cinsi: Sıçan 23 adet

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Selma Arzu Vardar'ın yaptığı, TÜHADYEK-2021/19 protokol no'lu yüksek lisans öğrencisi Özge DİNDAR'ın yüksek lisans tezi olarak planlanan "**Sıçanlarda İstemli Fiziksel Aktivite Düzeyine Sosyal Koşul Farklılığının Etkisi**'' başlıklı çalışma isteği görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri etik kurullarının çalışma usul ve esaslarına dair yönetmelik ve Trakya Üniversitesi hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Hakan ERBAŞ
Başkan
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

Prof. Dr. Enis ULUÇAM
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

Prof. Dr. Suat ERDOGAN
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Prof. Dr. Y. Atakan SEZER
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Prof. Dr. Tevfik AKTOZ
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

Prof. Dr. Nedide SUT
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Doç. Dr. Elvan BAKAR
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

Doç. Dr. Filiz SANAL
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Dr. Öğr. Üyesi F. Gülfeşan ÇANAKÇI
Diş Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Vet. Hek. Kerim SELVİ
Vet. Hekim Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

Ecz. F. Uyutar BULUT
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Tarık AYKIZ
Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır