156826

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DÜZENLİ EGZERSİZİN KAN PARAOKSONAZ VE ARİL ESTERAZ AKTİVİTELERİ İLE HOMOSİSTEİN VE NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

FARUK TURGAY

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA

İZMİR
2004

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DÜZENLİ EGZERSİZİN KAN PARAOKSONAZ VE ARİL ESTERAZ AKTİVİTELERİ İLE HOMOSİSTEİN VE NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

FARUK TURGAY

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA

DANIŞMAN
DOÇ.DR. HÜRAY İŞLEKEL

İZMİR
2004

Düzenli Egzersizin Kan paraoksonaz ve Aril Esteraz Aktiviteleri İle Homosistein ve Nitrik Oksit Düzeyleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi isimli bu tez 16.08.2004 tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı bulunmuştur.

Jüri Başkanı
Doç.Dr. Hüray İŞLEKEL

Jüri üyesi
Prof. Dr. Banu ÖNVURAL

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Gül GÜNER

Jüri üyesi
Prof.Dr.Canan ÇOKER

Jüri Üyesi
Doç. Dr.Oğuz KARAMIZRAK

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın yürütülmesinde bana her türlü yardım ve katkıda bulunan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Tez Danışmanım Sayın Doç. Dr. Hüray İŞLEKEL'e her türlü katkılarından dolayı D.E.Ü.T.F. Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Banu ÖNVURAL'a, değerli Öğr. Üyelerine ve çalışanlarına, her türlü katkı ve yardımlarından dolayı E.Ü.S.H. Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Oğuz KARAMIZRAK'a, testlerimize gönüllü olarak katılan Master atletlerimize, bana en büyük desteği sağlayan Sporcu Sağlık Merkezi Başhekimi Dr. Şaban ACARBAY'a ve mesai arkadaşlarıma, ayrıca Uzm. Dr. Halil HALİL, Uzm. Dr. Ali Rıza ŞİŞMAN ve Uzm.Dr.Aylin çeçen'e ve yıllardır büyük bir sabır ve özveri ile bana destek veren eşim ve çocuklarıma teşekkür ederim.

Faruk TURGAY

İÇİNDEKİLER

Tablo Listesi vi

Şekil Listesi viii

Grafik Listesi ix

Kısaltmalar.....xi

ÖZET 1

SUMMARY 3

BİRİNCİ BÖLÜM

1.0.GİRİŞ ve AMAÇ 5

İKİNCİ BÖLÜM

2.0.GENEL BİLGİLER 7

2.1. LİPİD BİYOKİMYASI 7

2.1.1. Kolesterol 7

2.1.2. Trigliserid 8

2.1.3. Lipoproteinler 9

2.1.3.2. Düşük Dansiteli Lipoproteinler 13

2.1.3.3. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler 14

2.2. PARAOKSONAZ ve ARİLESTERAZ 16

2.2.1. Yapısı 16

2.2.2. Fonksiyonu 17

2.2.3. PON1-192 genetik polimorfizmi 18

2.2.4. PON1, AREST ateroskleroz ilişkisi 18

2.3. NİTRİK OKSİT 19

2.4. HOMOSİSTEİN 21

2.5. LİPİD PEROKSİDASYONU 24

2.6. ATERSKLEROZ VE KORONER KALP HASTALIĞI 27
2.6.1 Ateroskleroz Gelişimi 27
2.7. EGZERSİZ BİYOKİMYASI 30

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3.0. GEREÇ ve YÖNTEM 33

3.1. ARAÇ VE GEREÇLER 33

3.1.1. Cihazlar 33

3.1.2. Kimyasal Maddeler 34
3.1.3. Analiz Kitleri 35

3.1.4. Kullanılan Gereçler 36
3.2. ÇALIŞMA GRUPLARININ BELİRLENMESİ 36

3.2.1. Deneklerin ön seçimi 36

3.2.2. Çalışma Grupları 37

3.3. FİZİKSEL VE FİZYOLOJİK ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ 38

3.3.1 Fiziksel ölçüm yöntemleri 38
3.3.2. Fizyolojik ölçüm yöntemleri 38
3.4. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI 39

3.5. BİYOKİMYASAL ANALİZLER 39
3.5.1. Bazal PON1 enzim aktivitesinin belirlenmesi 39
3.5.2. Tuzla stimüle PON1 aktivitesinin belirlenmesi 40
3.5.3. AREST enzim aktivitesinin belirlenmesi 41
3.5.4. PON1 – 192 polimorfizminin fenotiplemesi 42
3.5.4.1.Fenotiplemenin ilkesi 42
3.5.4.2.Fenotipllemenin yapılması 43
3.5.5. Nitrik oksit düzeyinin belirlenmesi 43
3.5.6. Homosistein düzeyinin belirlenmesi 45

3.5.7. Tiyobarbütirik asid ile reaksiyona giren maddelerin belirlenmesi....45

3.5.8. HDL-K, HDL_2-K ve HDL_3-K Ölçüm Yöntemleri 46
3.5.9. Denek seçiminde kullanılan rutin biyokimyasal analizler 47
3.5.10. Manuel olarak analiz edilen kan parametrelerinin tekrarlanabilirlik (% CV) değerlerinin belirlenmesi. 47
3.6.İSTATİSTİKSEL ANALİZLER 48

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4.0. BULGULAR 49
4.1. SAĞLIKLI DENEKLERİN BELİRLENMESİNDE YARARLANILAN PARAMETRELERE İLİŞKİN BULGULAR 49
4.2. EGZERSİZ VE KONTROL GRUPLARININ FİZİKSEL VE FİZYOLOJİK ÖLÇÜMLERİNE İLİŞKİN BULGULAR 51
4.3. EGZERSİZ VE KONTROL GRUPLARININ KKH KLASİK RİSK FAKTÖRLERİNE İLİŞKİN BULGULARI 53
4.4. Egzersiz ve kontrol gruplarının bazal paraoksanaz (PON1) ve tuzla stimüle paraoksonaz (TSPON1), arilesteraz (AREST) enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin bulgular 55
4.5. EGZERSİZ VE KONTROL GRUPLARININ NİTRİK OKSİT (NO), HOMOSİSTEİN (Hcy) VE TİYOBARBÜTİRİK ASİD İLE REAKSİYONA GİREN MADDELER (TBARS) DÜZEYLERİNE İLİŞKİN BULGULAR 56
4.6. PON1-192 POLİMORFİZM FENOTİPLEMESİNİN OLUŞTURULMASINA İLİŞKİN BULGULAR 58
4.6.1 PON1-192 polimorfizm fenotiplemesi esas alınarak oluşturulan gruplara ilişkin bulgular 62
4.6.1.1 Total fenotip gruplarına ait bulgular 62
4.6.1.1.1. Fiziksel ölçüm bulguları 62
4.6.1.1.2. Fizyolojik ölçüm bulguları 62
4.6.1.1.3. Paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin bulgular 64
4.6.1.2. Egzersiz fenotip gruplarına ait bulgular 67

4.6.1.2.1.Fiziksel ölçüm bulguları 67
4.6.1.2.2.Fizyolojik ölçüm bulguları 67
4.6.1.2.3. Paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin bulgular 69
4.6.1.3. Kontrol fenotip gruplarına ait bulgular 72
4.6.1.3.1. Fiziksel ölçüm bulguları 72
4.6.1.3.2. Fizyolojik ölçüm bulguları 72
4.6.1.3.3. Paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin bulgular 73
4.6.2. Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının karşılaştırılmasına ilişkin bulgular 76
4.6.2.1. Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının $MaxVO_2$ ölçüm bulguları..76
4.6.2.2. Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin bulgular 78
4.6.3.PON1-192 fenotip gruplarının KKH klasik risk faktörlerine ilişkin bulgular 80
4.6.3.1.Total fenotip gruplarına ilişkin bulgular 80
4.6.3.2.Egzersiz fenotip gruplarına ilişkin bulgular 81
4.6.3.3. Kontrol fenotip gruplarına ilişkin bulgular 82
4.6.3.4. Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının karşılaştırılmasına ilişkin bulgular 82
4.7. İSTATİSTİKSEL OLARAK ANLAMLI BULUNAN KORELASYON ANALİZ BULGULARI 86
4.7.1.Tüm deneklerde anlamlı bulunan korelasyon analiz bulguları 86
4.7.1.1.KKH klasik risk faktörleri.....86
4.7.1.2.Tüm deneklerde anlamlı bulunan bazal PON1, tuzla stimüle PON1 (TSPON1) ve aril esteraz (AREST) enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin korelasyon analiz bulguları 87
4.7.2.Total sporcularda anlamlı bulunan korelasyon analiz bulguları 88
4.7.3.Kontrol grubunda anlamlı bulunan korelasyon analiz bulguları 88
4.7.4.QQ homozigot grubunda anlamlı bulunan korelasyon analiz

bulguları 88
4.7.5.Total R taşıyıcı grubunda anlamlı bulunan korelasyon analiz bulguları 88

BEŞİNCİ BÖLÜM

5.0. TARTIŞMA VE SONUÇ 90
KAYNAKÇA 102
EK 1: DENEKLERE VERİLEN FORM ÖRNEĞİ 111
EK 2: BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU 112

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: İnsan plazmasındaki lipoproteinler ve özellikleri 10
Tablo 2. İnsan plazma lipoproteinlerinin apolipoproteinleri 12
Tablo 3 : Endotel disfonksiyonuna neden olan etkenler 30
Tablo 4 : Manuel olarak analiz edilen kan parametrelerinin tekrarlanabilirlik (% CV) değerleri 48
Tablo 5: Deneklerin fiziksel ve fizyolojik ölçüm değerleri (Ort ± SD) 49
Tablo 6: Deneklerin hemogram ve biyokimyasal değerleri (Ort ± SD) 50
Tablo 7: Egzersiz ve kontrol gruplarının fiziksel ölçümlerinin Karşılaştırılması (Ort ± SD) 51
Tablo 8: Egzersiz ve kontrol gruplarının fizyolojik ölçümlerinin karşılaştırılması (Ort ± SD).....52
Tablo 9: Egzersiz ve kontrol gruplarının KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırılması (Ort ±.SD)..... 53
Tablo 10 : Egzersiz ve kontrol gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması(Ort.+SD)55
Tablo 11: Egzersiz ve kontrol gruplarının homosistein, nitrik oksit ve TBARS düzeylerinin karşılaştırılması (Ort.+SD).....56
Tablo 12 : Total grubun fenotip frekans dağılımı 59
Tablo 13 : Total fenotip gruplarına ait fiziksel ölçümlerin karşılaştırılması (Ort. ±SD)..... 62
Tablo 14: Total fenotip grupların fizyolojik ölçümlerinin karşılaştırılması (Ort.±SD) 63
Tablo 15 : Total fenotip gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması (Ort.+SD).....64
Tablo 16: Egzersiz fenotip guplarının fiziksel ölçüm değerlerinin karşılaştırılması (Ort. ± SD).....67
Tablo 17: Egzersiz fenotip guplarının fizyolojik ölçüm değerlerinin karşılaştırılması (Ort. ± SD).....68
Tablo 18: Egzersiz fenotip gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması (ort.± SD) 69

Tablo 19: Kontrol fenotip gruplarının fiziksel ölçüm değerlerinin Karşılaştırılması (Ort. ± SD) 72
Tablo 20: Kontrol fenotip gruplarının fizyolojik ölçüm değerlerinin karşılaştırılması (Ort. ± SD) 72
Tablo 21: Kontrol fenotip gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması (Ort. ± SD) 73
Tablo 22: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının $MaxVO_2$ değerlerinin karşılaştırılması (Ort. ± SD) 76
Tablo 23: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması ±(Ort.SD) 78
Tablo 24: Total fenotip gruplarının KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırılması (Ort ±.SD) 81
Tablo 25: Egzersiz fenotip gruplarının KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırılması (Ort ±.SD) 81
Tablo 26: Kontrol fenotip gruplarının KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırılması (Ort.+SD) 82
Tablo 27 : Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırılması (Ort. ± SD) 83
Tablo 28: Tüm deneklerde anlamlı bulunan KKH klasik risk faktörlerine ilişkin korelasyon analiz sonuçları 87
Tablo 29: Tüm deneklerde anlamlı bulunan kan bazal paraoksonaz, tuzla stimüle paraoksonaz, aril esteraz aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin korelasyon analiz sonuçları 87
Tablo 30: Total sporcularda anlamlı bulunan korelasyon analiz sonuçları 88
Tablo 31: Total R taşıyıcı grubunda anlamlı bulunan korelasyon analiz Sonuçları 89

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Şilomikron metabolizmasının şematik gösterimi 13
Şekil 2: HDL metabolizmasının şematik gösterimi 16
Şekil 3: Nitrik oksidin vazodilatasyondaki mekanizması 20
Şekil 4: Homosistein (Hcy) metabolizması 22
Şekil 5: Lipid peroksidsyonunun basamakları 25
Şekil 6 : Ateroskleroz lezyon oluşumu evreleri 29
Şekil 7: Okside LDL ile fagositozu sonucu köpük hücrelerin oluşumu 29

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının maksimal oksijen kullanımının karşılaştırılması 52

Grafik 2 : Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının HDL-K, HDL_2-K ve HDL_3-K düzeylerinin karşılaştırılması 54

Grafik 3 : Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının TG değerlerinin karşılaştırılması 54

Grafik 4: Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının TG/HDL-K oranının karşılaştırılması 55

Grafik 5 : Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının nitrik oksit değerinin karşılaştırılması 57

Grafik 6 : Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının homosistein (Hcy) ve TBARS değerlerinin karşılaştırılması 57

Grafik 7: Total fenotip grubun TSPON1/AREST oranı frekans histogramı 61

Grafik 8 : Total fenotip gruplarının (TQQ, TQR ve TRR) maksimal oksijen kullanımının karşılaştırılması 63

Grafik 9 : Total fenotip gruplarının (TQQ, TQR ve TRR) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması 65

Grafik10: Total fenotip gruplarının (TQQ ve TRT) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması 65

Grafik 11: Total fenotip gruplarının (TQQ, TQR ve TRR) TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması 66

Grafik12: Total fenotip gruplarının (TQQ ve TRT) TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması 66

Grafik 13: Egzersiz fenotip guplarının (EQQ, EQR ve ERR) maksimal oksijen kullanımının karşılaştırılması 68

Grafik 14: Egzersiz fenotip guplarının (EQQ, EQR ve ERR) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması 70

Grafik 15: Egzersiz fenotip guplarının (EQQ ve ERt) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması 70

Grafik16: Egzersiz fenotip gruplarının (EQQ, EQRve ERR) TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması 71

Grafik17:Egzersiz fenotip gruplarının (EQQ ve ERT) TSPON1/AREST oranının Karşılaştırılması 71
Grafik 18: Egzersiz fenotip guplarının (KQQ, KQR ve KRR) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması ..74
Grafik 19: Kontrol fenotip guplarının (KQQ, ve KRT) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması 74
Grafik 20: Kontrol fenotip guplarının (KQQ, KQR ve KRR) TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması 75
Grafik 21: Kontrol fenotip guplarının (KQQ ve KRT) TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması 75
Grafik 22: Egzersiz ve Kontrol fenotip gruplarının (EQQ, KQQ, EQR ve KQR) maksimal oksijen kullanımının karşılaştırılması 77
Grafik 23: Egzersiz ve Kontrol fenotip guplarının (ERT ve KRT) maksimal oksijen kullanımının karşılaştırılması 77
Grafik 24: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQQ, KQQ ve EQR , KQR) paraoksonaz enzim aktivitesinin karşılaştırılması 79
Grafik 25: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (ERR ve KRR) paraoksonaz enzim aktivitesinin karşılaştırılması 79
Grafik 26: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (ERT ve KRT) paraoksonaz enzim aktivitesinin karşılaştırılması 80
Grafik 27: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQR ve KQR) HDL-K ve HDL_3-K) açısından karşılaştırılması 84
Grafik 28: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQQ, ERT ve KRT) HDL-K açısından karşılaştırılması 84
Grafik 29: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQQ ve KQR) HDL-K Açısından karşılaştırılması 85
Grafik 30 : Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQQ ve KRT) TG/HDL-K oranı açısından karşılaştırılması 85
Grafik 31 : Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQQ ve KQQ) HDL_2-K açısından karşılaştırılması 86

KISALTMALAR

ACAT	: Açil : kolesterol açil transferaz
Apo	: Apolipoprotein
AREST	: Aril esteraz
BKH	: Beyaz Kan hücresi
CETP	: Kolesterol ester transfer proteini
DKB	: Diastolik kan basıncı
FG	: Futbol grubu
HDL	: High density lipoprotein (Yüksek dansiteli lipoprotein)
HDL-K	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol
HL	: Hepatik lipaz
HMG CoA	: Hidroksimetilglutaril CoA
Hcy	: Homosistein
HR	: Kalp atım hızı
JG	: Jogging grubu
KKH	: Koroner kalp hastalığı
KG	: Kontrol grubu
LCAT	: Lesitin : kolesterol açil transferaz
LDL	: Low density lipoprotein (Düşük dansiteli lipoprotein)
LDL-K	: LDL kolesterol
Lp(a)	: Lipoprotein (a)
LPL	: Lipoprotein lipaz
MaxVO_2	: Maksimal oksijen kullanımı
Mİ	: Miyokard infarktüsü
NO	: Nitrik oksit
PON1	: Paraoksonaz
PHLA	: Post heparin lipaz aktivitesi
PDGF	: Trombosit kökenli büyüme faktörü
SKB	: Sistolik kan basıncı
TG	: Trigliserid
TK	: Total kolesterol

TSPON1 : Tuzla stimüle PON1

VKİ : Vücut kitle indeksi

VLDL : Çok düşük dansiteli lipoprotein

VYO : Vücut yağ oranı

ÖZET

DÜZENLİ EGZERSİZİN KAN PARAOKSONAZ VE ARİL ESTERAZ AKTİVİTELERİ İLE HOMOSİSTEİN VE NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Faruk TURGAY

Aerobik egzersizin koroner kalp hastalığı (KKH) klasik risk faktörleri üzerindeki olumlu etkileri bilinmektedir. Ancak, sağlıklı yaşam amacıyla yapılan aerobik jogging (hafif koşu) ve temel olarak anaerobik özellikteki futbol egzersizinin paraoksonaz (PON1) ve aril esteraz (AREST) enzim aktiviteleri, PON1-192 polimorfizmi, homosistein (Hcy), nitrik oksit (NO) gibi KKH risk faktörü olarak kabul edilen parametreler üzerindeki etkileri ise tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışmada orta yaş grubundaki sağlıklı erkeklerde, sağlıklı yaşam amacıyla yapılan uzun süreli jogging ve futbol egzersizlerinin yukarıda söz edilen risk faktörleri üzerindeki etkileri araştırıldı. Ayrıca PON1-192 polimorfizmi ile kronik egzersiz ve KKH risk faktörleri arasındaki olası ilişkiler incelendi.

Çalışmamıza 40-55 yaş arası toplam 60 sağlıklı erkek katıldı. Sağlıklı yaşam amacıyla uzun süredir düzenli olarak haftada en az iki gün jogging (JG, n=20) ve futbol (FG, n=20) egzersizleri yapan iki grup ile egzersiz yapmayan bir kontrol grubu (KG,n=20) olmak üzere üç grup oluşturuldu. Deneklerin fiziksel (boy, kilo, vucut kitle indeksi, vücut yağ oranı) ve fizyolojik ölçümleri (dinlenik kalp atım hızı, kan basıncı, $MaxVO_2$) yapıldı. Açlık venöz kandan, bazal paraoksonaz (PON1) ve tuzla stimüle paraoksonaz (TSPON1) ve aril esteraz (AREST) aktiviteleri, NO (nitrit+nitrat), tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren madde (TBARS) düzeyleri kolorimetrik yöntemlerle, plazma total Hcy düzeyleri floresans polarizasyon immüno assay yöntemi ile belirlendi. Ayrıca klasik KKH risk faktörleri olarak kabul edilen serum trigliserid (TG), total kolestrol (TK), HDL kolesterol (HDL-K) ve alt grupları (HDL_2–K ve HDL_3-K) kolorimetrik olarak saptandı. PON1-192 polimorfizmi için yapılan fenotipleme, TSPON1/ AREST oranı esas alınarak gerçekleştirildi. Buna göre egzersiz ve kontrol grupları düşük aktiviteli QQ, QR hetrozigotu , yüksek aktiviteli RR ve R taşıyıcı (QR+RR) fenotip grupları şeklinde sınıflandırıldı.

Çalışmanın sonucunda:

- Sağlıklı yaşam amacıyla yapılan jogging ve futbol egzersizlerinin:
  - Klasik risk faktörleri üzerinde anlamlı düzeylerde olumlu etkileri bulundu ($p<0,05$). Ancak jogging grubu futbol grubuna göre anlamlı olarak daha antiaterojenik bir lipid ve lipoprotein profiline sahipti ($p<0,05$).
  - Kan PON1 ve AREST aktiviteleri, NO, Hcy, TBARS düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi bulunamadı. Ancak futbol grubunun Hcy ve NO değerleri anlamlı olmasa da jogging grubuna göre daha büyük olarak saptandı.

  Jogging ve futbol grubu arasında gözlenen bu farklılıkların nedeni futbolun anaerobik bir doğaya sahip olması olabilir.
- Bulgular PON 1 polimorfizmi açısından incelendiğinde:
  - Kontrol grubunda KKH klasik risk faktörleri açısından fenotip grupları arasında anlamlı fark bulunamadı. Egzersizin HDL-K üzerindeki iyileştirici etkisi, R taşıyıcılarında QQ fenotip grubundan anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0,05$). Bu bulgular, egzersiz ve PON1-192 polimorfizmi arasındaki bir etkileşimin sonucu olabilir.
  - Egzersizin QQ fenotip grubunda PON1 aktivitelerini anlamlı olarak artırdığı, ancak R taşıyıcılarında ise düşürdüğü belirlendi ($p<0,05$). Bu sonuçlar, PON1-192 polimorfizminden kaynaklanabilir.

Anahtar kelimeler: Jogging, futbol, sağlıklı yaşam egzersizi, pararaoksonaz /aril esteraz, PON1-192 polimofizmi, nitrik oksit, homosistein, HDL-K, HDL_2-K, HDL_3-K.

SUMMARY

EFFECTS OF REGULAR EXERCISE ON BLOOD PARAOXONASE / ARYLESTERASE ACTIVITIES, HOMOCYSTEİNE AND NITRIC OXIDE LEVELS

Regular exercise of aerobic nature is known to have beneficial effects on widely accepted risk factors of coronary heart disease (CHD). However, the effects of leisure-time aerobic jogging and basicly anaerobic soccer on blood paraoxonase (PON1), arylesterase (AREST) activities, PON1-192 polimorphism, total homocysteine (tHcy) and nitric oxide (NO) which is regarded as a cardiovascular disease risk factor, has not been investigated extensively to date. This study was designed to determine the effects of two different training regimen on the above mentioned risk factors in middle aged men. Moreover, the relation between PON1-192 polymorphism, long term exercise, and widely accepted risk factors of coronary heart disease has been investigated.

A total of 60 males aged 40-55 participated in the study. The two study groups were selected from aerobically training joggers (JG, n=20) and from leisure-time soccer players on a mixed aerobic/anaerobic training regimen (SG, n=20) respectively. They all had been training twice a week since many years. They were individuals who had been training for at least five months, either by playing soccer (SG), or jogging and running (JG). The control group (CG, n=20) consisted of sedentary counterparts with similar physical characteristics, diet and life style. Body weight and height, body mass index (BMI) and body fat ratio (BFR) were measured. Resting heart rates (HR), systolic (SBP) and diastolic blood pressures (DBP), maximal oxygen consumption ($MaxVO_2$) were determined. Serum basal PON1, salt (NaCl) - stimulated PON1 (TSPON1) and AREST activities, NO and TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) were analysed with colorimetric methods. Plasma total Hcy was determined with the fluorescence polarization immunoassay. Serum total cholesterol (TC), HDL-C, subgroups HDL_2-C, HDL_3-C and triglyceride (TG) levels were determined with standard enzymatic-colorimetric methods. Phenotype groups of PON1-192 polymorphism were determined using TSPON1 / AREST ratio. The phenotype subgroups for exercise training and control

groups were classified as QQ with low activity, QR heterozygote, RR with high activity and R carriers (QR+RR).

The results of this study reveals that leisure-time jogging and soccer exercises:

- Have beneficial effects on widely accepted risk factors of coronary heart disease ($p<0,05$). A more antiatherosclerotic lipid and lipoprotein profile was observed in JG compared with the SG ($p<0,05$).
- No significant differences were obtained for the blood levels of PON1 and AREST activities, NO, Hcy and TBARS levels amongst the three groups. Though insignificant, in soccer group NO and Hcy values were higher compared to those of JG.

The reason of differences between jjogging and soccer-goups can be that soccer has an anaerobic nature.

When PON1 polymorphism is concerned:

- No significant differences were observed for widely accepted risk factors of coronary heart disease between phenotype subgroups belonging to the control group. The improving effect of exercise on HDL-C was significantly better in R carriers as compared to the QQ phenotype ($p<0,05$). These findings might be the result of an interaction between exercise and PON1-192 polymorphism.
- Exercise leads to increase in PON1 activity in QQ phenotype, in contrast to a decrease in R carriers ($p<0,05$), which can due to PON1-192 polimorphism.

Key words: Jogging, soccer, leisure-time exercise, paraoxonase / arylesterase, PON1-192 polimorphism, nitric oxide, homocysteine, HDL-C, HDL_2-C, HDL_3-C

BİRİNCİ BÖLÜM

1.0. GİRİŞ ve AMAÇ

Koroner kalp hastalığı (KKH) sonucu oluşan miyokard infarktüsü (MI) dünyada ve ülkemizde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Yağ ve kaloriden zengin yiyeceklerin tüketimindeki artış, pasif yaşam biçimi, psikolojik stres, obezite, sigara alışkanlığı, hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabetes mellitus ve genetik yatkınlık gibi klasik risk faktörlerinin (1,2,3) yanı sıra son yıllarda paraoksonaz (PON1), aril esteraz (AREST), (4,5,6) nitrik oksit (NO) (7,8), homosistein (Hcy) (9,10,11) ile lipid ve lipoprotein parametreleri arasındaki karşılıklı ve kompleks etkileşimlerin ateroskleroz prosesinde bir öncül olarak kabul edilen endotelyal disfonksiyonla yakından ilişkili olduğu belirtilmektedir.

PON1, zehirli bir organofosfat bileşiği olan paraokson yanı sıra fenil asatetatı hidroliz etme kapasitesine sahip bir enzimdir. Substratı paraokson olan formuna paraokzonaz, fenil asetat olana aril esteraz adı verilmektedir (12). PON1 antioksidan ve antiaterojenik role sahiptir (13,4). Aterosklerozun oluşumunda koruyucu etkileri olduğu bilinen yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) nin antioksidan özelliğininin bir kısmının, yapısındaki apo A 1 ve apo J üzerinde yer alan PON1 den kaynaklanabileceği belirtilmektedir (4,5,6). Ayrıca aterojenik role sahip düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) nin oksidatif modifikasyonunu önlemede PON1in yer aldığı öne sürülmektedir (5,6).

Metiyonin metobolizması sırasında meydana gelen Hcy amino asidinin aterosklerozdaki rolünün, Hcy oksidasyonu sırasında oluşan oksidan ürünler (14,15) ve Hcy nin reaktif bir metaboliti olan tiolaktonların proteinlerle kolayca reaksiyona girerek onları hasara uğratması şeklinde olabileceği öne sürülmektedir (16,17,18). Tiolaktonları hidroliz eden tiolaktonaz enziminin ise PON1 ile hem yapısal hem de fonksiyonel olarak idantik olduğu (18), bu nedenle PON1 ve tiolaktonazın aslında aynı enzim olabileceği belirtilmektedir (17,18). Yüksek Hcy düzeyleri endotel hücrelerinden salınan ve antiaterojenik, vazodilatör, antioksidan, ancak belirli koşullar altında oksidan özelliklere sahip olan nitrik oksitin (NO) ((7), biyoyararlılığını azaltmaktadır (15).

Literatürde KKH ile PON1 aktivitesi arasında negatif (14,19), hiperhomosisteinemi arasında ise pozitif ilişkiler bulunurken, Hcy ve HDL-K arasında negatif ilişkiler saptanmıştır (10).

PON1 yapısındaki 192. pozisyonundaki glutaminin, arjinin ile yer değiştirmesi PON1-192 polimorfizme neden olmaktadır. 192. pozisyonda glutamin bulunan formuna Q, arjinin bulunana ise R fenotipi adı verilmektedir. 192 (glu arg) polimorfizminin zehirli organofosfat bileşiklerini hidroliz etmede ve ateroskleroza karşı korumada kişisel farklılıklara neden olduğu belirtilmektedir. Q alleline sahip kişilerin, R alleline sahip olanlara göre daha antiaterojenik lipid ve lipoprotein profili gösterdikleri, LDL oksidasyonuna karşı daha dirençli olmaları nedeniyle daha düşük ateroskleroz riski taşıdıkları belirtilmektedir (19,20 ,21).

Tüm dünyada sağlıklı yaşam amacıyla jogging tipi aerobik egzersiz yanı sıra temel olarak anaerobik nitelikteki futbol da yaygın olarak yapılmaktadır. Aerobik egzersizlerin KKH klasik risk faktörleri üzerindeki olumlu etkileri bilinmektedir (22,23,24). Ancak tüm bu egzersizlerin paraoksonaz ve aril esteraz enzim aktiviteleri, nitrik oksit, homosistein düzeyleri, PON1-192 polimorfizmi üzerindeki etkileri henüz tam olarak anlaşılamamıştır (20,21,7,10,11,25).

Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada, sağlıklı yaşam için uzun süredir ve düzenli olarak jogging ve futbol egzersizleri yapan orta yaşlı, sağlıklı erkeklerde:

- İki farklı egzersizin PON1 ve AREST enzim aktiviteleri, kan NO, Hcy düzeyleri ve KKH klasik risk faktörleri üzerindeki etkilerini,
- Egzersiz ile PON1 polimorfizmi ve belirtilen risk faktörleri arasındaki ilişkileri araştırmak amaçlanmıştır.

İKİNCİ BÖLÜM

2.0. GENEL BİLGİLER

2.1. LİPİD BİYOKİMYASI

Lipidler suda çözünmeyen veya çok az çözünen moleküllerdir (1,26). Hücrelerin bütünlüğünü koruyan ve sitoplazmanın özgül organeller halinde bölümlere ayrılabilmesini sağlayan hücre zarında bulunurlar. Ayrıca, bir besin deposu ana formu olan trigliseridler (TG), adrenal steroid, seks hormonları ve safra asidleri (kolesterol) yapı taşları olarak işlev görmektedirler (1,27,26). İnsan plazmasında bulunan başlıca lipidler TG'ler, fosfolipidler (FL) ve kolesterol esterleridir (KE). Bu moleküllerin hepsi de uzun zincirli yağ asidlerinin esterleridir. Yağ asidleri plazmada serbest formda da bulunabilir (SYA) (2,26).

2.1.1. Kolesterol

Kolesterol, dört halkalı steroid nükleusu ve bir hidroksil grubu olan 27 karbonlu steroldür. İnsanda hem serbest sterol, hem de uzun zincirli yağ asidlerinden biri ile esterleşmiş olarak bulunur (2). Kolesterolün serbest formu (SK) bütün hücre membranlarının komponenti olduğu gibi, birçok dokuda da başlıca bulunan şeklidir. Ancak adrenal korteks, plazma ve ateromatöz plaklarda kolesterolün baskın biçimi ester formudur (1,27,2).

Vücuttaki kolesterol başlıca iki kaynaktan gelmektedir. Kolesterol ya diyet ile birlikte alınmakta, ya da sentez edilmektedir. Diyetle alınan kolesterolün tamamı et, süt ürünleri ve yumurta gibi hayvansal kaynaklıdır. Kolesterol karaciğer, deri, adrenal, beyin ve barsaklar gibi birçok organda üretilmektedir. İnsanlarda karaciğer toplam kolesterol sentezinin yaklaşık % 10-20 sini gerçekleştirir (1). Kolesterol vücutta CO_2 ve H_2O'ya parçalanarak elimine edilemeyen nadir bileşiklerden birisidir. Safraya ve dolayısıyla barsağa salgılanabilir ya da safraya giren safra asidlerine çevrilebilir. Barsağa atılan kolesterolün yaklaşık % 50 si yeniden emilip dolaşıma geçer, geriye kalan % 50 si dışkıyla atılır. Safra kesesindeki safra asidlerinin hemen tamamı (% 97 si) barsaklardan geri emilerek karaciğere taşınır. Kolesterol ve safra asitlerinin barsaklardan alınarak yeniden karaciğere gönderilmesi şeklindeki bu dolaşıma "enterohepatik sirkülasyon" adı verilir. Hepatik

kolesterol sentezinin hızının sınırlanmasında diyet kolesterolünün absorbsiyonu ile biliyer kolesterolün reabsorbsiyonunun önemli rolü vardır (1,2,26).

Plazmadaki kolesterolün 2/3 den fazlası ester formdadır. Kolesterolün plazmada esterleşmesinde lesitin: kolesterol açil transferaz (LCAT); karaciğer ve ince barsakta esterleşmesinde ise açil kolesterol:açil transferaz (ACAT) enzimleri rol alır. Plazma serbest kolesterolü, kolesterol esterlerinin tersine, hücre membranlarındaki kolesterol ile rahatça yer değiştirebilir.

Normal kişilerde açlıkta, kolesterolün küçük bir bölümü çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) de taşınırken, büyük bölümü düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) de taşınır. Normal plazma total kolesterol düzeyinin 200 mg/dL den düşük olması tavsiye edilmekte olup kan kolesterol düzeyleri, TG'den farklı olarak, yağlı bir yemek sonrasında akut yükselme göstermezler. Plazma kolesterol düzeyleri yaş, cinsiyet, diyet, fiziksel aktivite ve hormonlar gibi çok sayıda faktörden etkilenmektedir (2).

2.1.2. Trigliserid

En yaygın kompleks lipidlerdir ve yağ asidlerinin depolanma şekli olarak görev alırlar (1). Trigliserid (veya triaçilgliseroller) gliserolün yağ asidi esterleridir ve genellikle iki veya üç değişik yağ asidi içerirler (2). TG ler yağ dokusunda büyük lipid damlacıkları içinde saklanırlar. Bunlar ayrıca belirli lipoproteinlerin ögeleri olarak da taşınırlar. TG ler adipositlerin içinde veya lipoprotein partikülü üzerinde hidrolize edildiğinde enerji kaynağı olarak kullanılmak üzere yağ asidleri açığa çıkar (1).

TG sentezi, karaciğer ve yağ dokusunda gliserol fosfat yolu ile, ince barsakta ise yağ absorbsiyonu sırasında monogliserid yolu ile meydana gelir. Diyet TG leri, şilomikronlar şeklinde absorbe edildikten sonra, intestinal lenf kanalcıkları ve daha sonra da torasik kanal yolu ile sistemik dolaşıma girerler. Endojen yağ asidlerinden türeyen TG ler ince barsaktan köken alırlarsa da asıl sentez yeri karaciğerdir ve buradan kana VLDL olarak salgılanırlar. Şilomikron ve VLDL deki TG lerin yağ asidi içeriği, diyet TG lerinin yağ asidi bileşiminden etkilenir. TG lerin plazmadaki ömürleri kısadır ve hidrolizin yanı sıra başta yağ dokusu olmak üzere çeşitli organlar tarafından alınarak plazmadan ayrılırlar (27,2).

TG düzeyleri yağlı bir yemek sonrasında saatlerce yüksek kalırsa da normalde plazmanın bütün şilomikron TG lerinden 12 saat içinde temizlenmesi gerekmektedir. Bu nedenle açlık plazmasında gerçekleştirilen ölçümler, dolaşımdaki endojen TG lerin düzeylerini gösterir. Plazma TG inin 150 mg/dL den az olması önerilir (26). Açlık serum TG değerlerinin yüksekliğinin (hipertrigliseridemi) KKH için risk oluşturduğu, ancak TG ile KKH arasındaki ilişkinin, düşük HDL ile (TG ile HDL ters ilişkili) KKH arasındaki bağlantıyı yansıttığı düşünülmektedir (2).

2.1.3. Lipoproteinler

Serbest yağ asitleri dışında bütün lipidler (kolesterol, TG, fosfolipidl gibi kompleks lipidler) kanda lipoprotein adı verilen suda çözünür makromolekül kompleksleri halinde taşınırlar. Lipoproteinler çözünmeyen lipidlerin kanda çözünebilir kompleksler halinde taşınması için bir araç fonksiyonu görürler. Lipoproteinler, iç kısmında TG ve kolesterol esterlerinden oluşan nonpolar bir çekirdek, dış yüzeyinde ise fosfolipid, serbest kolesterol ve apolipoproteinlerden oluşan polar bir kabuğun olduğu küresel bir partikül şeklindedir. Plazma lipoproteinleri, flotasyon hızlarına (sf), hidrate dansitelerine (d), büyüklüklerine ve elektroforetik mobilitelerine göre şilomikron, VLDL, orta dansiteli lipoprotein (IDL), LDL, HDL ve LP(a) olmak üzere altı değişik lipoprotein sınıfına ayrılmaktadır (1,27,26)(Tablo 1).

Tablo 1: İnsan plazmasındaki lipoproteinler ve özellikleri

LP	Kaynak	Çap (nm)	Dansite	Sf	Protein %	Total lipid %	TG %	FL %	EK %	SK %	SYA %
Şilomikron	Barsak	90-1000	<0.950	>400	1-2	98-99	88	8	3	1	-
VLDL	Karaciğer barsak	30-90	0.950-1.006	20-400	7-10	90-93	56	20	15	8	1
IDL	VLDL şilomikron	25-30	1.006-1.019	12-20	11	89	29	26	34	9	1
LDL	VLDL	20-25	1.019-1.063	2-12	21	79	13	28	48	10	1
HDL_2	Karaciğer barsak VLDL?	10-20	1.063-1.125	-	33	67	16	43	31	10	-
HDL_3	Şilomikron	7.5-10	1.125-1.210	-	57	43	13	46	29	6	6
Alb-SYA	Adipoz doku	-	>1.281	-	99	1	0	0	0	0	100

Lipoproteinler; şilomikronlar, şilomikron kalıntıları, VLDL, IDL, LDL, LP (a), HDL ve alt grupları olan HDL_1, HDL_2, HDL_3 ve çok yüksek dansiteli lipoprotein (VHDL) esas olarak karaciğer ve barsaklarda sentezlenirler (1).

Açlık kanında yapılan total kolesterol ve TG ölçümleri, bu lipidlerin tüm lipoprotein tiplerinde bulunan konsantrasyonlarının toplamını verir. Serum lipid değerlerindeki değişmeler genellikle lipoprotein konsantrasyonlarındaki ve bu lipoproteinlerin kimyasal yapılarındaki değişiklikleri yansıtır. Normal koşullarda IDL veya şilomikron kalıntılarının plazma konsantrasyonları göreceli olarak düşük olduğu için ihmal edilmektedir. Ancak bunlar hiperlipideminin bazı tiplerinde, serum kolesterol ve TG in başlıca belirleyicisi olabilirler. Plazma lipid ve lipoprotein

değerleri yaş, kalıtım, cinsiyet gibi intrensek faktörlerden ve diyet, vücut ağırlığı, fiziksel aktivite gibi değişebilen faktörlerden etkilenir (2).

Apoproteinler (apolipoproteinler) lipidlerin suda çözünürlüklerini arttırarak kanda taşınmalarını sağlayan yapılardır (2). Lipoproteinlerin yüzeylerindeki özgül apolipoproteinler lipoproteinlerin akibetini belirler. Çeşitli lipoproteinler ile ilişkili olan ve apolipoprotein adı verilen yaklaşık 10 değişik protein yapısı bulunmaktadır (Tablo 2).

Lipoproteinlerin içinde mevcut olan apoproteinlerin başlıca üç fonksiyonu vardır (2).:

1. Fosfolipidler ile reaksiyona girerek kolesterol esterlerinin ve TG lerin çözünürlüğünü sağlamak
2. Lipidlerin LCAT, lipoprotein lipaz (LPL) ve hepatik lipaz (HL) gibi enzimlerle olan reaksiyonlarını düzenlemek
3. Hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak lipoprotein içeriklerinin özellikle de kolesterolün alınmasını (uptake) ve parçalanma hızlarını belirlemek.

Tablo 2. İnsan plazma lipoproteinlerinin apolipoproteinleri (27)

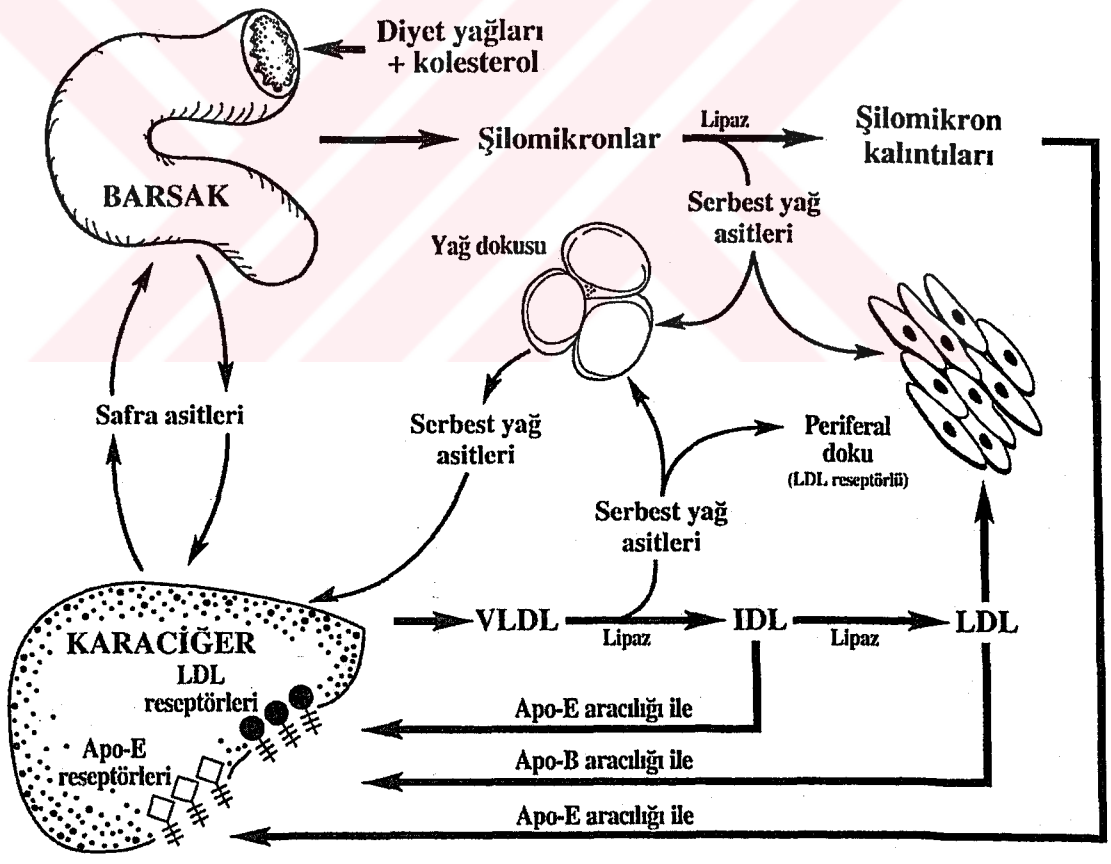
Apolipoprotein	Lipoprotein	Molekül kütlesi (Da)	Fonksiyonları
A-1	HDL, şilomikronlar	28000	LCAT aktivatörü
A-II	HDL, şilomikronlar	17000	Disülfid köprüsü ile birleşmiş iki eşdeğer monomer. LCAT inhibitörü?
B-100	LDL, VLDL, IDL	550000	Karaciğerde sentezlenir LDL reseptörü için ligand
B-48	Şilomikronlar ve şilomikron artıkları	260000	Barsakta sentezlenir
C-1	VLDL, HDL	7600	Muhtemelen LCAT aktivatörü
C-II	VLDL, HDL, şilomikronlar	8800	Ekstrahepatik LPL aktivatörü
C-III	VLDL, HDL, şilomikronlar	8750	Sialik asid içeriğine bağlı olarak birkaç polimorfik şekil gösrerir
D	HDL nin alt-fraksiyonları	20000	Olasılıkla CETP proteinine idantik
E (Arjininden zengin)	VLDL, HDL, şilomikronlar, şilomikron artıkları	34000	Tip III hiperlipoproteinemili hastaların β-VLDL sinde aşırı miktarda bulunur Diyetle hiperkolesterolemi oluşturulan hayvanların HDL-C inde bulunan biricik apoproteindir Karaciğerde ve LDL reseptöründe şilomikron artık reseptörü için ligand

Çalışmamız parametreleri içinde yer alması nedeniyle aşağıda ardışık iki alt bölümde lipoproteinlerden düşük yoğunluklu lipoproteinler ve yüksek dansiteli lipoproteinlerden biray daha detaylı söz edilecektir.

2.1.3.2. Düşük yoğunluklu Lipoproteinler

Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) plazmadaki temel kolesterol taşıyıcı partiküldür. Boyut ve bileşimine göre çeşitlilik gösteren LDL nin dansite gradiyenti ultrasantrifüj ile yapılan çeşitli çalışmalarda hafif ve ağır olarak iki subfraksiyonu saptanmış ve ağır LDL nin prekürsörünün hafif LDL olduğu bildirilmiştir. LDL partikülü başına düşen mutlak ApoB miktarının değişmediği ve VLDL ye benzemesi nedeniyle LDL nin VLDL katabolizması sonucu oluştuğu sonucuna varılmıştır (2).

Plazma toplam kolesterolünün yaklaşık %70 i LDL de bulunur. LDL, liporotein lipazının aracılık ettiği VLDL hidrolizinin uç ürünlerini temsil eder(Şekil 1).



Şekil 1: Şilomikron metabolizmasının şematik gösterimi (1)

Ayrıca, daha büyük VLDL partiküllerinin TG açısından zengin çekirdeği ayrılınca ihtiyaç fazlası yüzey yapı taşları HDL ye transfer edilirken, yüzey lipid ve proteinleri yeniden şekillenir. Sonuçta sadece Apo B-100 içeren küçük ve kolesterolce zengin bir partikül olan LDL oluşur. VLDLnin yaklaşık % 75 i karaciğer tarafından alınırken birçok doku az miktarda LDL alır (1).

VLDL katabolizması ürünü olan IDL normal koşullarda plazmada çok küçük miktarlarda bulunur; başlıca yapı taşları, Apo B-100 ve apo E dir. IDL hepatik lipaz (HL) ın katıldığı son süreçte LDL ye çevrilir. LDL sadece Apo B içerir. VLDL nin yaklaşık yarısı LDL ye çevrilir. Geri kalanı VLDL artıkları ve IDL olarak doğrudan doğruya karaciğerde temizlenir. LDL nin kendi reseptörleri tarafından alınmasına yapısındaki ApoB–100 aracılık eder. VLDL artığı olarak IDL ve LDL aterojenik olarak kabul edilir (1,27,2).

Plazmadaki LDL konsantrasyonu, sentez hızı kadar, katabolizma hızına da bağlıdır. Bir günde intravasküler havuzun % 30-40 ı katabolize edilir. Diyet yağının tümü ve LDL reseptörü ile ApoB genlerinin mutasyonu gibi çevresel ve genetik faktörlerin LDL metabolizmasına etkileri fazladır (2). Plazma LDL konsantrasyonu için 130 mg/dL nin altında olması önerilmektedir (26).

2.1.3.3. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler

Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) lipidlerin lipoproteinler ve hücreler arasında yeniden dağıtılmasında işlev görür. HDL nin HDL_1, HDL_2 ve HDL_3 olmak üzere üç alt grubu vardır. HDL_1 miktarı küçük olduğu için ihmal edilebilir. HDL deki proteinlerin %90 ından fazlası ApoA dır. TG den zengin lipoproteinlerin (şilomikron, VLDL, vb.) lipolizi sırasında yüzey elemanlarının serbest bırakılması HDL_3 ün HDL_2 ye dönüşümünü hızlandırır (1).

HDL sentezinine ait başlıca üç kaynak bulunmaktadır:

1. Karaciğer "olgunlaşmamış HDL" olarak adlandırılan bir ApoA-1 fosfoilipid diski salgılar.
2. Barsaklarda küçük bir ApoA-1 HDL partikülünü doğrudan sentez edebilir.
3. Şilomikronlardan ve VLDL'den gelen yüzey maddesinden türetilir. Şilomikron ve VLDL, LPL tarafından etkilenerek TG'den zengin çekirdeği

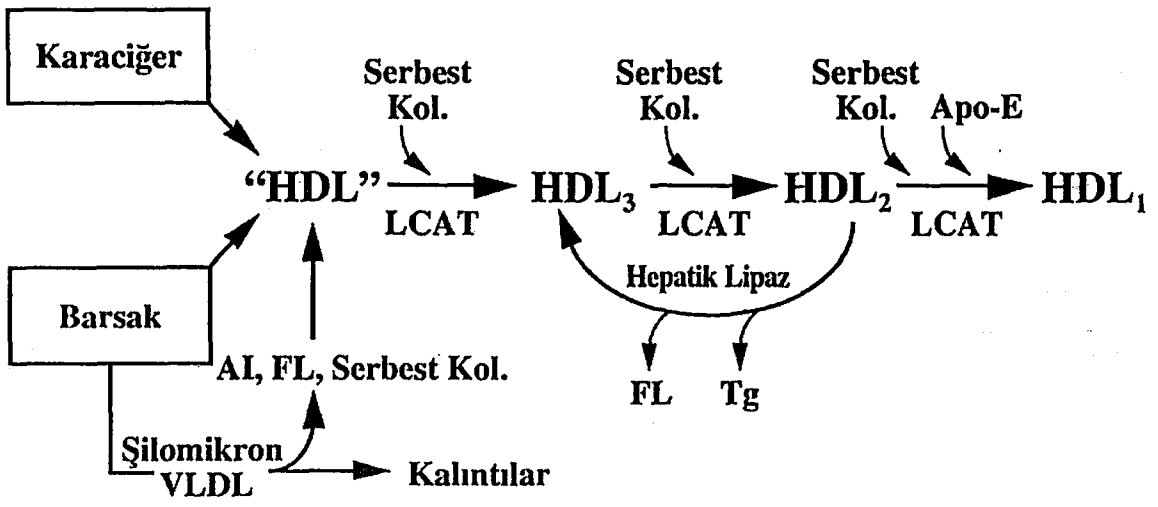
hidrolize olur. Bu şekilde ortaya çıkan fosfolipid ve serbest kolesterolden oluşan yüzey maddesi ApoA-1 ile birlikte küçük HDL diskini şekillendirir.

"HDL diskleri" hücrelerden ve diğer lipoproteinlerden lipid ve özellikle serbest kolesterol toplarlar. Bu durum serbest kolesterol bakımından zenginleşmiş ApoA-1 fosfolipid disklerini meydana getirir. LCAT kolesterolü esterleşir. Böylece HDL'nin çekirdeğini oluşturmaya başlayan kolesterol esterleri meydana gelir. Daha fazla kolesterol esterleştirildikçe disk, HDL_3 adı verilen küçük bir partikül haline dönüştürülür (küçük olgun HDL). HDL_3 serbest kolesterolun alıcısıdır. HDL_3 e alınan ve esterleştirilen serbest kolesterol miktarı arttıkça partikülün boyutu büyür ve HDL_2 meydana gelir. HDL_2 esas olarak ester kolesterol alıcısıdır (1,26)(Şekil 2).

HDL ve alt fraksiyonları tıbbi açıdan son derece önemlidir. HDL ateroskleroz prosesinde arter duvarındaki köpük hücrelerinden kolesterolü alıp, karaciğere taşıyarak (reverse kolesterol taşınması) antiaterojenik bir rol oynar (1). HDL nin ayrıca, antioksidan, fibrinolizi arttırıcı, LDL reseptörü ile yarışarak endotel hücreleri tarafından LDL alınmasını düşürürücü, in vitro olarak da LDL tarafından trombositlerin aktivasyonunu engellyici etkileri bulunmaktadır.

Serum HDL ve HDL_2 düzeyi ile iskemik kalp hastalığı riski arasında negatif ilişki saptanmıştır (22). Düşük HDL değeri (<35 mg/dl) ateroskleroz risk faktörü olarak gösterilmektedir. HDL düzeyi üzerinde sigaranın olumsuz etkiye sahip olduğu (1,2) yeterli sıklık ve sürede yapılan aerobik egzersizlerin ise HDL düzeyini arttırdığı belirtilmektedir (27,28,29).

Serum HDL_2-K ve HDL_3-K konsantrasyonları büyük ölçüde, plazmada mevcut olan dört enzimin stimülan etkisi ile belirlenir. Bunlar LCAT, kolesterol ester transfer proteini (CETP), hepatik trigliserid lipazı (HTL) ve LPL dır (1,2,27).



Şekil 2: HDL metabolizmasının şematik gösterimi (1)

2.2. PARAOKSONAZ ve ARİLESTERAZ

İnsan serumu, AREST (EC 3.1.1.2) ve PON1 (E.C 3.1.8.1) aktivitesine sahip tek gen ürünü enzim içermektedir. Enzimin paraoksona karşı olan aktivitesine paraoksanaz (PON1); fenilasetat substratına karşı olan aktivitesine ise arilesteraz (AREST) adı verilmektedir. Bu iki enzimin aktif bölgelerinin benzer olup olmadığı belirsizdir, ancak kompetetif olmaları aynı aktif merkezin özelliklerinin paylaşıldığını göstermektedir (12).

2.2.1. Yapısı

PON1, Aldridge sınıflama sistemine göre A grubu aril dialkilfosfataz sınıfı bir ester hidrolaz enzimidir (13,20). 43-45 kDa molekül ağırlığında glikozile bir protein olup, her molekül total ağırlığın %15.8 i kadar karbohidrat içerir, izoelektrik noktası 5.1 dir (12,13,20). 354 amino asid içeren paraoksonazın yapısında yer alan üç sistein (Cys) kalıntısından 284. pozisyondaki serbest iken diğer ikisi arasında (Cys 42-352) tek disülfid bağı bulunur (28). Serbest sisteinin substrat oryantasyonu ve bağlanması için gerekli olduğu saptanmıştır. İnsan ve tavşan serum paraoksonazı N terminal hidrofobik (29) sonlanma nedeni ile diğer lipoproteinlere ve lipid içeren partiküllere sıkı bağlıdır (29,31,32). Apo A1, paraoksonazın fosfolipidlere bağlanması ve stabilizasyonunda rol alır. PON1 ve AREST enzim aktivitesi

kalsiyuma bağımlıdır, bu nedenle aktivitesinin belirlenmesinde EDTA sız plazma gereklidir (12,20).

2.2.2. Fonksiyonu

Sentetik substratı bir tür insektisit olan parathionun aktif formu organofosfat **"paraokson"** (O,O-dietil-0-(p-nitrofenil-fosfat) dır. Bu nedenle enzime paraoksonaz ismi verilmiştir (20,12,33). Paraokson, asetilkolini yıkan kolinesterazların potent inhibitörüdür. Bu nedenle sinaptik bileşkelerde asetilkolin birikimine yol açar. PON1 böcek öldürücü paraoksonu hidroliz eder. Bu nedenle organofosfat insektisitlerin kronik zehirlenmelerine karşı koruyucu etkisi vardır (20,28).

AREST aktivitesi organofosfatlar gibi kolinesteraz inhibitörleri ile inhibe edilmezler ve çoğunlukla fenil asetat substrat olarak kullanılarak ölçülürler. Arilesterazlar spesifik olarak asetik asidin aromatik esterlerini hidroliz ederler **(12,33).**



Lakton içeren ilaçlardan olan simvastatin ve lovastatin vb. PON1'in sentetik substratları olarak tanımlanmaktadır (20,30). Homosisteinin metabolitleri olan tiyolaktonları hidroliz eden tiyolaktonaz ve PON1in yapısal ve sekans benzerliği nedeniyle aynı enzim olabileceği iddia edilmektedir (18).

PON1'in fizyolojik substratı henüz belli değildir. Okside fosfolipidler ve kolesterol esterlerinin fizyolojik substratları olabileceği belirtilmektedir (20,30,34).

PON1 insanlarda karaciğerde sentezlenir. Ayrıca karaciğer, beyin, pankreas ve plasentada da bulunmuştur (20,28). İnsan serum paraoksonazı'nın cinsiyete ve yaşa bağlı aktivite farklılıkları göstermediği belirtilirken (35), 40 yaşından sonra yaşa bağlı olarak düştüğü (36), cinsiyete bağlı olarak değiştiğini (erkeklerde daha yüksek) gösteren çalışmalar da mevcuttur (37). Serum PON1 aktivite düzeyleri diyet, akut faz reaktanları, apo A1 metabolizmasını etkileyen bozukluklardan etkilenir ve PON1-192 polimorfizmi nedeniyle bireyler arasında değişkenlik gösterir (28,30). Sigaranın doz ve zamana bağımlı olarak PON1 aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (38). Kullanılmış yağdan zengin diyetin PON1 aktivitesini azalttığı, ılımlı alkol alımının (39,40) ve östrojen replasmanının arttırdığı belirtilmektedir (25). Sağlıklı yaşam amacıyla yeterli sıklık ve yoğunlukta yapılan aerobik türdeki

egzersizlerin PON1 aktivitesi (25) ve HDL-K düzeyleri üzerindeki etkilerinin PON1-192 polimorfizmiyle ilişkili olabileceği belirtilmektedir (21).

2.2.3. PON1-192 genetik polimorfizmi

İnsan paraoksonazı (HUMPONA), en az üç ilişkili gen içeren multigen ailesinin üyesidir (PON1, PON2, PON3) (20,13,30). PON1 geni kromozom 7'nin uzun kolunda q21.3-22.1 bölgesinde yer alır ve PON2 ve PON3 genine bitişik yerleşimlidir (20). Bunlardan sadece PON1 gen ürünü plazmada yer alırken diğerleri hücre içi yerleşimlidir (29). PON1-192 polimorfizminin moleküler temeli iki amino asidin yer değiştirmesine dayanır (20,29). 192. pozisyonda yer alan glutamin (Gln), "Q (A) formu"nu, Gln yerine arjinin (Arg) gelmesi "R (B) formu"nu oluşturur. Paraoksonaz enzim aktivitesindeki polimorfizm substrata bağımlıdır ve farklı etnik geçmişleri olan popülasyonlara göre değişir (20). R formu paraoksonu, Q formuna göre daha hızlı hidroliz eder, bu nedenle R formu paraoksanaz aktivitesi diğerinden yüksektir. Fenilasetata karşı her ikisi de benzer aktivite gösterir (12,33). Bu nedenle AREST aktivitesi PON1 in tersine polimorfizmden etkilenmemektedir (12,33,41).

PON1, enzim aktivitesi açısından QQ homozigot, QR heterozigot, RR homozigot şeklinde trimodal bir dağılım göstermektedir (33,41). Türklerde R allel sıklığı doğu populasyonlarından daha düşük ve Avrupa ırkına yakın değerler göstermektedir (42).

2.2.4. PON1, AREST ateroskleroz ilişkisi

PON1 in antiaterojenik özelliğinde LDL ve HDL yi oksidasyona karşı koruması önemli rol oynamaktadır. Paraoksanaz enzimi LDL oksidasyonu sırasında ortaya çıkan fosfolipid hidroperoksidlerini fosfolipaz A2 benzeri aktivite ile, lipid hidroperoksitleri ve H_2O_2 i peroksidaz benzeri aktivite ile hidroliz ederek LDL oksidasyonundan koruyucu antioksidan etki göstermektedir (20,34). PON1'in okside-LDL üzerindeki etkisi, organik fosfatlarla fosfolipidlerdeki bağların yapısal benzerliğinden kaynaklanmaktadır (43). Ancak PON1'in LDL'yi oksidasyondan koruyucu özelliğinin paraokson hidroliz kapasitesinden bağımsız olduğu saptanmıştır (44). PON1 in antiaterojenik özelliğinin PON1-192 polimorfizmi ile de ilişkili olduğu belirtilmektedir. Düşük aktiviteli Q formuna sahip kişilerin yüksek

aktiviteli R formuna sahip heterozigot ve homozigotlara göre daha antiaterojenik lipid ve lipoprotein profiline sahip oldukları (13) ve LDL'yi oksidasyondan koruma daha etkin olduğu belirtilmektedir.

AREST aktivitesi açısından incelendiğinde, erkeklerde kadınlara göre anlamlı olarak daha yüksek , hiperlipidemili hastalarda ise sağlıklı kişilere göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (37).

2.3. NİTRİK OKSİT

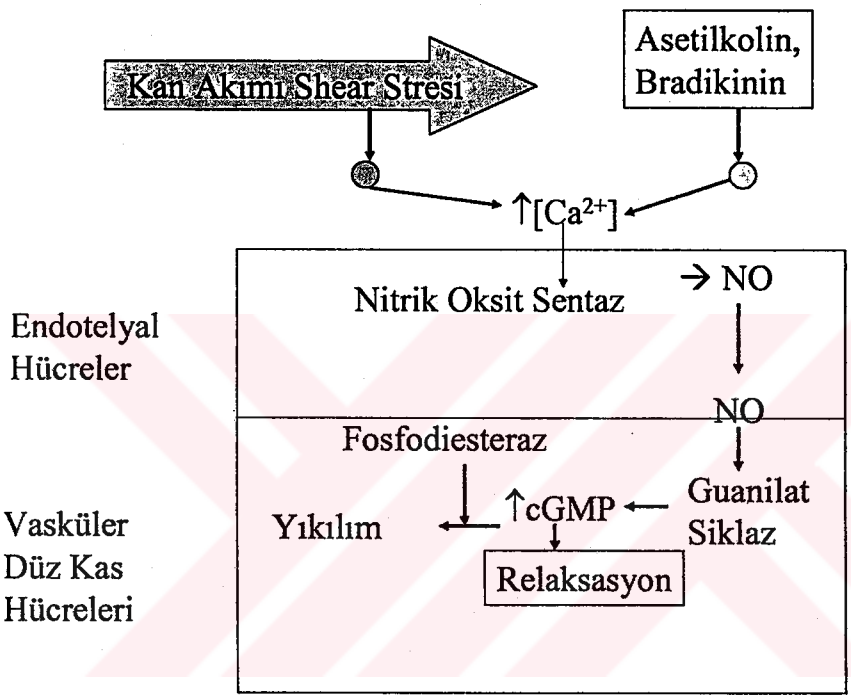
Nitrik oksit (NO), İnsanda çeşitli kaynaklardan endojen olarak üretilir. En önemli kaynak L-arjinindir. Arjinin, sitrülin ve NO oluşturmak üzere nitrik oksit sentaz enzimi (NOS, EC 1.14.13.39) tarafından okside edilir (7,45,46,47).

$$\text{L-arginin} + \text{NADPH} + O_2 \xrightarrow[\text{BH4, FMN, FAD}]{\text{NOS}} \text{L-citrulline} + \text{NADP} + H_2O + \text{NO}$$

Önceleri endotelden türeyen relaksasyon faktörü (EDRF) olarak bilinen NO, sürekli olarak endotelden salınan bir gazdır. Vasküler dilatör tonüsün, lokal hücre büyümesinin düzenlenmesi, damarların trombosit ve kanın diğer hücrelerinin oluşturduğu hasarlardan korunması gibi vasküler homeostazın sürdürülmesi başta gelen biyolojik özellikleridir. NO damar duvarlarında düz kas hücrelerinde bir aracı molekül ya da hormon etkili ikincil haberci olarak etki ederek guanilat siklazın aktivasyonu üzerinden siklik GMP oluşumunu artırmak suretiyle vasküler relaksasyona neden olur (46,47)(Şekil 3).

NOS'un en az üç izoenzimi vardır. Moleküler ağırlıkları 130-155 bin arasında değişir. Bunlardan biri hemen hemen tamamen vasküler endotelde (eNOS ya da NOS-3) yer alır ve kan damarlarının relaksasyonu sağlayan NO yu salgılar. Bu nedenle kan basıncının önemli bir belirleyicisidir. İkincisi indüklenebilir NOS (iNOS ya da NOS-2) inflamasyon ve infeksiyona cevap olarak makrofajlar ve diğer birçok hücre tiplerinde üretilir. Makrofaj NOS tarafından üretilen NO yalnızca saldırı altındaki ajana hasar vermekle kalmaz aynı zamanda makrofajlarda ve diğer hücre tiplerinde apoptozis'i de indükler. Üçüncü bir enzim nöronal NOS (nNOS, NOS-1) beyinde, nöronal dokuda, nöroblastomlarda, iskelet kasında, pankreatik adacık ß hücrelerinde ve midenin epitelyal hücrelerinde bulunur. eNOS ve nNOS yapısal

olarak sürekli eksprese edilir. (45,46). nNOs ve eNOS iskelet kasında daha çoktur. Tüm izoformları hipoksi ile transkripsiyon olarak regüle edilebilir. nNOS espresyonu ezilme ve şiddetli yaralanma ile, kassal aktivite ve yaşlanma prosesi ile artar. Vasküler ve kas nNOS'u kronik egzersizle up regüle edilir (7,8,47,49).



Şekil 3 : Nitrik oksitin vazodilatasyondaki mekanizması

Fizyolojik koşular altında NO endotel yüzeyinde trombositlerden ve endotel hücrelerinden salınan büyüme faktörlerini inhibe eder; sitokinlerin ve endotel yüzeyine inflamatuvar hücrelerin tutunmasını sağlayan adezyon moleküllerinin ekspresyonununu ve sentezini engelleyerek antiinflamatuvar etki gösterir. Tüm bu etkiler aracığı ile antiaterojenik role sahiptir. Bu ince dengenin hastalık durumlarında değişebileceği belirtilmektedir. Aterosklerozun risk faktörleri arasında bulunan hipertansiyon, hiperkolestrolemi, hiperhomosisteinemi, sigara içimi, diabet gibi durumlarda arter duvarından NO salınımı azalmaktadır. Bu azalma ya yetersiz sentez ya da NO nun vasoinaktif nitrojen oksitlere (nitrit ve nitrat gibi) oksidasyonu

nedeniyledir. NO biyoaktivitesinde azalma lipoprotein oksidasyonuna neden olan vasküler inflamasyonu kolaylaştırarak aterosklerotik plak öncülü olan köpük hücre oluşumuna yol açmaktadır (48,49).

Birkaç saniye biyolojik yarı ömrü olan ve çiftleşmemiş bir elektronu nedeniyle bir serbest radikal olan NO, kanda vasoinaktif ve stabil metaboliti olan olan nitrite okside edilir. Nitrit tam kanda hızla nitrata çevrilir. Bu nedenle kanda NO analizi için NO nun stabil metabolitleri olan nitrit ve nitrat düzeylerinin ölçümünden yararlanılmaktadır (45).

2.4. HOMOSİSTEİN

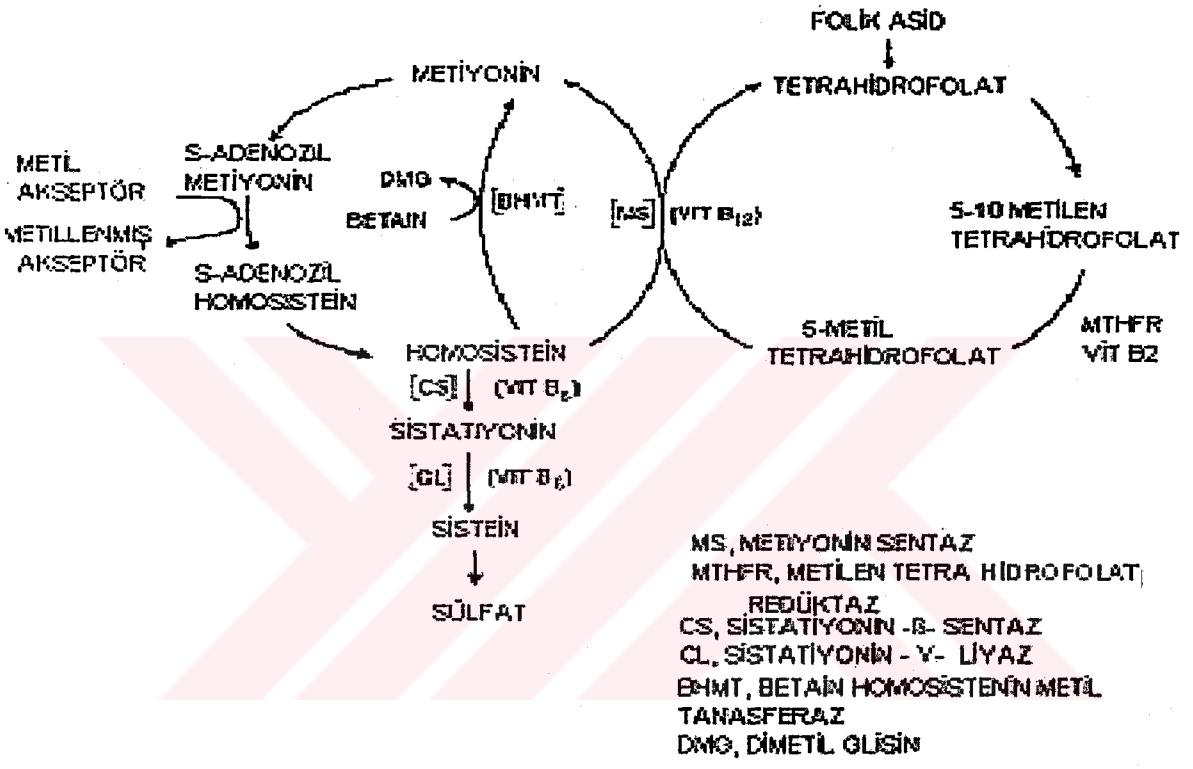
Homosistein (Hcy) metiyonin metabolizması sırasında oluşan sülfür içeren bir amino asittir. Besinlerle alınan metiyoninin ATP yapısındaki adenozil kalıntısı ile oluşturduğu S-adenozil metiyonin (SAM), metillendirme tepkimelerinde en önemli metil vericisi olarak kullanılmaktadır. SAM yapısındaki metil grubunun özel metil transferazlar ile metil grubu alıcılarına taşınmasından sonra oluşan S-adenozil homosistein, adenozin ve homosistein'e hidroliz olmaktadır. Homosistein, N^5-metiltetrahidrofolat (N^5-metil FH 4) veya kolin oksidasyonu ile oluşan betain (trimetilglisin) gibi bileşiklerden metil grubu alarak yeniden metiyonine dönüşebilmektedir (50)(Şekil 4).

Homosistein, vücudun metabolik gereksinimlerine göre başlıca üç yolla metabolize olmaktadır (51).

1. **Transsülfürasyon (sistein sentezi)**: Koenzimi pridoksal fosfat (PLP) olan sistatyonin β sentaz ile katalizlenen bir tepkimede serin ile birleşen homosistein, sistatiyonini oluşturmaktadır. Bir diğer PLP taşıyan enzim olan sistatiyonaz ile sistatiyoninden sistein, α-keto bütirat ve NH_3 elde edilmektedir. Bu iki enzimatik reaksiyon transsülfürasyon olarak bilinmektedir (Şekil 4).

2. **Remetilasyon (metiyonin sentezi):** Metiyoninin yetersiz olduğu durumlarda remetilasyonla homosistein (Hcy) meydana gelir. Remetilasyonda Hcy metiyonin sentaz ile katalizlenen bir reaksiyonda bir metil grubunun Hcy'e eklenmesi ile meydana gelir. B_{12} vitamini (Kobalamin) metiyonin sentezi için esansiyel bir kofaktördür. N^5-metil tetra hidrofolat veya betain, bu reaksiyonda metil vericisidir ve N^5, N^{10} metilen THF redüktaz bu remetilasyon prosesinde bir katalizör olarak fonksiyon görür (Şekil 4).

3. Homosistein hidrolizi: Her iki kükürtlü amino asidin yeterli miktarlarda bulunması halinde sistatiyonaz, homosisteini H_2S, NH_3 ve α-keto bütirata hidroliz eden homosistein desülfidrazın aktivitesini göstermektedir. Sistatiyonazın allosterik bir inhibitörü gibi görev yapan sistein kendi oluşumunu düzenlemektedir (51).



Şekil 4 : Homosistein (Hcy) metabolizması

Plazma Hcy düzey artışı, Hcy metabolizmasında yer alan enzimlerdeki genetik defektler ve/veya bu metabolik yollarda kofaktör olarak görev yapan vitaminlerin diyetsel eksiklikleri nedeniyle meydana gelebilmektedir (50).

Sistatyonin sentaz eksikliği şiddeti hiperhomosisteineminin en yaygın genetik nedenidir. Homozigot genç erişkinlerde başlıca klinik belirtileri iskelet deformiteleri, mental gerilik, tromboembolizm, şiddetli prematüre ateroskleroz ve aterotrombotik komplikasyonlardır (50). Genetik hiperhomosisteineminin diğer nedeni de Hcy nin metiyonine remetilasyonunda B12 vitaminine bağımlı olarak

fonksiyon gören N^5, N^{10} metilen tetra hidrofolat redüktaz enziminin homozigot eksikliğidir (52).

Hcy metabolizmasında yer alan vitamin kofaktörlerin (folat, vitamin B12 ve vitamin B6) diyetsel eksiklikleri hiperhomosisteinemiye neden olabilir (53). Normal insanlarda plazma Hcy konsantrasyonları ile serum vitamin B12, folat, vitamin B6 konsantrasyonları arasında negatif korelasyonlar vardır (54). Sigara içenlerin içmeyenlerden daha düşük B6 vitamin konsantrasyonlarına sahip oldukları gösterilmiştir (55). B kompleks vitamini takviyesi Hcy konsantrasyonlarını normal düzeylere yaklaştırabilir (50).

Plazma Hcy konsantrasyonlarının yüksekliği kreatinin ile birlikte kronik renal hastalıklarda görülebilir. Yüksek Hcy konsantrasyonunun varlığı, renal hastalıkta gözlenen aterosklerozun artışını kısmen açıklayabilir (50).

Hiperhomosisteinemi koroner kalp hastalığı, serebrovasküler hastalık ve periferal vasküler tıkayıcı hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür. Genel populasyonda KKH riskinin %10' nun Hcy den kaynaklandığını gösterilmiştir . Plazma Hcy konsantrasyonundaki 5 µmol/L lik artışın, KKH riskini kolesterol konsantrasyonundaki 20 mg/dL artış kadar etkileyebileceği gösterilmiştir (50,56).

Ateroskleroskleroz-hiperhomosisteinemi ilişkisini temelinde oksidatif hasar yatmaktadır. Bilindiği gibi intra ve ekstraselüler reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ile ortaya çıkan oksidatif stres kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere diğer birçok hastalık patogenezinde rol oynamaktadır. Hcy de bu yolla oksidatif hasarı artırarak endotel disfonksiyonu ve aterosklorosklerozu hızlandırmaktadır.

Homosistein aracılı oksidatif stres ile oluşan hasarı açıklayan başlıca iki mekanizma öne sürülmektedir. Bunlardan birincisinde: Homosisteinin reaktif sülfidril grupları oksijen varlığında disülfitlere okside olur; bu reaksiyonlar sırasında superoksid anyon radikali, hidrojen peroksid gibi reaktif oksijen türleri (ROT) üretilir. Bilindiği gibi, ROT aracılığı ile oluşan okside LDL ateroskleroz gelişiminde merkezi bir role sahiptir. Okside LDL lipid peroksidasyona ve endotel NO biyoaktivitesinin azalmasına neden olur. Sağlıklı kişilerde endotel hücrelerince üretilen NO, Hcy ile birleşek S - nitroso – Hcy oluşturur. S-nitroso-Hcy potent bir trombosit inhibitörü ve vazodilatördür. Hcy nin sülfhidril gruplarının nitrozillenmesi sülfhidril bağımlı hidrojen peroksit üretimini inhibe eder böylece Hcy, NO aracılığı ile detoksifiye edilir. NO nun bu koruyucu etkileri uzun süreli homosisteinemiye maruz kalması ile zayıflar. Ayrıca Hcy ile indüklenen oksidatif hasar intimal yaralanmayı indükleyen

elastazı aktive eder ve matrikste sülfatlanmış glikozaminoglikan birikimine katkıda bulunur. Bu nedenle hiperhomosisteinemi endotel disfonksiyonunu için hazırlayıcı bir nedendir 50).

Oksidatif hasarı açıklayan ikinci mekanizmada homosisteinin reaktif bir ürünü olan Hcy tiolakton sorumlu tutulmaktadır. Folat ve/veya B12 vitamini eksikliğinde metionin sentaz aktivitesi inhibe olduğundan Hcy tiolaktona dönüşür. Hcy tiolaktonun proteinlere olan ilgisi nedeniyle ortaya çıkan protein hasarı ateroskleroza yol açmaktadır. Homosistein tiolakton makrofajlarca alınarak agregatlar oluşturmak üzere LDL ile birleşir; yeni ateromatöz plaklar içindeki köpük hücrelerin içine yerleşir (59). Hücre içine giren Hcy-tiolaktonun mitokondriyal oksidatif fonksiyonunu bozduğu, düz kas hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığını gösterilmiştir (57).

Normal plazma Hcy konsantrasyonları 5-15µmol/L arasındadır. Açlık durumunda hiperhomosisteinemi sınıflandırmasında: ılımlı düzey 15-30 µmol/L; orta düzey 30-100µmol/L; şiddetli 100 µmol/L den büyük değerler ölçüt olarak kullanılmaktadır. Hcy içeren klinik çalışmaların büyük bir çoğunluğu total plazma homosistein (Hcy)'sinin ölçümüne dayanır ve bu Hcy, Hcy tiyolakton, serbest Hcy ve proteine bağlı Hcy 'yi içine alan karışık disülfitleri içerir (50).

2.5. LİPİD PEROKSİDASYONU

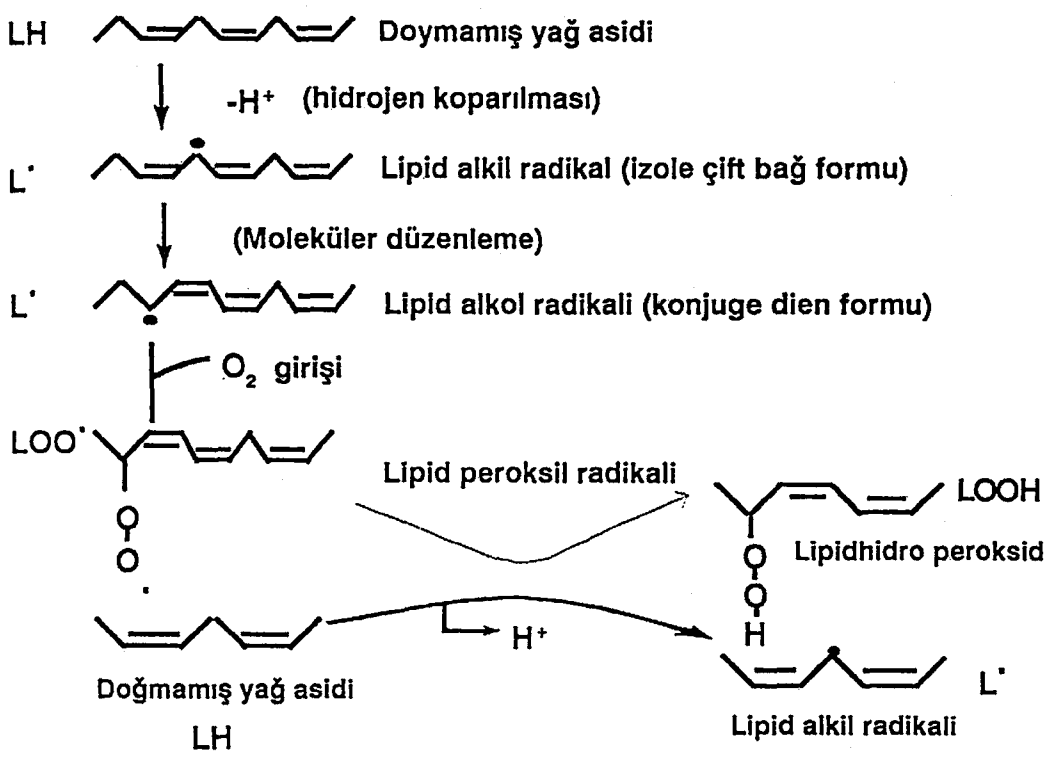
Ateroskleroz gelişiminde önemli bir yeri olan lipid peroksidasyonu sırasında radikal aracılı bir zincir reaksiyon mekanizması şeklinde doymamış yağ asidlerinin yan zincirlerinde yeniden düzenlenme gerçekleşmektedir (60).

Lipid peroksidasyonu üç aşamada gerçekleşmektedir (Şekil 5) :

Başlangıç(initiation)

İlerleme(propagation)

Sonlanma(termination)



Şekil 5: Lipid peroksidsyonunun basamakları (61)

Başlangıç basamağı: Hız kısıtlayıcı olup yeterli reaktivitedeki oksijen kaynaklı bir radikalin bir metilen ($-CH_2-$) grubundaki divinil (allilik) hidrojen atomunu koparması ile gerçekleşmektedir. Yağ asidinde çift bağ varlığı C-H bağını zayıflatarak H^+ atomunun koparılmasını kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle membran lipidlerinin doymamış yağ asidleri yan zincirleri, peroksidasyona özellikle duyarlıdırlar. İlk hidrojen atomunu koparacak reaktivitedeki radikaller, hidroksil(OH), alkoksil ($RO^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$) ve muhtemelen hidroperoksil ($HO^{\cdot}_2$) radikalleri olup, süperoksid anyonu ve hidrojen peroksid bu reaksiyonu başlatamamaktadırlar. Hidrojen atomu tek bir elektron içerdiği için başlangıç reaksiyonu sonunda geride karbon üzerinde eşlenmemiş bir elektron kalmaktadır ($-\dot{C}H-$). Daha önce başlangıç reaksiyonu kavramı daha ileri basamakları kapsamaktaysa da, son görüşler bu aşamanın sadece hidrojen atomunun koparılması reaksiyonu olduğunu kabul etmektedir (61).

İlerleme Basamağı: Karbon merkezli radikal, moleküler bir düzenlemeyle izole çift bağ formundan, konjuge dien formuna geçer. Oluşan lipid alkil radikal'i oksijen ile reaksiyona girerek "lipid peroksil radikalini oluşturur (Şekil 5). Lipid peroksil radikali ise bir başka yağ asidinden hidrojen atomunu koparark lipid

hidroperoksid'i ve yeni bir lipid alkil radikal'ini oluşturarak yeni bir zincir reaksiyonu başlatabilmektedir (61).

Lipid hidroperoksidleri, fizyolojik koşullarda nispeten kararlı moleküller olmakla birlikte geçiş metalleri veya metal komplekslerinin katalizörlüğünde parçalanabilmektedir. İndirgenmiş metal iyonları (Fe^{2+} ve Cu^{+}) lipid hidroperoksidi ile reaksiyona girerek alkoksil radikali (LO')ni,okside metal iyonları ise (Fe^{3+} ve Cu^{2+}) daha yavaş bir reaksiyonla alkoksil ve peroksil (LOO') radikallerini oluşturmaktadır (Reaksiyon 1).

$$LOOH + M^{n+} \longrightarrow LO^{\cdot} + M^{(n+1)+} + OH \qquad [1]$$

Her iki radikalde başka yağ asitlerinden hidrojen atomu koparak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu sürdürürler (63).

Sonlanma basamağı: Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonları iki lipid peroksid radikali etkileşinceye (annihilasyon) kadar sürmekte ve siklik peroksid (LOOL) oluşumu ile sonlanmaktadır (Reaksiyon 2).

$$LO^{\cdot}_2 + LO^{\cdot}_2 \longrightarrow LOOL + O_2 \qquad [2]$$

Lipid peroksidasyonu sırasında, karbon bağlarının kopmasıyla aldehid yapısında yıkılım ürünleri ortaya çıkmaktadır. Bu sitotoksik metabolitler, malondialdehid (MDA) gibi alkanaller, 4 hidroksinoneanal gibi hidroksialkenaller ve alkenallerdir. Tyobarbitürik asid ile reaksiyon veren maddeler (TBARS) i de içeren MDA lipid peroksidasyonunun en duyarlı göstergelerindendir (63).

Lipid peroksidasyonu ortamda doymamış yağ asitleri, oksijen ve metal katalizörler (Fe^{2+} Cu^{+}) bulunduğu sürece logaritmik olarak artarken yeni serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır (60,62).

Lipid radikalleri veya MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığı ile lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı ve fonksiyon hasarları ortaya çıkmaktadır.

Lipid peroksidasyonu sırasında ortaya çıkan ve MDA ile birlikte tiyobarbütirik asid ile reaksiyon veren diğer karboksil grubu içeren yüksek derecede reaktif bileşikler (TBARS) oksidatif stresin bir belirteci olarak kullanılmaktadır.

2.6. ATERSKLEROZ VE KORONER KALP HASTALIĞI

Ateroskleroz nedeniyle oluşan koroner kalp hastalığı dünyada ve ülkemizde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Toplumlardaki ekonomik gelişmeye eşlik eden hazır yiyeceklerin kullanımındaki ve sedanter yaşam biçimindeki artış, artan sigara kullanımı, stres, obezite, diyabet, hiperlipidemi gibi faktörler ateroskleroza zemin hazırlamaktadır (1,2).

Aterom ve ateroskleroz terimleri, Yunanca'da "lapa, kitle, katı" anlamına gelen ve kan damarlarının dejeneratif hastalığını karakterize eden lezyonları tanımlayan "Athere+Oma+Skleroz" sözcüklerinden türetilmiştir (2). Ateroskleroz, arter duvarında lipid birikimi ve bunu izleyen endotel disfonksiyonu sonucunda oluşarak, aterom plakları ile arter lümeninin daralmasına ve myokard hücresinde değişen düzeylerde iskemiye ve sonuç olarak KKH 'a neden olan bir süreçtir (66).

2.6.1. Ateroskleroz Gelişimi

Ateroskleroz oluşumunu açıklamak için güncel model olarak "hasara yanıt hipotezi" kullanılmaktadır. Bu modele göre kan akışının hiperkolesterolemi, hiperglisemi, sigara içimi ve mikrobiyal enfeksiyonlar gibi sistemik faktörlerle eşleşerek arter dallanma noktalarından birinde yaptığı hasar, aterosklerotik lezyonlara kadar giden olaylar dizisini başlatmaktadır (51).

Hasara yanıt hipotezinde, gözlenen morfolojik değişikliklere göre altı evre bulunmaktadır. İlk dört evresi lipid birikiminin olduğu erken evre, son iki evre intimal profilerasyonun ve trombozun gözlendiği geç evre olarak adlandırılmaktadır (Şekil 6) (51). Aterosklerotik plak oluşumunda endotel disfonksiyonu ve endotel aktivasyonun sonuçları etkili olmaktadır.

Başlangıç (Tip 1) evresinde morfolojik bir değişiklik gözlenmeyebilir. Makrofajlar tarafından okside LDL moleküllerinin alınmasıyla köpük hücreleri oluşmaktadır (Şekil 7). Ailesel kardiyovasküler kalp hastalığı olan gençlerde lipid taneleri şeklinde subendotelde biriken köpük hücreleri bulunmaktadır. Endotele bağımlı vazodilatasyonda bozukluk ve endotel disfonksiyonuna bağlı olarak

endotel aktivasyonu başlamaktadır. Tüm bu değişiklikler trombosit agregasyonunu ve damar duvarına lökosit adezyonunu hızlandırmaktadır.

LDL'nin ortamdaki serbest radikallerle okside olmasıyla oluşan aterojenik nitelikteki okside LDL başta olmak üzere endotele tutunan lipitlere yanıt olarak endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücrelerince salgılanan kemotaktik ajanlar (monosit kemotaktik protein-1), sitokinler [makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) veya CSF-1], monosit kemotaksisini, adhezyonu ve makrofajlara diferansiyasyonu güçlendirmekte, lipitler subendotelde birikmektedirler. Morfolojik olarak intakt evre olan yağ çizgileri oluşumu (tip II) evresi aşamasında endotel fonksiyonu bozulmaktadır.

Ara lezyonların oluştuğu tip III evresinde köpük hücreleri ve lipit hücreleri birikimi sürmektedir. Bu arada trombosit kaynaklı sitokinler ile büyüme faktörleri (PDGF, TGF-$ß_1$ gibi) düz kas hücrelerinde proliferasyon ve göçü uyarmaktadır. Aterosklerotik lezyonun intimal tabakası oluşmaya başladığı bu evrede damar duvarlarındaki kompansatuvar dilatasyon sürmektedir.

Lipit birikiminin organize bir şekilde devam ettiği tip IV evresinde lezyon, aterom olarak adlandırılmaktadır. Endotelin intimal tabakasında yerleşen aterom yapısında lipit, proteoglikan, düz kas hücreleri, makrofajlar, daha az oranda T-lenfositler ve mast hücreleri bulunmaktadır. Fibröz bağ dokusu henüz oluşmadığı için aterom mekanik etkilerle parçalanabilmektedir. Ateromu örten endotelde NO salınması bozulduğundan bu evrede fonksiyonel hasar da başlamaktadır. Damar duvarına doğru sürekli bir monosit akımı ve adhezyonu vardır.

Aterom parçalanmayıp sentezlenen kollagen fibröz örtü oluşturmaya devam ederse fibroaterom meydana gelir (Tip V lezyonu). Çoğunlukla intimal düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve fibröz bağ dokusu oluşumu lipid tabakanın kalınlığını arttırarak damar lümeninde daralmaya neden olmaktadır. Bu fibröz plaklar kalsifiye olabilmektedir. Tip V lezyonunun dayanıklılığı lipid tabakaya göre fibröz plağın daha kalın olmasına bağlıdır. Mekanik etkiye veya gerginliğe bağlı olarak fibroateromun parçalanması enzimatik olarak da (kollegenaz, jelatinaz ve elastaz gibi metaloproteinazlar ile) gerçekleşebilmektedir.

Lipit tabakadan fazla miktarda trombojenik materyalin damar lümenine döküldüğü bu evrede komplike tip VI lezyonları oluşarak (hemoraji-hematom ve trombus oluşumu) vasküler lümeni tıkamakta ve akut koroner sendrom ortaya çıkmaktadır.

Tip I (Başlangıç) İzole makrofaj köpük hücreleri

↓

Tip II (Yağ çizgileri) İntrasellüler lipit birikimi

↓

Tip III (Ara küçük) Ekstrasellüler lipit birikintileri

↓

Tip IV (Aterom) Ekstrasellüler lipit çekirdek

↓

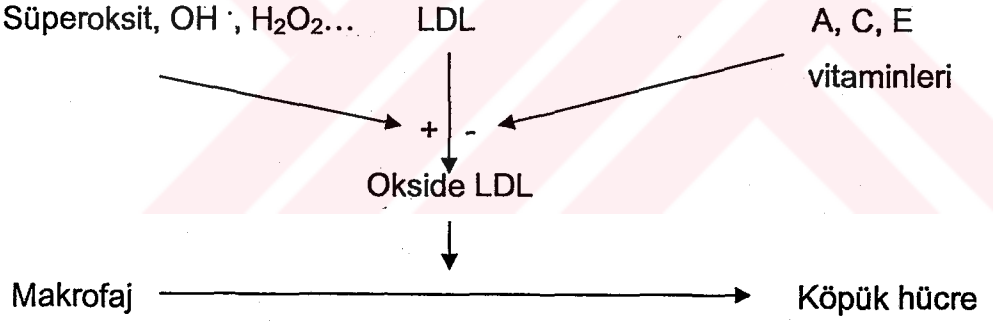
Tip V (Fibroaterom) Düz kas proliferasyonu

↓ Kollagen sentezi

Lipit çekirdeği ve fibröz örtü

Tip VI (Kompleks) Hematom, hemoroji ve trombus oluşumu

Şekil 6 : Ateroskleroz lezyon oluşumu evreleri (51)



Şekil 7 : Okside LDL ile fagositozu sonucu köpük hücrelerin oluşumu (51)

Hasara yanıt hipotezine göre ateroskleroz oluşumunda endotel disfonksiyonu merkezi bir role sahiptir. Endotel disfonsiyonu terimi, endotelin antikoagülan, antiinflamatuvar, vasküler büyüme ve yeniden yapılanmasını düzenleyen mekanizmalarının bozulmasını içine almaktadır. Neden olan etkenler (Tablo 3) de verilmiştir.

Tablo 3 : Endotel disfonksiyonuna neden olan etkenler (51)

Aterosklerotik risk faktörleri
1. Hipertansiyon
2. Sigara
3. Hiperlipidemi
4. Diabetes mellitus
5. Erkek cinsiyet
6. Yaşlanma
7. Ailede erken yaşta ortaya çıkan kalp hastalığı
8. Kronik enfeksiyon hastalıkları
9. Herpes, sitomegalo, solunumsal sinsitiyal virüsleri, C.pnemonia
10. Hipoksi
11. Türbülan akım
12. Oksidanlar
13. Genetik faktörler
14. Lipoprotein (a)
15. Homosistein
16. Ailesel hiperkolesterolemi
18. Hipertrigliseridemi
19. Düşük HDL-kolesterol: < 35 mg/dl
20. Düşük paraoksonaz (PON1) aktivitesi (13,20)
21. Şişmanlık,
22. Stres,
23. Pasif yaşam biçimi,

2.7. EGZERSİZ BİYOKİMYASI

Sportif aktiviteler için kullanılan enerji yolları yapılan aktivitenin tipine, süresine, sıklığına ve kişilerin kondisyon durumuna bağlıdır. Yüz metre koşucularında (sprinter) enerji ihtiyacı temel olarak kaslarda depo halde mevcut olan adenozin trifosfat (ATP) ve kreatin fosfat (CP) gibi yüksek enerjili bileşiklerden (ATP-CP sistemi) sağlanırken, 400 m gibi daha uzun süreli koşuların temel enerjisi

anaerobik glikolizden karşılanmaktadır. Anaerobik enerji sisteminin kullanıldığı fiziksel aktivitelerde temel olarak hızlı kasılan beyaz kas fibrilleri (Tip II fibrilleri) işlev görür. Anaerobik enerji sistemi iki bölümde incelenmektedir (23,67,68):

* **ATP- CP sistemi:** Bu sistemin sağladığı enerji çok kısa süreli olup birkaç saniye devam edebilmektedir ve bu yolda laktik asid oluşmaz. Temel olarak şu tepkimeler gerçekleşir:

$$ATP + H_2O \xrightarrow{ATPaz} ADP + P + Enerji\ (7.6\ kcal.)$$

$$ADP + CP \xrightarrow{Kreatin\ kinaz\ (CK)} ATP + C\ (kreatin)$$

$$ADP + ADP \xrightarrow{Adenil\ kinaz} ATP + AMP$$

* **Glikolitik sistem:** Yapılmakta olan şiddetli egzersiz birkaç saniyeyi aşarsa gerekli enerji glikolitik sistem aracılığı ile üretilir. Bu yolun temel kaynağı kasdaki depo glikojenidir. Glikojen ya da glukozun anaerobik yıkılışı (glikoliz) ile enerji ATP - CP sistemine göre daha yavaş elde edilir, sonunda laktik asid üretilir (68).

Yapılan egzersizin süresi arttıkça aerobik enerji sisteminin katkısı artar (2,3,30). Aerobik egzersizlerde yavaş kasılan kırmızı kas fibrilleri (Tip I fibrilleri) ağırlıklı olarak işlev görürler. Aerobik enerji sisteminin temel yakıtları karbonhidrat ve yağlardır. Glukoz ve palmitik asid örneklerindeki reaksiyonlar aşağıdaki gibidir (23,68):

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O + 38\ ATP\ (net)$$

$$C_{16}H_{32}O_2 + 23O_2 \longrightarrow 16CO_2 + 16\ H_2O + 129\ ATP\ (net)$$

Çalışmamızda incelediğimiz futbol ve jogging tipi egzersizlerde kullanılan enerji hem aerobik hem de anaerobik kaynaklardan (başlıca glikojenden) karşılanır. Futbol sırasında temel olarak anaerobik enerji kullanılırken, jogging sırasında kullanılan enerji başlıca aerobik kaynaklardan (temel olarak yağlardan) sağlanır (23,68).

Jogging tipindeki uzun süreli aerobik egzersizler kasların yağları daha etkili bir şekilde okside etme yeteneğini arttırır (67,68). Bu şekilde glikojen depoları korunur, laktik asit üretimi azalır, böylece yorgunluk gelişimi geciktirilmiş olur. Bu tip egzersizlerin kan HDL kolesterol (özellikle HDL_2-C) düzeylerinin arttırdığı, TG ve LDL kolesterol düzeylerini azalttığı gözlenmiştir. (23,67,69). Ayrıca, bu tip kronik egzersizlerin insülin duyarlılığını arttırdığı saptanmıştır (23,67).

Oksidatif metabolizmada kullanılan oksijenin çoğu oksidatif fosforilasyon sırasında hidrojene bağlanarak H_2O oluşur. Bu sırada mitokondrial elektron transport zincirinde (METZ) de oksijenin parsiyel indirgenmesi ile oluşan serbest radikallerin %1-5 olduğu belirtilmektedir (64). Egzersiz sırasında oksijen tüketimi arttığı için serbest radikal oluşumu ve lipit peroksidasyonu da eş zamanlı olarak artar. Ayrıca egzersizde artan epinefrin ve diğer katekolominler aracılığı ile serbest radikal üretilebilir. Şiddetli ve hipoksik egzersizler sırasında süperoksitten daha zararlı olabilen laktik asit üretimi artar (23,64,65). Akut egzersizin oksidatif strese neden olduğu, hafif ve orta şiddetteki kronik egzersizlerin antioksidan kapasitayi arttırdığı belirtilmektedir (64,65).

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3.0. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. ARAÇ VE GEREÇLER

3.1.1. Cihazlar DÜZELECEK

Cihaz Adı	Marka
Spektrofotometre	Shimadzu UV 160 A (Japan)
Yüksek devirli santrifüj	MLW-T54 (Germany)
Vorteks	Elektromag M-16 (Türkiye)
Otomatik pipetler	Gilson (France)
Benmari	Kotterman (Germany)
Otoanalizör	Hitachi 747 (Japan)
Kan sayım cihazı	Stakes (U.K)
Baskül	TANİTA TBF-551 model Body fat monitör/scale Tanita corparation (japan)
Pulsmetre	Sportester PE 300 (Finland)
Bisiklet ergometresi	Monark (Sweden)
Civalı Sfigmomanometre	Erka (Germany)

3.1.2. Kimyasal Maddeler

Madde Adı	Kimyasal Formül	Katalog No	Marka
N-(1-Naftil) etilendiamin dihidroklorür (NED)	$C_{12}H_{14}N_2$2HCL	22,248-8	Aldrich
Sülfanilamid %99	$C_6H_8N_2O_2S$	S 9251	Sigma
Glisin	$C_2H_5NO_2$	33226	Riedel-Dehaen
Paraoxon (Dietil p-nitrofenil fosfat) % 90	$C_{10}H_{14}N0_6P$	D-9286	Sigma
Fenil asetat % 99	$C_8H_8O_2$	108723-100G	Aldrich
Tris(Hidroksimetil) – HCL	$C_4H_{11}NO_3$. HCl	T 3253	Sigma
Polietilen glikol (Ma:20.000)	$HO(C_2H_4O)_n$ H	S6277-245 T 5500	Merck
Thiobarbütirik asid (TBA),% 98	$C_4H_4N_2O_2S$		Sigma
Kalsiyum klorür % 95	($CaCl_2$)	Art.2385	Merck
1,1,3,3 Tetramethoxypropane %99	$C_7H_{16}0_4$	10,838-3	Sigma
Sodyum klorür saf	(NaCl)	-	Merck
Disodyum hidrojen fosfat % 99	Na_2HPO_4	D-3016-1	Riedel-deHaen
Sodyum dihidrojen fosfat % 99	NaH_2PO_4	180687	Riedel-deHaen
Sodyum nitrit % 99	$NaNO_2$	S 2252	Sigma
Hidroklorik asit %36.5	HCl	H 7020	Sigma
Sodyum hidroksit %97	NaOH	S 0899	Sigma
Kadmiyum granül	Cd	Z 1376	Sigma
Sülfürik asit %98	H_2SO_4	K24519031	Merck
Bakır sülfat	$CuSO_4$	Art.2787	Merck
Çinko sülfat	$ZnSO_4$	Z 0501	Sigma

3.1.3. Analiz Kitleri

Kit adı	Firma
Homosistein	Abbott Diag, ABD
Glukoz	Diasys, Germany
Üre	Diasys, Germany
Total protein	Diasys, Germany
Albumin	Diasys, Germany
Total kolesterol	Diasys, Germany
Trigliserid	Diasys, Germany
AST	Diasys, Germany
ALT	Diasys, Germany
Kontrol serumu	Diasys, Germany
Kalibratör	Diasys, Germany
Abaclear (kan sayım cihazı için deterjan)	Abbott, ABD
Abaton (kan sayım cihazı için izotonik solusyon)	Abbott, ABD

3.1.4. Kullanılan Gereçler

Semimikro fotometrik küvet

EKG kağıdı

Otomatik pipet ucu

Heparinli vakumlu tüp

Antikoagülansız vakutainer tüpü

Ephendorff tüpü

Steril vakumlu tüp iğnesi

K3-EDTA'lı vacutainer tüpü

3.2. ÇALIŞMA GRUPLARININ BELİRLENMESİ

3.2.1. Deneklerin ön seçimi:

Çalışmamıza dahil edilecek kişilerde aranan kriterler:

1. 40-55 yaş arası erkek olması
2. Diabetes mellitus, hipertansiyon, hiperlipidemi, obezite gibi KKH a neden olabilecek bir hastalığı ve/veya diğer kronik hastalıklarının bulunmaması, sağlıklı olması
3. Sigara, alkol alışkanlığı olmaması; lipid ve lipoprotein metabolizmasını etkilediği bilinen herhangi bir ilacı (folik asit, B6, B12 vitaminlerini) ve antioksidanları devamlı olarak kullanmaması
4. Egzersiz grubu için en az beş aydır, iki gün/hafta ve 45 dakika/gün ya aerobik hafif koşu ya da futbol egzersizi yapıyor olması, sedanter grubu için düzenli olarak iki aydır herhangi bir egzersiz yapmamasıdır.

Bu kriterlere uygun kişileri seçmek amacıyla, İzmir Sporcu Sağlık Merkezinde spor yapan ve yapmayan toplam 150 erkeğe çalışmanın amacı, yararı,

yapılacak testler, olası riskleri hakkında bilgi verildi. Yukarıdaki kriterleri sorgulayan formu (Ek 1) doldurmaları istendi ve yazılı onayları (Ek 2) alındı.

Yüz elli kişiden 90 ı en az beş aydır düzenli egzersiz (atletizm, futbol, yürüyüş, jimnastik vb.) yapan, geri kalan 60 ı ise benzer fiziksel özelliklere sahip spor yapmayan (sedanter) kişilerdi. Deneklerin sağlıklı olduğunun belirlenmesi için genel fizik bakı ve EKG ölçümü; fiziksel {boy, vücut ağırlığı (VA), vücut yağ oranı (VYO), vücut kitle indeksi (VKİ)} ve fizyolojik {dinlenik kalp atım hızları (DKAH), diastolik (DKB) ve sistolik (SKB) kan basınçları ve maksimal oksijen kullanım ölçümleri ($MaxVO_2$)}; kan analizleri {hemogram, açlık kan glukozu (AKG), üre nitrojeni (BUN), kreatinin (Kreat), total protein (TP), albumin (Alb), globulin (Glob), total kolesterol (TK) trigliserid (TG), yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K) ve alt grupları HDL_2-K, HDL_3-K, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K), alanin amino transferaz (ALT), aspartat amino trasferaz (AST)} yapıldı.

Tüm ölçümler en az 12 saatlik bir açlığın ardından, sabah 09:00-11:00 arasında gerçekleştirildi. Denekler, bu testlerden bir hafta öncesinden itibaren diyetlerini fazla değiştirmemeleri ve en az üç gün öncesinden itibaren ağır egzersizler yapmamaları konusunda uyarıldılar.

3.2.2. Çalışma Grupları

Yukarıda belirtilen testler ve sağlık kontrolleri sonucunda sağlıklı olduğu belirlenen 60 kişi çalışma gruplarına alındı. Üç çalışma grubu belirlendi:

1. Jogging Grubu (JG) : (n=20) Haftada en az iki gün, günde 45 dakika süren, jogging (hafif şiddette koşu) şeklinde en az beş aydır aerobik egzersiz yapan kişilerden oluştu (67,68).

2.Futbol Grubu (FG) : (n=20) En az beş aydır haftada iki gün antrenör öncülüğünde çim sahada futbol maçı şeklinde ısınma, maç ve soğuma olmak üzere yaklaşık iki saat süre ile egzersiz yapan kişilerden oluştu.

3-Kontrol Grubu (KG): (n=20) Fiziksel olarak egzersiz grubuna benzemekle birlikte çoğunluğu masa başında çalışan sedanterlerden oluştu. Bu gruptaki kişilerin en az iki aydır egzersiz yapmıyor olmaları koşulu istendi (67,68).

Tüm çalışma gruplarındaki kişilere deneklerin ön seçiminde yapılan testlere ek olarak kanda NO, Hcy, bazal PON1, tuzla uyarılmış PON1 (TSPON1), AREST, TBARS analizleri yapıldı. TSPON1/AREST oranı PON1-192 polimorfizm

fenotiplemesinde kullanıldı (33). Denekler, sağlıklı, normotansif ve anemisi olmayan kişilerden seçildi.

Bu çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik ve Laboratuar Araştırmaları Etik Komitesi'nin izni alındı.

3.3. FİZİKSEL VE FİZYOLOJİK ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

3.3.1 Fiziksel ölçüm yöntemleri

1. **Boy ölçümleri**: Ayakkabısız olarak antropometri cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.
2. **Vücut ağırlığı (VA) ve vücut yağ oranı (VYO) :** VA ve VYO (biyoelektrik impedans yöntemine göre) şortla ve ayakkabısız olarak TBF-551 model TANİTA (Japon) cihazı kullanılarak ölçüldü. 40-55 yaş arası erkekler için VYO değerleri %20-22.7 aralığı için non-obez, %23,6-25,6 aralığı için orta düzeyde obez, %26,9-28,7 aralığı için ise ileri düzeyde obez olarak sınıflandırılmıştır (70).
3. **Vücüt kitle indeksi (VKİ):** Her bir deneğin boy ve ağırlığı alınıp aşağıdaki formüle göre hesaplandı (27): VKİ = Ağırlık (kg) / (boy, m)^2. Buna göre "obezite" sınıflaması aşağıdaki şekilde yapılmaktadır: Zayıf, < 20kg/m^2; normal, 20 -25 kg/m^2; orta derecede obez, 30 - 40 kg/m^2; ileri derecede obez, > 40 kg/m^2 (67,70). VKİ>32 olan kişiler çalışmaya alınmamıştır.

3.3.2. Fizyolojik ölçüm yöntemleri

1. **Maksimal oksijen kullanımı ($MaxVO_2$):** Kişinin birim zamanda kullanabildiği maksimal oksijen miktarı olarak tanımlanan ve aerobik kapasitenin bir kriteri olarak kullanılan $MaxVO_2$ ölçümü, kişinin kondisyon düzeyinin belirlenmesi amacıyla yapılmaktadır. Egzersizin şiddeti ile oksijen kullanımı ve kalp atım hızı (KAH) arasında doğrusal bir ilişki vardır. Bu ilişkiden yararlanılarak yalnız yük ve KAH değerleri ölçülerek submaksimal bir efor sonunda indirekt $MaxVO_2$ ölçülebilmektedir. $MaxVO_2$ Astrand ve Rodahl (68) yöntemi ile indirekt olarak bisiklet ergometresinde Astrand nomogramı kullanılarak ölçüldü. Elde edilen değer kişinin kilosuna (kg) bölünerek relatif $MaxVO_2$ (mL/kg/dk) değeri hesaplandı.

2. Kalp atım hızı (KAH) ve kan basıncı: Her denek öncelikle 5 dakika süreyle oturur şekilde dinlendirilerek istirahat nabızları (KAH) 30 sn süre ile belirlendi. Diastolik (DKB) ve sistolik kan basınçları (SKB) istirahat halinde civalı sfigmomanometre ile sağ koldan ölçüldü. Sonuçlar mm Hg olarak verildi. Kan basıncı, 90-140 mm Hg sınırları dışında olan kişiler çalışmaya alınmadı.

3.4. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI

Çalışma gruplarına seçilen deneklerden 12 saatlik gece açlığı sonrasında soğutulmuş EDTA lı ve serum vakutainer tüplerine venöz kan örnekleri alındı. EDTA lı kan örnekleri 2000 g de 10 dk. + 4 °C de santrifüjlenerek hemen plazmaları ayrıldı ve total Hcy, TBARS düzeylerinin analizine kadar - 82°C de saklandı. Düz kan örnekleri 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000 g de 10 dk santrifüjlenerek serumları ayrıldı. Serum örnekleri bazal PON1, tuzla uyarılmış paraoksonaz (TSPON1), AREST aktivite ölçümü ve NO düzey analizi yapılıncaya kadar derin dondurucuda (- 82°C de) saklandı.

3.5. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

3.5.1. Bazal PON1 enzim aktivitesinin belirlenmesi

Yöntemin ilkesi

Serum bazal PON1 enzim aktivite ölçümü Eckerson ve ark.'nın (33) yöntemi esas alınarak gerçekleştirildi. Örnekteki bazal PON1 enzimi, paraokson substratını enzimatik olarak dietil fosfat ve paranitrofenole hidroliz eder. Mevcut bazal PON1 aktivitesi, reaksiyonda hidroliz sonucu oluşan paranitrofenol miktarı ile ilişkilidir. Paraoksonaz aktivitesinin bir ünitesi (U) dakikada oluşan paranitrofenolün mikro mol sayısı olarak kabul edilir. EDTA gibi şelatlayıcı ajanlar PON1 ve AREST aktivitelerini inhibe eder. Kalsiyum ise bu enzimlerin aktiviteleri için gereklidir. **(Tezin daha sonraki bölümlerinde "PON1" kısaltması "bazal PON1" yerine kullanılacaktır.)**

$$\text{Paraoxon} \xrightarrow{\text{PON1}} \text{Dietil fosfat} + \text{p-nitrofenol}$$

Çalışma reaktifi

Bazal PON1 çalışma reaktifi: 50 mmol/L (pH=7.4) tris-HCL tampon içerisinde 1mmol/L paraokson ve 1 mmol/L $CaCl_2$ içerir. Reaktifler günlük olarak hazırlanır.

Analiz tekniği

1. 5 µL serum içeren küvet içine 800 µL çalışma reaktifi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı (25°C). Aynı miktar reaktif içine 5 µL distile su ilave edilerek kör hazırlandı.
2. Reaksiyon sırasında 4 kez birer dakika aralıkla 412 nm' de absorbanslar köre karşı spektrofotometrik olarak ölçüldü. Hesaplamalarda delta aborbans (abs) değeri kullanıldı. Reaksiyon koşullarımızda paranitrofenolün molar absorbsiyon sabiti (MAS) 12800 olarak kullanıldı. Sonuçlar U/L olarak verildi.

PON 1 enzim aktivitesinin hesaplanması

$$K = \frac{TV \times 10^6}{SV \times MAS \times IY} = \frac{0.805 \times 10^6}{0.005 \times 12800 \times 1} = 12\,578.1$$

K:Sabit

TV: Küvetteki total hacim (mL)

10^6 : Mikro molar dönüşüm faktörü

SV: Örnek hacmi (mL)

MAS: Molar absorbsiyon sabiti

IY: küvetin ışık yolu uzunluğu (cm)

PON1 aktivitesi (U/L) = Örneklerin Δ absorbans değeri x K (12578.1)

3.5.2. Tuzla stimüle PON1 aktivitesinin belirlenmesi

Yöntemin ilkesi

Serum stimüle PON1 (TSPON1) aktivite ölçümü Eckerson ve ark.'nın (41) yöntemi esas alınarak gerçekleştildi. TSPON1 aktivitesi, PON1 aktivitesinin ölçümü için kullanılan yöntem kullanılarak benzer reaksiyon koşullarında gerçekleştirildi.

Çalışma reaktifi ve molar absorbsiyon sabiti (MAS; 18290) aşağıda belirtilmiştir. Enzim aktivitesinin hesaplanmasında kullanılan sabit (K=8802.6) olarak hesaplandı.

Çalışma reaktifi

TSPON1 çalışma reaktifi: 50 mmol/L (pH=10.5) glisin tampon içerisinde; 1mmol/L paraokson,1mol/L NaCl ve 1 mmol/L $CaCl_2$ içerir. Reaktifler günlük olarak hazırlanır.

TSPON1 aktivitesi (U/L) = Örneklerin Δ absorbans değeri x K (8802.6)

3.5.3. AREST enzim aktivitesinin belirlenmesi

Yöntemin ilkesi

Serum AREST aktivitesi Eckerson ve ark.'nın (33) kullandıkları yönteme göre gerçekleştirildi. Örnekteki AREST enzimi reaktif karışımındaki fenil asetat substratını fenol ve asetik asid oluşturmak üzere enzimatik kinetik olarak hidroliz eder. Oluşan fenol miktarı AREST aktivitesi ile orantılıdır. AREST enzim aktivitesinin birimi (U), dakikada hidroliz edilen fenil asetatın mikromol sayısı olarak tanımlandı.

$$\text{Fenil Asetat} + H_2O \xrightarrow{\text{AREST}} \text{Fenol} + \text{asetik asit}$$

Çalışma reaktifi

Tris-HCl tamponu (9 mmol/L) (pH=8) içerisinde 0.9 mmol/L kalsiyum klorür ($CaCl_2$) ve 1mmol/L fenil asetat karışımını içerir. Günlük olarak hazırlanır.

Analiz tekniği

1. 5 µL serum içeren küvet içine 3 mL lik çalışma reaktifi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı (25°C). Aynı miktar reaktif içine 5 µL distile su ilave edilerek kör hazırlandı.
2. Reaksiyon sırasında 4 kez birer dakika aralıkla 270 nm'de absorbanslar köre karşı spektrofotometrik olarak ölçüldü. Hesaplamalarda delta aborbans (abs) değeri kullanıldı. Reaksiyon koşullarımız için fenolün molar absorsiyon sabiti (MAS) 1310 olarak kullanıldı. Sonuçlar KU/L olarak verildi.

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

AREST aktivitesinin hesaplanması

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

K: Sabit

TV: Küvetteki total hacim (mL)

10^6 : Mikro molar dönüşüm faktörü

SV: Örnek hacmi (mL)

MAS: Molar absorbsiyon sabiti

IY: küvetin ışık yolu uzunluğu (cm)

AREST aktivitesi, kilo ünite/ L (KU/ L)= Örneklerin Δ absorbans değeri x K (458 800) / 10^3

3.5.4. PON1 – 192 polimorfizminin fenotiplemesi

3.5.4.1.Fenotiplemenin ilkesi

PON1 fenotipleri kantitatif ve kalitatif olarak farklı özellikler gösterirler (41), PON1 e ait iki izoenzimin (Q ve R) tuz ve pH a farklı yanıtlarını temel alarak iki fenotip tanımlanmıştır: Paraokson, Q ve R izoenzimleri için ayırt edici bir substrattır. Tuza yanıt veren R fenotipi paraoksona karşı daha yüksek enzim aktivitesine sahiptir. Paraoksonaz aktivitesi 1M NaCl ile stimüle edildiğinde düşük aktiviteli form (Q) inhibe olur, yüksek aktiviteli form (R) inhibe olmaz aksine aktivitesi maksimum düzeye çıkar. Paraoksonun Q ve R izoenzimleri için ayırt edici bir substrat olmasına karşın fenil asetat ayırt edici bir substrat değildir, her iki izoenzim tarafından benzer hızlarda hidroliz edilir. Bu nedenle, 1M NaCl varlığında ölçülen ve tuzla uyarılmış paraoksanaz aktivitesini veren değerin, fenilasetat ile ölçülen aril esteraz aktivite değerine bölünmesi ile elde edilen oran (TSPON1 / AREST) fenotip tanımlanmasında kullanılır. Serum örneklerinin saklanması ile PON1 aktivitesinin zamanla düştüğü ancak TSPON1 / AREST oranının değişmediği bulunmuştur (33).

3.5.4.2.Fenotiplemenin yapılması

PON1-192 polimofizmi için fenotipleme Eckerson ve ark.'nın (33) kullandığı yönteme göre gerçekleştirildi. TSPON1/AREST aktivite oranlarına SPSS 11.0 programında frekans analizi uygulandı. Bunun sonucunda üç farklı frekans bandı elde edildi. TSPON1/AREST aktivite oranı yapılan frekans analizinde trimodal dağılım göstermiştir. Kısaca bu analiz sonucunda, üç farklı frekans bandı elde edildi .

1. Düşük PON1 aktiviteli homozigot (QQ)
2. Yüksek PON1 aktiviteli heterozigot (QR)
3. En yüksek PON1 aktiviteli homozigot (RR)

Böylece PON1-192 polimorfizmine ait üç fenotip grup elde etmiş olduk.

3.5.5. Nitrik oksit düzeyinin belirlenmesi

Yöntemin ilkesi

Serum NO düzeyleri Najwa ve ark.'nın (72) kullandıkları modifiye bir yönteme göre belirlendi. Yöntem nitrik oksitin temel metaboliti olan nitratın (NO_3), kadmiyum (Cd^{+2}) ile nitrite (NO_2) indirgenmesi sonucunda oluşan nitritin "Griess reaktifi" ile oluşturduğu pembe renkli azo boyasının absorbansının spektrofotometrik olarak belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Bu yöntem ile örnekte var olan nitrit ve nitrattan indirgenerek oluşan nitrit düzeyleri toplam olarak ölçülmüş olur.

Kullanılan reaktifler

1. Kadmiyum granülleri (0.23-0.25 g). Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu için granüller üç kez bidistile su ile yıkanır. Daha sonra Glisin–NaOH tamponu (Ph=7.4) çözeltisi içinde 1-2 dakika çalkalanır ve 3 kez glisin – NaOH tamponu ile yıkanır. Bu durumdaki granüllerin aktivasyonu 10 dakika sonra azalmaktadır. Granüllerin hava ile temasının olmaması gereklidir. Kullanılan granüller su ile çalkalanır ve tekrar kullanılmak üzere sülfürik asid çözeltisi içinde konur.
2. Granüllerin içinde saklandığı 0.1 mol/L H_2SO_4 çözeltisi (28 mL H_2SO_4 500 mL bidistile su içinde).
3. Sülfanilamid çözeltisi: 5 gr sülfanilamid + 500 mL 3 mol/L sıcak HCl (124.5 mL HCl + bidistile su ile 500 mL ye tamamlanır) içinde çözülür.

4. N-Naphtylethylene diamine (NED) çözeltisi: 50 mg NED + 250 mL bidistile su içinde çözülür.
5. %30 luk $ZnSO_4$ çözeltisi: 30 gr $ZnSO_4$ bir miktar suda çözülür sonra total hacim distile su ile 100 mL ye tamamlanır.
6. Standart çözeltisi:500 µmol/L $NaNO_2$ (MA 69.0) (25 ml bidistile su + 0.8265 g $NaNO_2$) hazırlanır. Bu çözeltiden 25 µL alınır ve 25 mL bidistile su eklenir. Bu hazırlanan stok çözeltiden (10,20,40,60,80,100 µmol/L) standart çözeltiler hazırlanır.

Örneklerin deproteinizasyonu

600 µL örnek 100 µL %30 luk $ZnSO_4$ ile karıştırılarak 5-10 dakika bekletildikten sonra 3000 g de 10 dk santrifüjlendi. Süpernatantlar NO analizi için kullanıldı.

Analiz tekniği

a.Nitratın nitrite indirgenmesi

1. Bir mikrosantrüfüj tüpüne 0.23-0.25 g aktive olmuş Cd^{2+} konur.
2. 400 µL supernatant ilave edilir. (Dilüsyon gerekirse bu basamakta yapılabilir)
3. 80 µL glisin–NaOH tamponu ilave edilir.
4. 20 dakika oda sıcaklığında vorteks ile karıştırılır.
5. 7 000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenir, süpernatanlar elde edilir.

b. Griess reaksiyonu

1. Bir test tüpüne 400 µL supernatant konur.
2. 200 µL sülfanilamid çözeltisi eklenir, vorteks ile karıştırılır.
3. 200 µL NED ilave edilerek vorteks ile karıştırılr.
4. 20 dk. oda sıcaklığında bekletildikten sonra 540 nm de absorbans okunur. Oluşan pembe rengin şiddeti NO_2 konsantrasyonu ile ilişkilidir.
5. Sonuçlar standart grafiğinden hesaplanır. Nitrik oksit miktarı µmol/L olarak verilir.

3.5.6. Homosistein düzeyinin belirlenmesi

Plazma Hcy düzeylerinin ölçümü "IMX Homocysteine Reagent Pack" kiti kullanılarak Abbott'un 83-7772/R1 (IMX) model cihazında gerçekleştirildi.

Yöntemin ilkesi ve tekniği

Yöntem flouresans polarizasyon immüno assay (FPIA) tekniğine dayalıdır (73). Örnekteki proteine bağlı ve okside durumdaki Hcy, dithiothreitol (DTT) ile serbest Hcy e indirgenir. Serbet Hcy, S-adenozil Hidrolaz ile enzimatik olarak S-adenozil-L-Hcy e (SAH) dönüştürülür. SAH ve floresans etiketli S-adenozil-L-sistein, monoklonal antikor üzerindeki bağlanma bölgeleri için birbirleri ile yarışırlar. Örnekteki antijen konsantrasyonu fazla ise işaretli antijenin antikora bağlanması azalırken, serum SAH konsantrasyonu düşük olduğunda tersi olur. FPIA optik sistemiyle ölçülen polorize floresans ışığın yoğunluğu, örnekteki total Hcy (SAH) konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Sonuçlar kalibrasyon eğrisinden otomatik olarak hesaplanarak µmol/L olarak verilir.

Kit içeriği

1. DTT reaktifi
2. Sitrik asit içerisinde adenozin reaktifi
3. S-Adenozil-L-Hcy hidrolaz
4. Anti S-adenozil-L-Hcy antikoru (Mouse monoclonal)
5. S-adenozil -L-sistein Floresans tracer
6. Kalibratör (S-adenozil-L-Hcy) (0-50 µmol/L)
7. Düşük (5.25-8.75 µmol/L) orta düzeyde yüksek (10-15 µmol/L) ve yüksek (20-30µmol/L) insan Hcy kontrol serumları.

3.5.7. Tiyobarbütirik asid ile reaksiyona giren maddelerin belirlenmesi

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kullanılan plazma tiyobarbütirik asid ile reaksiyona giren maddelerin (TBARS) ölçümü Ervin ve ark.'nın (74) kullandığı yöntemle gerçekleştirdi.

Yöntemin ilkesi

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

Tiobarbütirik asid (TBA), asidik bir tampon içinde örnek ile ısıtıldığında örnekteki TBA ile reaksiyon veren maddeler pembe renkli bir kompleks oluştururlar. Oluşan rengin şiddeti örnekteki TBARS konsantrasyonu ile ilişkilidir. Oluşan rengin absorbansı 532 nm de ölçülür. Standart ile kıyaslanarak örnekteki TBARS konsantrasyonları belirlendi (75).

Çalışma reaktifi

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

Analiz tekniği

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

3.5.8. HDL-K, HDL_2-K ve HDL_3-K Ölçüm Yöntemleri

HDL ve HDL_3, ün süpernatantları ve kolesterol içerikleri Kostner ve ark.'nın (76) yöntemine göre yapılmıştır. HDL nin üç alt grubundan HDL_1 sağlıklı kişilerde göreceli olarak çok küçük olduğundan hesaplamalarda ihmal edilmektedir.

Yöntemin ilkesi

Örnekteki HDL ve HDL_3 diferansiyel bir presipitasyon işlemi ile süpernatanlara izole edilmektedir. Yöntem, pH ve reaktifin polietilen glikol (PEG 20 000) polimer konsantrasyonları değiştirilerek lipoproteinlerin selektif presipitasyonuna dayanır.

Reaktiflerin hazırlanışı

A reaktifi (HDL) için: Ağırlıkça % 9.5 PEG 20 000 (pH=6.5) çözeltisi kullanıldı. Bunun için 0.1 mol/L Na_2HPO_4 tamponu 0.1 mol/L NaH_2PO_4 tamponu ile pH= 6.5 olacak oranda karıştırıldı. 9.5 g PEG 20000,100 mL lik bu tampon çözeltisi içerisinde çözülerek hazırlandı.

B reaktifi (HDL_3) için: Ağırlıkça % 15 PEG 20 000 (pH=7.5) çözeltisi kullanıldı. 15 g PEG 20000 yukarıda belirtilen şekilde elde edilen ve pH=7.5 olan 100 mL 0.1 mol/L Na-fosfat tamponu içinde çözülerek hazırlandı.

Bu metoda göre A reaktifi serumdaki VLDL ve LDL lipoproteinlerini çöktürmektedir. Tüm ApoB içeren lipoproteinleri (Lp(a) dahil) çöktürdüğü kabul edilmektedir (19).

HDL-K ve HDL_3-K analiz tekniği

HDL için (A), HDL_3 için ise (B) reaktifleri kullanılarak her bir fraksiyonda aşağıdaki işlemler ayrı ayrı gerçekleştirildi. Önce 0.1 mL serum ve 0.2 mL reaktif A veya B, 1.5 mL lik kapaklı plastik Eppendorf tübüne konarak iyice karıştırıldı. Bu karışımlar oda sıcaklığında 10 dk enkübe edildi. Sonra 5000 g de oda sıcaklığında 5 dk santrifüjlendi. Tüm örnekler için berrak, ancak biraz yoğun süpernatanlar elde edildi. Her bir süpernatanın (HDL ve HDL_3) kolesterol içerikleri enzimatik kolorimetrik yöntemle ticari kolesterol kiti (Diasys) kullanılarak otoanalizörde (HITACHİ 747, Japan) gerçekleştirildi. HDL veya HDL_3 süpernatanlarının 0.1 mL si ile kolesterol renk reaktifinden 1.0 ml eklenir ve karışım 37°C'de 5 dk enkübe edilir. Örneğin optik dansiteleri (OD) köre karşı 500 nm'de okunur. Hesaplamalarda dilüsyon faktörü üç alınır.

3.5.9. Denek seçiminde kullanılan rutin biyokimyasal analizler

Hemogram ölçümleri kan sayım cihazı (STAKES) kullanılarak açlık kan glukozu, üre nitrojeni, kreatinin, total protein, albumin, globulin, total kolesterol, trigliserid, alanin amino transferaz, aspartat amino trasferaz analizleri Hitachi 747 otoanalizörü kullanılarak yapıldı. Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K) düzeyleri Friedewald (77) formülüne göre hesaplandı (LDL-K=TK-TG/5-HDL-K) . TG katabolizmasının indirekt bir göstergesi olarak kullanılan TG/HDL-K oranı hesaplandı (21). Total kolesterol değeri, >240 mg/dL, trigliserid değeri, >200 mg/dL olan kişiler çalışmaya dahil edilmediler.

3.5.10. Manuel olarak analiz edilen kan parametrelerinin tekrarlanabilirlik (%CV) değerlerinin belirlenmesi

Serum HDL-K, HDL2-K, HDL3-K, NO düzeyleri, bazal PON1 (PON1), tuzla stimüle PON1(TSPON1), AREST aktiviteleri, plazma Hcy ve TBARS düzeylerinin

ölçümleri manuel olarak ve her bir parametre aynı gün içinde ve aynı analiz seti içinde yapılmıştır. Tekrarlanabilirliğin (varyasyon sabitlerinin, % CV) belirlenmesi için insan serumu ya da plazma havuzları kullanılmıştır (Tablo 4).

Tablo 4 : Manuel olarak analiz edilen kan parametrelerinin tekrarlanabilirlik (%CV) değerleri

Parametreler	Deney içi % CV
HDL-K (Ort.45.2 mg/dL, n=10),	% 3.5
HDL_3-K (Ort. 30.3 mg/dl, n=10),	% 4,3.
PON1 (Ort. 98.3 U/L, n=10)	% 2,6
TSPON1(Ort.279.5 U/L, n=10)	%1,5
AREST (Ort.104.8 KU/L, n=10)	% 3.5
NO (Ort.48.1 µmol/L, n=10)	% 4.3
TBARS (Ort.8.5 µmol/L, n=10)	% 5,2

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Tüm istatistiksel analizler "SPSS11.0" paket istatistik programıyla yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıkların analizi için, önce "ANOVA" nın iki yönlü varyans analizi kullanıldı. Farklılığın çıkması halinde, dağılım homojen ise iki grup arasındaki anlamlılığın belirlenmesi için (n<40 ise) non parametrik "Mann-Whitney U testi" kullanıldı. n<40 için 2 grupdan fazla olan karşılaştırmalar "Kruskal-Wallis H Testi" ile yapıldı. Total denekler (n=60), sporcular (n=40) ve kontrol grubu (n=20) için yapılan fenotiplemelerde üçlü gruplar oluştuğu ve gruplardaki denek sayısı yine 40 dan küçük olduğu için her bir fenotipleme kendi içlerinde üçlü fenotip gruplar halinde ayrı ayrı olarak "Kruskal-Wallis H Testi" ile karşılaştırıldı. Egzersiz ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırmalar ise ayrı altılı bir grup yapılarak aynı testle yapıldı. Korelasyon analizleri (n<40) "Spearman Srho"a göre nonparametrelik olarak, (n>40) ise parametrik olarak "Pearson" ile yapıldı. Farklılık ve korelasyon analizlerinde p değerleri olarak (Two-Tailed) şekli kullanıldı. Anlamlılık için $p < 0.05$ düzeyi temel alındı.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4.0. BULGULAR

4.1. SAĞLIKLI DENEKLERİN BELİRLENMESİNDE YARARLANILAN PARAMETRELERE İLİŞKİN BULGULAR

Tüm deneklerin yapılan fiziksel ve fizyolojik ölçümleri ve diğer kan rutin biyokimyasal parametrelerin ortalama değerleri referans aralıkları içinde bulundu. Bu sonuçlar çalışmaya dahil edilen popülasyonun nonobez, normotansif ve normolipidemik olduğunu ve anemik olmadığını gösterir (Tablo 5, Tablo 6).

Tablo 5 : Deneklerin fiziksel ve fizyolojik ölçüm değerleri (Ort ± SD)

Fiziksel ve fizyolojik parametreler (n=60)	**(Ort. ± SD)**	**Denekleri belirlemede kullanılan kriterler**
YAŞ (yıl)	45,2 ± 4,7	40-55
BOY (cm)	172,6 ± 7,2	-
VA (Vücut ağırlığı) (Kg)	80,2 ± 9,0	-
VKİ, (Vücut kitle indeksi) (kg/m^2)	26,9 ± 2,8	<32
VYO (Vücut yağ oranı) (%)	23,4 ± 4,9	<35
SPYAŞ (Spor yaşı) (yıl)	9,4 ± 11,4	> 5 ay
MaxVO_2 (Maksimal oksijen kullanımı) (mL/kg/dk)	29,1 ± 7,6	-
HTES (Haftalık toplam egzersiz miktarı) (saat)	2,56 ± 1,98	>1,5
DKAH (Dinlenik kalp atım hızı) (vurum sayısı / dk)	70,0 ± 8,2	60-100
SKB (Sistolik kan basıncı) (mmHg)	121,7 ± 11,0	<14
DKB (Diastolik kan basıncı) (mmHg)	81,2 ± 8,5	<9

Tablo 6: Deneklerin hemogram ve biyokimyasal değerleri (Ort ± SD)

GRUPLAR	KKH milyon/mm^3	Hct %	MCV fL	Hb g/Dl	AKG mg/dL	BUN mg/dL	Kreatinin mg/dL	Total protein g/dL	Albumin g/dL	Globulin g/dL	ALT U/L	AST U/L
Total (n=60)	5,035±0,39	44,2±2,7	87,6±3,8	15,3±1,0	90,0±5,6	11,0±2,8	1,07±0,11	7,3±0,4	4,83±0,21	2,51±0,32	23,0±7,7	20,3±5,4
KG (n=20)	5,17±0,31	45,0±2,6	86,9±3,7	15,6±0,8	87,9±5,4	10,5±3,1	1,05±0,10	7,4±0,4	4,86±0,15	2,56±0,37	23,1±9,3	18,7±5,3
FG (n=20)	4,98±0,34	43,7±2,5	87,9±3,8	15,4±0,8	90,1±5,0	10,7±2,0	1,10±0,12	7,2±0,4	4,81±0,24	2,41±0,26	22,5±7,2	20,0±5,3
JG (n=20)	4,95±0,48	43,7±2,9	88,1±4,1	15,1±1,2	92,0±5,8	11,8±3,3	1,07±0,12	7,4±0,4	4,83±0,23	2,55±0,30	23,3±6,6	22,3±5,2
Referans aralığı	4.50-6.00	40-54	80-94	14-18	70-110	6-20	0,8-1,3	6-8,4	4,9-5,1	1,5-3,5	<42	<37

KKH: Kırmızı kan hücresi (eritrosit), **Hct:** Hematokrit, **MCV:** Ortalama eritrosit hacmi, **Hb:** Hemoglobin,
AKG: Açlık kan glukozu, **BUN:** Kan üre nitrojeni, **ALT:** Alanin amino transferaz **AST:** Aspartat aminotransferaz

4.2. EGZERSİZ VE KONTROL GRUPLARININ FİZİKSEL VE FİZYOLOJİK ÖLÇÜMLERİNE İLİŞKİN BULGULAR

Futbol, jogging ve kontrol grupları arasında fiziksel ölçümler; yaş, boy vücut ağırlığı (VA), vücut kitle indeksi (VKİ), vücut yağ oranı (VYO) ve haftalık egzersiz süresi (HTES)(Bu parametre için kontrol grubu hariç) açısından anlamlı fark bulunamadı (Tablo 7).

Tablo 7: Egzersiz ve kontrol gruplarının fiziksel ölçümlerinin karşılaştırılması (Ort ± SD)

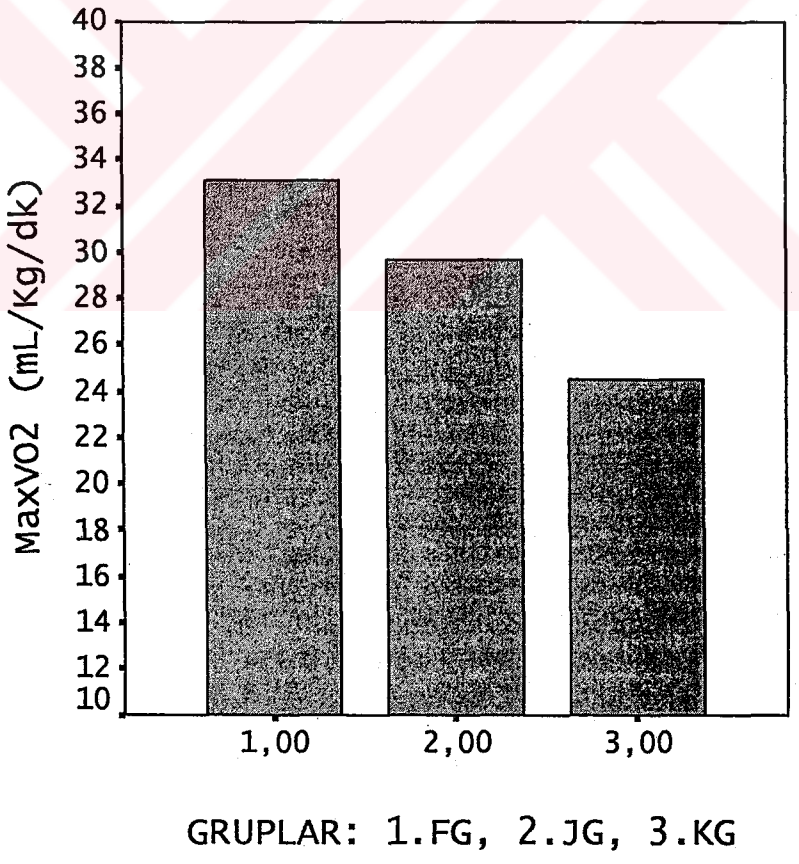
GRUPLAR	YAŞ (yıl)	BOY (cm)	VA (kg)	VKİ (kg/m^2)	VYO (%)	HTES (saat)
KG (n=20)	44,6±4,3	170,7±7,9	78,6±10,6	27,0±3,1	24,8±5,8	0
FG (n=20)	44,1±4,6	173,6±6,2	81,1±9,6	26,9±2,9	22,7±4,7	3,95±0,39
JG (n=20)	47,0±4,8	173,6±7,2	80,9±6,4	26,9±2,7	22,6±4,2	3,73±1,27

Futbol ve jogging gruplarının $MaxVO_2$ değerleri kontrol grubunun değerinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0,01$). Dinlenik kalp atım hızı (DKAH), sistolik kan basıncı (SKB), diastolik kan basıncı (DKB) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Her iki egzersiz grubu arasında $MaxVO_2$ değerleri açısından anlamlı fark yoktu (Tablo 8)(Grafik 1).

Tablo 8: Egzersiz ve kontrol gruplarının fizyolojik ölçümlerinin karşılaştırılması (Ort ± SD)

GRUPLAR	$MaxVO_2$ (mL/kg/dk)	DKAH (vurum/dk)	SKB (mmHg)	DKB (mmHg)
KG (n=20)	24,5±6,9	73,0±7,9	119,3±9,5	79,2±7,8
FG (n=20)	33,2±6,1 [a]	70,7±7,9	121,0±9,1	81,5±10,4
JG (n=20)	29,7±7,3 [a]	66,4±7,7	124,8±13,7	82,8±7,0

a: p<0,01 kontrol grubuna göre



Grafik 1: Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının maksimal oksijen kullanımının karşılaştırılması

4.3. EGZERSİZ VE KONTROL GRUPLARININ KKH KLASİK RİSK FAKTÖRLERİNE İLİŞKİN BULGULARI

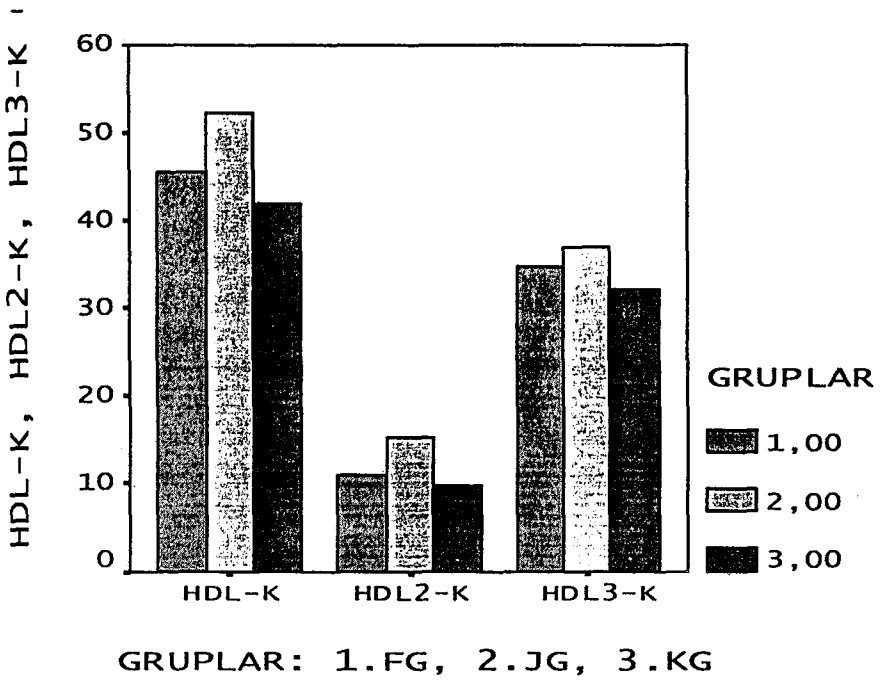
Kontrol grubu (KG) ile karşılaştırıldığında, Futbol (FG) ve jogging (JG) gruplarının serum HDL-K ($p<0.01$, $p<0.01$), HDL_2-K ($p<0.05$, $p<0.01$), HDL_3-K ($p<0.05$) değerleri anlamlı olarak daha büyük bulundu. Trigliserid katabolizmasının bir göstergesi olarak kullanılan TG/HDL-K oranı ise futbol ve jogging gruplarında, kontrol grubundan daha küçüktü ($p<0.01$, $p<0.01$). Jogging grubuna ait trigliserid düzeyleri KG nin değerinden anlamlı olarak daha küçüktü ($p<0.05$). Jogging grubunun serum HDL-K ve HDL_2-K değerleri futbol grubunun değerlerinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0.05$) (Tablo 9) (Grafik 2) (Grafik 3) (Grafik 4).

Tablo 9: Egzersiz ve kontrol gruplarının KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırılması (Ort ±.SD)

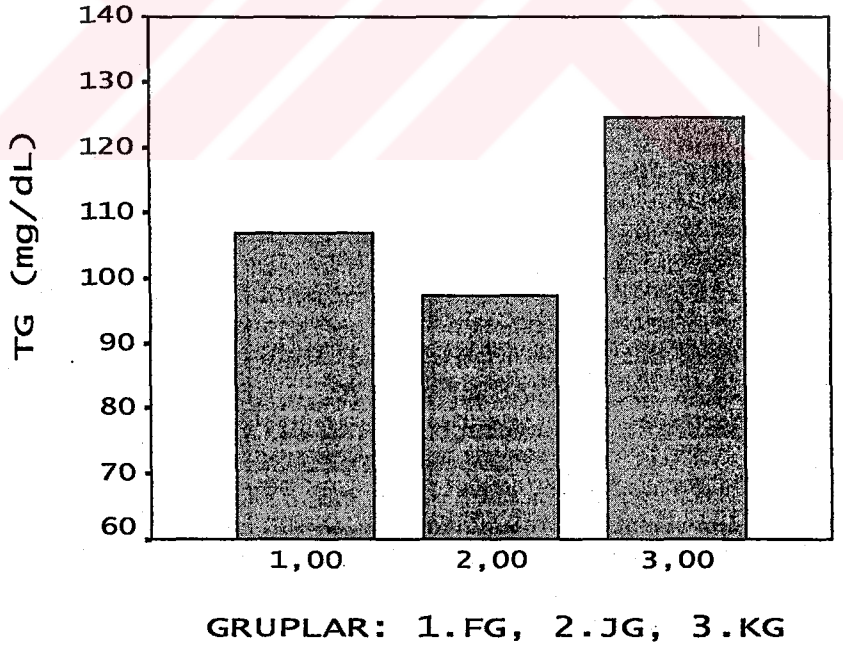
GRUPLAR	TK (mg/dL)	LDL-K (mg/dL)	HDL-K (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL_2-K (mg/dL)	HDL_3-K (mg/dL)	TG / HDL-K
KG (n=20)	196,2±26,6	128,7±23,6	42,0±8,3	124,8±41,1	9,9±4,5	32,1±6,4	2,20±0,87
FG (n=20)	198,7±21,9	131,7±21,7	45,6±7,4 [a]	107,1±25,8	11,0±4,6 [a]	34,7±5,0 [a]	3,14±1,22 [a]
JG (n=20)	194,2±27,1	122,6±26,6	52,2±9,8 [a,b]	97,3±38,6 [a]	15,3±6,9 [a,b]	36,9±5,8 [a]	2,41±0,72 [a]

a: $p<0,05$ KG grubuna göre

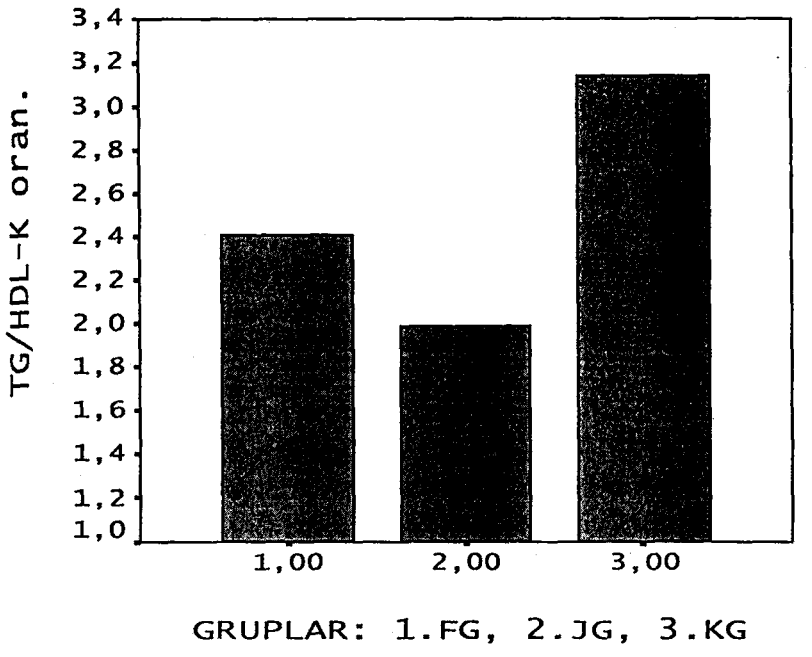
b: $p<0,05$ FG grubuna göre



Grafik 2 : Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının HDL-K, HDL_2-K ve HDL_3-K düzeylerinin karşılaştırılması



Grafik 3 : Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının TG değerlerinin karşılaştırılması



Grafik 4: Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının TG/HDL-K oranının karşılaştırılması

4.4. EGZERSİZ VE KONTROL GRUPLARININ BAZAL PARAOKSANAZ (PON1) VE TUZLA STİMÜLE PARAOKSONAZ (TSPON1), ARİL ESTERAZ (AREST) ENZİM AKTİVİTELERİ VE TSPON1/AREST ORANINA İLİŞKİN BULGULAR

Futbol, jogging ve kontrol grupları arasında serum PON1, TSPON1, AREST aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranı açısından anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 10).

Tablo 10 : Egzersiz ve kontrol gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması (Ort.+SD)

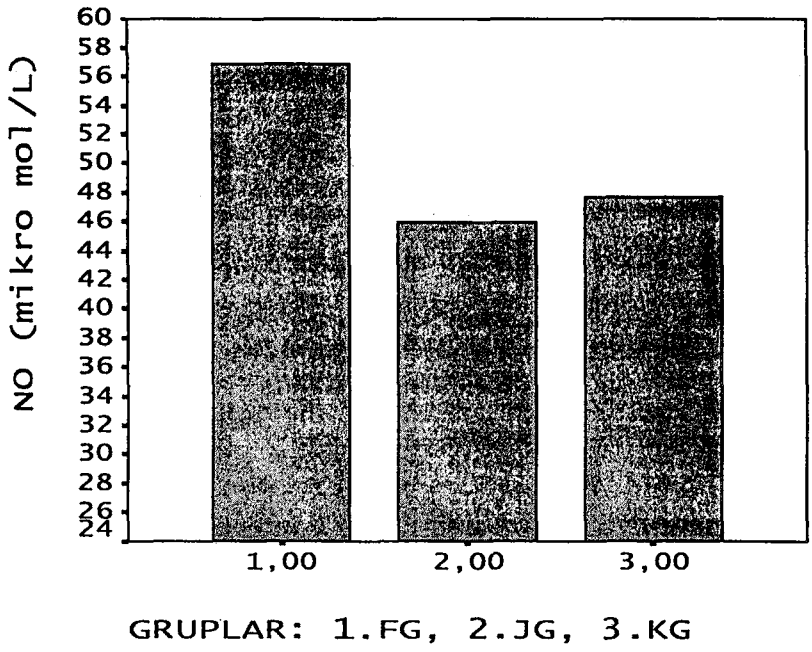
GRUPLAR	PON1 (U/L)	TSPON1 (U/L)	AREST (KU/L)	TSPON1/ AREST
KG (n=20)	108,2±65,6	327,9±205,8	80,8±26,6	4,24±2,50
FG (n=20)	84,3±58,3	287,4±200,6	81,6±26,3	3,46±2,08
JG (n=20)	87,4±59,5	268,0±195,2	82,3±25,1	3,49±2,55

4.5. EGZERSİZ VE KONTROL GRUPLARININ NİTRİK OKSİT (NO), HOMOSİSTEİN (Hcy) VE TİYOBARBÜTİRİK ASİD İLE REAKSİYONA GİREN MADDELER (TBARS) DÜZEYLERİNE İLİŞKİN BULGULAR

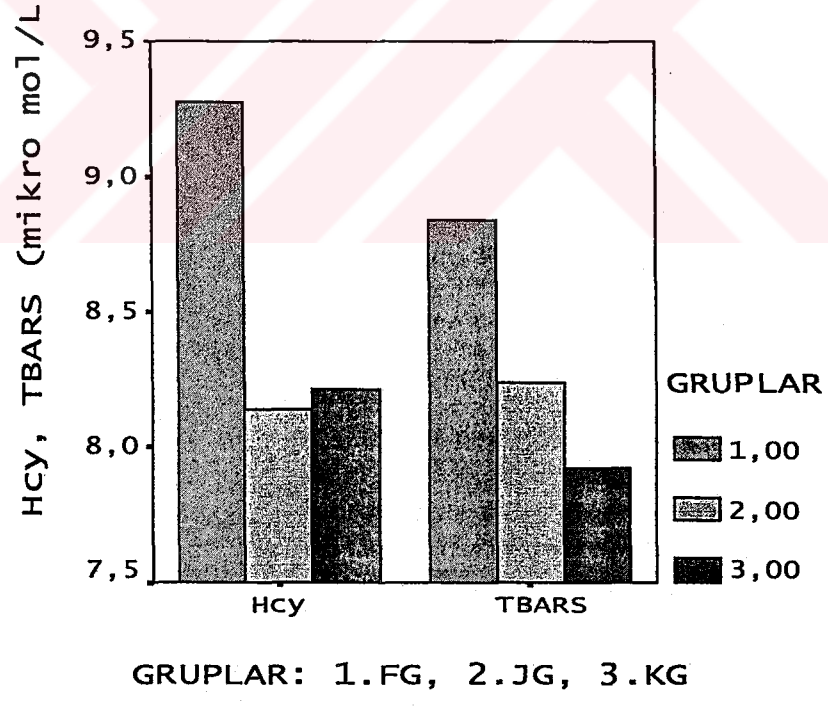
İncelenen gruplar arasında kan NO, Hcy ve TBARS düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunamadı. Ancak futbol grubu, kontrol ve jogging grupları ile karşılaştırıldığında, Hcy düzeyleri sırasıyla %11.4, %12.3; NO düzeyleri %16.2, %19.2 daha büyük olarak bulundu. Futbol grubu TBARS değeri kontrol grubu değerinden %10.4 daha büyük olarak belirlendi (Tablo 11) (Grafik 5) (Grafik 6).

Tablo 11: Egzersiz ve kontrol gruplarının homosistein, nitrik oksit ve TBARS düzeylerinin karşılaştırılması (Ort.+SD)

GRUPLAR	NO (µmol/L)	Hcy (µmol/L)	TBARS (µmol/L)
KG (n=20)	47,7±19,5	8,22±3,28	7,92±2,50
FG (n=20)	56,9±21,7	9,28±5,41	8,84±2,56
JG (n=20)	46,0±16,5	8,14±1,92	8,24±2,71



Grafik 5 : Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının nitrik oksit değerinin karşılaştırılması



Grafik 6 : Egzersiz (FG ve JG) ve kontrol (KG) gruplarının homosistein (Hcy) ve TBARS değerlerinin karşılaştırılması

4.6. PON1-192 POLİMORFİZM FENOTİPLEMESİNİN OLUŞTURULMASINA İLİŞKİN BULGULAR

1. Total grup (n=60)
2. Egzersiz grubu (n=40)
3. Kontrol grubu (n=20)

PON1-192 polimorfizmi fenotiplemesi Eckerson ve ark.(33)'nın kullandığı yönteme göre TSPON1/AREST aktivite oranlarına SPSS 11.0 programında frekans analizi uygulanarak gerçekleştirildi. Bunun sonucunda üç farklı frekans bandı elde edildi (Tablo 12)(Grafik 7).

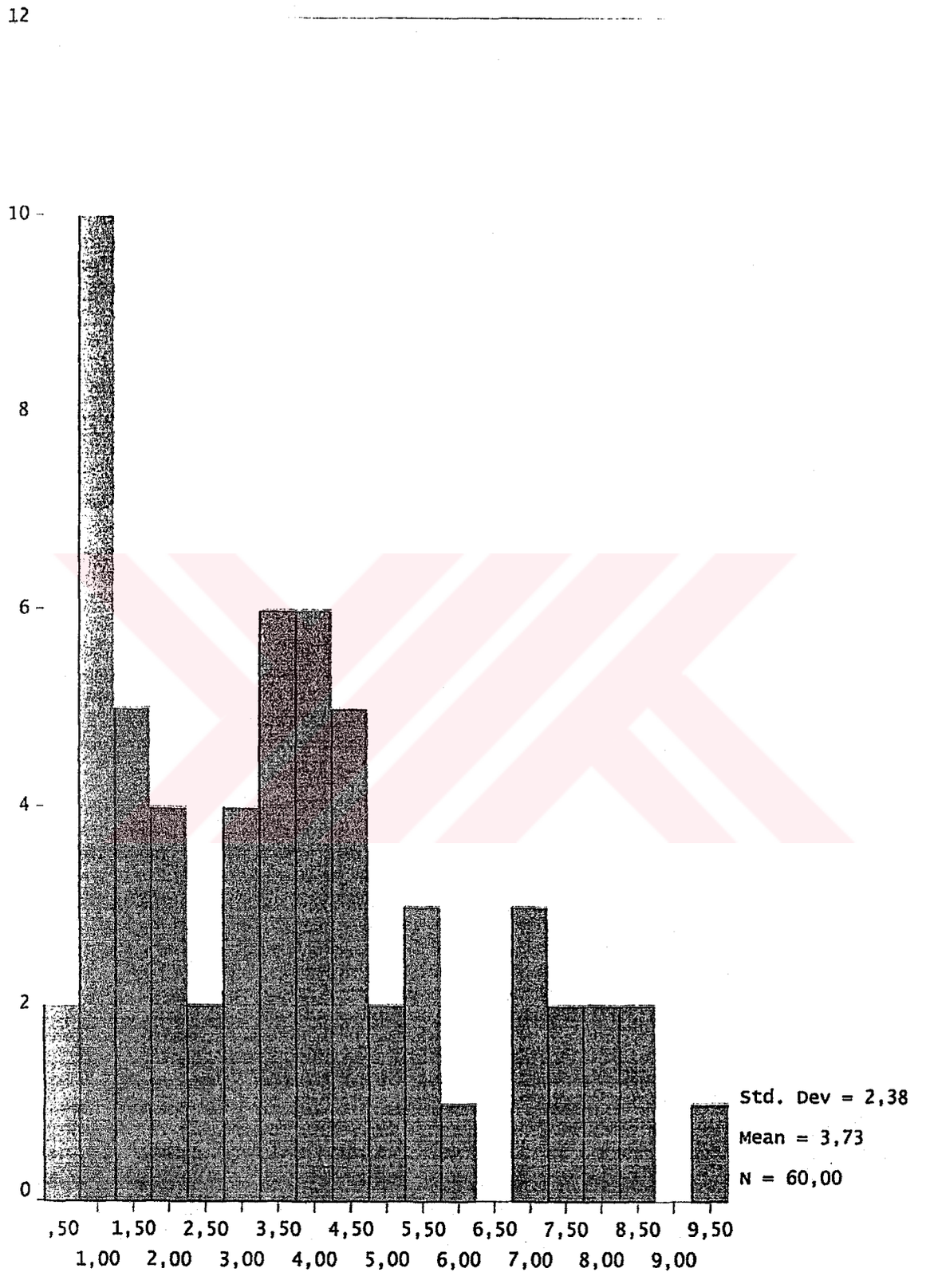
1. Düşük PON1 aktiviteli homozigot (QQ)
2. Yüksek PON1 aktiviteli heterozigot (QR)
3. En yüksek PON1 aktiviteli homozigot (RR)

Total denekler, egzersiz ve kontrol gruplarında uyguladığımız fenotiplemenin frekans analizinde, TSPON1/AREST oranı 2,5 ve altında olanlar QQ; 2,6-6,5 arasındakiler QR; 6,5 dan büyük olanlar ise RR fenotipine dahil edildiler. Ayrıca literatürdeki çalışmalarla karşılaştırabilmek için QR ve RR grupları birleştirilerek R taşıyıcıları (QR+RR) (%65) (RT) isminde bir grup oluşturulmuştur. Total gruba ait **"total fenotip grupları"nda** QQ fenotipi "TQQ" (n=21, %35), QR fenotipi "TQR" (n=29, %48,4) RR fenotipi "TQR" (n=10, %16.6) ve total taşıyıcı grubu "TRT" (n=39, %65); egzersiz grubuna ait **"egzersiz fenotip grupları"**, QQ fenotipi "EQQ" (n=17, %42,5), QR fenotipi "EQR" (n=18, %45), RR fenotipi "ERR" (n=5, %12,5) ve egzersiz taşıyıcı grubu "ERT" (n=23, %57,5); kontrol grubuna ait **"kontrol fenotip grupları"**, QQ fenotipi "KQQ" (n=4, %20), QR fenotipi "KQR" (n=11, %55), RR fenotipi "KRR" (n=5, %25) ve kontrol taşıyıcı grubu "KRT" (n=16, %80) olarak belirlendi. Tüm deneklerde Q allelinin frekansı (p=0.592), R allelinin frekansı (q=0.408) olarak hesaplandı. Bu analiz sonucunda elde edilen QQ ve RR homozigotlerının frekans değerlerinin 'Mendelian kuralına' göre "Hardy-Weinberg eşitliği" { QQ frekans değeri (p) + RR frekans değeri (q) }^{2} =1 olarak verilen eşitliği sağlaması şartı aranmaktadır (71). Çalışmamızda total fenotiplemede belirlemiş olduğumuz p ve q frekans değerleri 'Hardy-Weinberg eşitliğini $(p+q)^2 = 1$) sağlamıştır.

Tablo 12 : Total grubun fenotip frekans dağılımı

Total grup (n)	Total Fenotip grupları	TSPON1 /AREST	Frekans	Yüzde oranı	Kümülatif yüzde oranı
1,2	TQQ	,64	2	3,3	3,3
3	TQQ	,82	1	1,7	5,0
4	TQQ	,87	1	1,7	6,7
5	TQQ	,88	1	1,7	8,3
6	TQQ	1,03	1	1,7	10,0
7	TQQ	1,09	1	1,7	11,7
8	TQQ	1,11	1	1,7	13,3
9	TQQ	1,15	1	1,7	15,0
10	TQQ	1,21	1	1,7	16,7
11	TQQ	1,23	1	1,7	18,3
12	TQQ	1,24	1	1,7	20,0
13	TQQ	1,28	1	1,7	21,7
14	TQQ	1,39	1	1,7	23,3
15	TQQ	1,57	1	1,7	25,0
16	TQQ	1,72	1	1,7	26,7
17	TQQ	1,73	1	1,7	28,3
18	TQQ	1,92	1	1,7	30,0
19	TQQ	1,95	1	1,7	31,7
20	TQQ	2,01	1	1,7	33,3
21	TQQ	2,04	1	1,7	35,0
22	TQR	2,71	1	1,7	36,7
23	TQR	2,74	1	1,7	38,3
24	TQR	2,78	1	1,7	40,0
25	TQR	3,05	1	1,7	41,7
26	TQR	3,11	1	1,7	43,3
27	TQR	3,20	1	1,7	45,0
28	TQR	3,29	1	1,7	46,7
29	TQR	3,48	1	1,7	48,3

30	TQR	3,52	1	1,7	50,0
31	TQR	3,55	1	1,7	51,7
32	TQR	3,57	1	1,7	53,3
33	TQR	3,62	1	1,7	55,0
34	TQR	3,87	1	1,7	56,7
35	TQR	3,93	1	1,7	58,3
36	TQR	3,95	1	1,7	60,0
37	TQR	4,02	1	1,7	61,7
38	TQR	4,06	1	1,7	63,3
39	TQR	4,08	1	1,7	65,0
40	TQR	4,26	1	1,7	66,7
41	TQR	4,35	1	1,7	68,3
42	TQR	4,37	1	1,7	70,0
43	TQR	4,40	1	1,7	71,7
44	TQR	4,62	1	1,7	73,3
45	TQR	4,90	1	1,7	75,0
46	TQR	5,05	1	1,7	76,7
47	TQR	5,34	1	1,7	78,3
48	TQR	5,50	1	1,7	80,0
49	TQR	5,73	1	1,7	81,7
50	TQR	6,19	1	1,7	83,3
51	TRR	6,95	1	1,7	85,0
52	TRR	7,21	1	1,7	86,7
53	TRR	7,23	1	1,7	88,3
54	TRR	7,60	1	1,7	90,0
55	TRR	7,71	1	1,7	91,7
56	TRR	7,76	1	1,7	93,3
57	TRR	8,09	1	1,7	95,0
58	TRR	8,53	1	1,7	96,7
59	TRR	8,58	1	1,7	98,3
60	TRR	9,42	1	1,7	100,0
			60	100,0	



Grafik 7: Total fenotip grubun TSPON1/AREST oranı frekans histogramı

4.6.1 PON1-192 polimorfizm fenotiplemesi esas alınarak oluşturulan gruplara ilişkin bulgular

4.6.1.1 Total fenotip gruplarına ait bulgular

4.6.1.1.1. Fiziksel ölçüm bulguları

Tüm denekler (total) grubuna ait fenotiplemede, TRR, TQR ve R taşıyıcı grubu olan TRT (QR+RR) fenotip gruplarının fiziksel parametreleri arasında anlamlı fark bulunmadı (Tablo 13).

Tablo13 : Total fenotip gruplarına ait fiziksel ölçümlerin karşılaştırılması (Ort. ±SD)

GRUPLAR	YAŞ (yıl)	BOY (cm)	VA (kg)	VKİ (kg/m^2)	VYO (%)	HTES (saat)
TQQ (n=21)	44,9±3,9	171,1±8,2	80,9±8,3	27,7±2,7	23,9±4,0	3,33±1,85
TQR (n=29)	44,8±4,9	173,6±6,4	78,9±9,4	26,2±2,8	22,6±5,5	2,28±1,94
TRR (n=10)	47,0±5,5	172,9±7,1	82,5±9,2	27,6±2,6	24,6±5,2	1,75±1,96
TRT (n=39)	45,3±5,1	173,49±6,5	79,8±9,4	26.5±2,82	23,1±5,4	2,14 ± 1,94

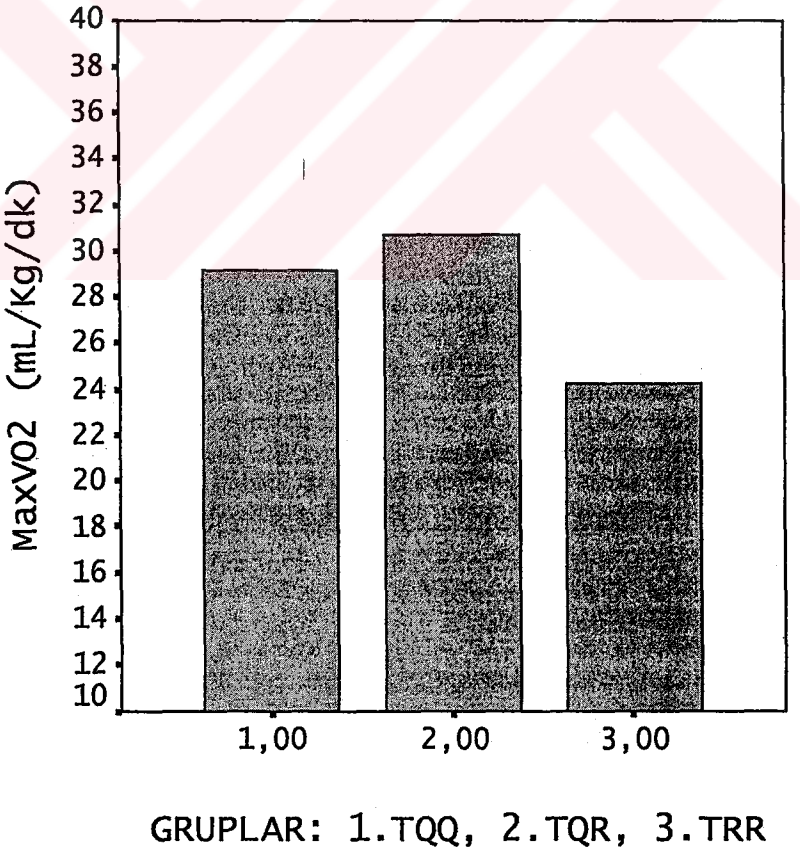
4.6.1.1.2. Fizyolojik ölçüm bulguları

TQQ ve TQR nin $MaxVO_2$ değerleri TRR nin değerinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0.05$). TQQ ve TRT arasında ise anlamlı bir fark bulunamadı. Diğer fizyolojik parametreler açısından gruplar arasında anlamlı bir fark belirlenmedi (Tablo 14) (Grafik 8).

Tablo 14: Total fenotip grupların fizyolojik ölçümlerinin karşılaştırılması (Ort.±SD)

GRUPLAR	$MaxVO_2$ mL/kg/dk	DKAH Atım/dk	SKB mm Hg	DKB mm Hg
TQQ (n=21)	29,2±5,4 [a]	67,3±7,4	120,5±10,7	81,9±9,3
TQR (n=29)	30,7±9,1 [a]	70,8±8,4	123,4±9,6	82,1±7,9
TRR (n=10)	24,3±4,07	73,6±8,0	119,0±15,2	77,0±8,2
TRT (n=39)	29,1±8,6	71,5±8,3	122,3±11,28	80,7±8,2

a: < 0.05 TRR grubuna göre



Grafik 8 : Total fenotip gruplarının (TQQ, TQR ve TRR) maksimal oksijen kullanımının karşılaştırılması

4.6.1.1.3. Paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin bulgular

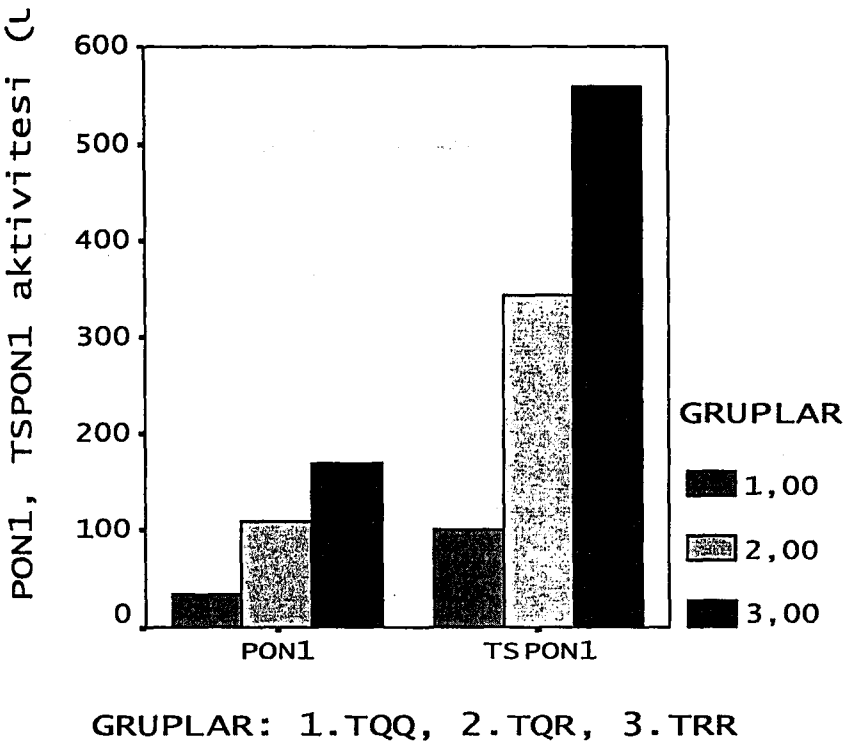
TRR fenotip grubuna ait PON1, TSPON1 enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranı TQR ve TQQ fenotip gruplarının değerlerinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0.01$). TQR ve TRT gruplarının aynı parametreleri TQQ grubunun değerlerinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p<0.01$) (Tablo 15) (Grafik 9) (Grafik 10) (Grafik 11) (Grafik 12).

Tablo 15 : Total fenotip gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması (Ort.+SD)

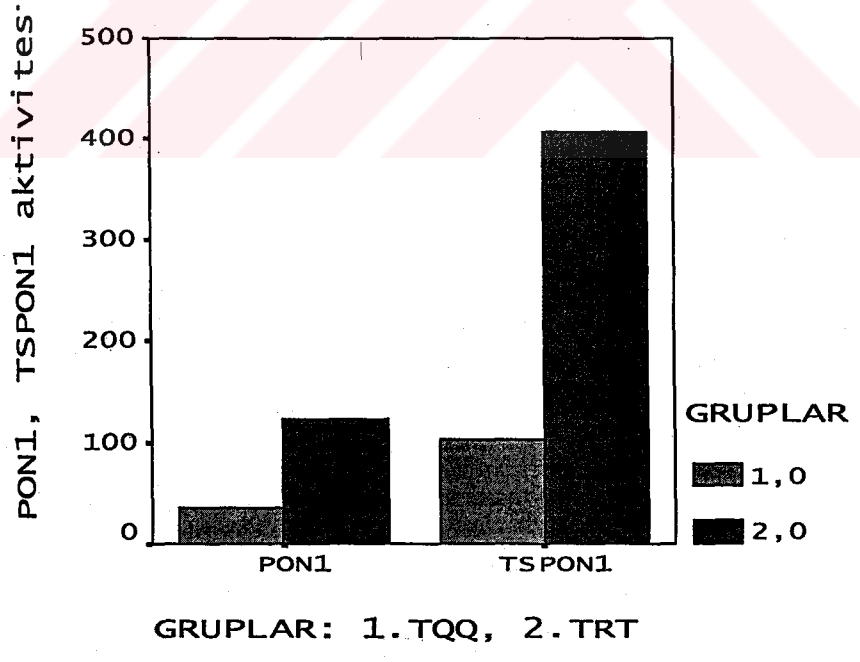
GRUPLAR	PON1 (U/L)	TSPON1 (U/L)	AREST (KU/L)	TSPON/ AREST
TQQ (n=21)	34,7±10,4	101,4±23,7	82,8±25,3	1,31±0,44
TQR (n=29)	109,3±41,5 [a]	343,3±124,4 [a]	84,6±26,3	4,04±0,91 [a]
TRR (n=10)	169,8±59,7 [a,b]	558,1±194,2 [a,b]	70,2±23,2	7,91±0,76 [a,b]
TRT (n=39)	124,8±53,2 [a]	398,4±171,3 [a]	80,9±26,0	5,03±1,91[a]

a: $p<0.01$ TQQ grubuna göre

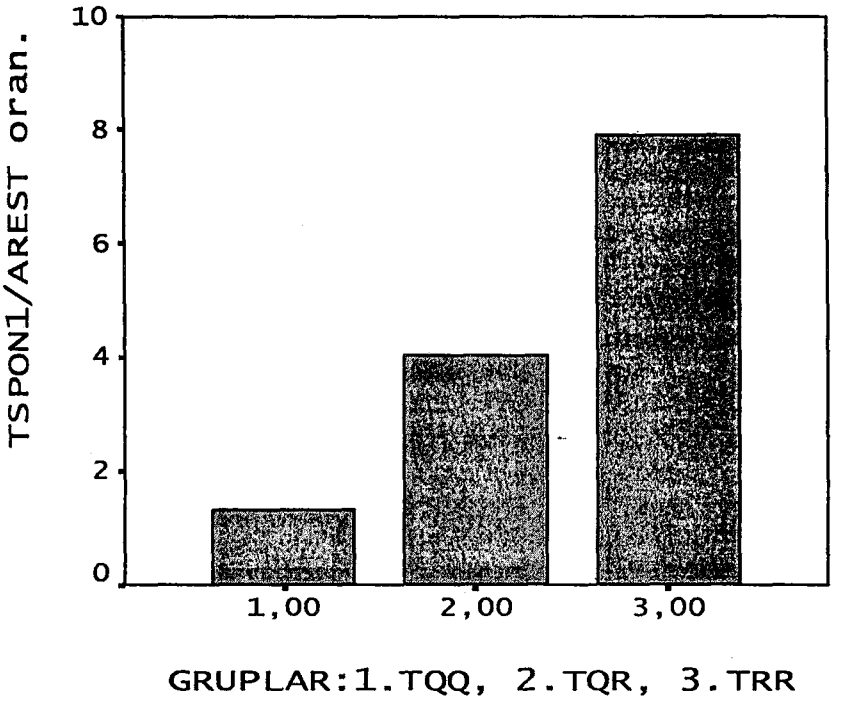
b: $p<0.01$ TQR grubuna göre



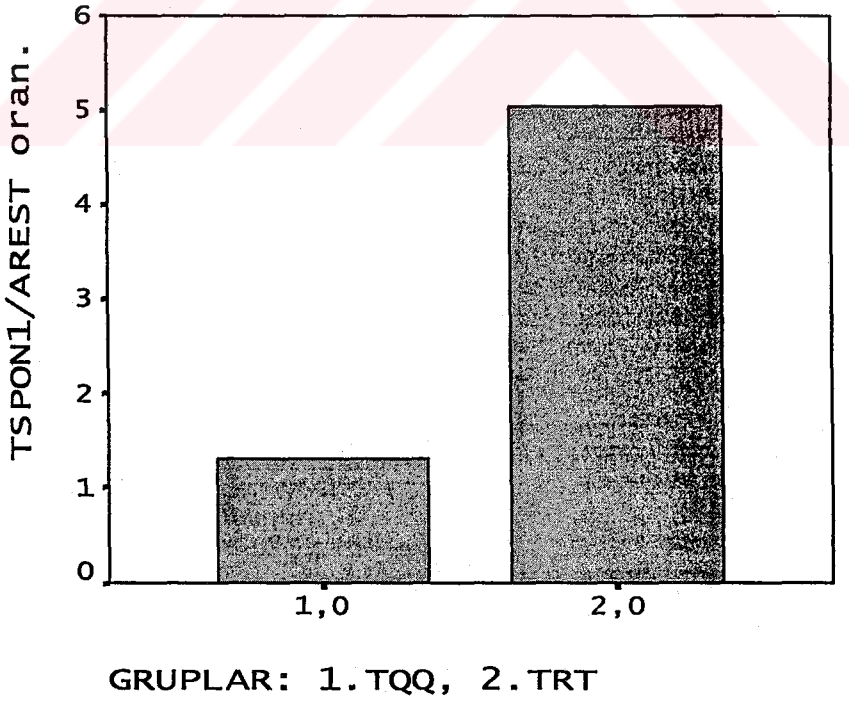
Grafik 9 : Total fenotip gruplarının (TQQ, TQR ve TRR) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması



Grafik10: Total fenotip gruplarının (TQQ ve TRT) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması.



Grafik 11: Total fenotip gruplarının (TQQ, TQR ve TRR) TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması



Grafik12: Total fenotip gruplarının (TQQ ve TRT) TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması

4.6.1.2. Egzersiz fenotip gruplarına ait bulgular

4.6.1.2.1.Fiziksel ölçüm bulguları

VKİ ve VYO ölçüm sonuçları incelendiğinde: EQQ grubuna ait değerlerin EQR değerlerinden anlamlı olarak daha büyük ($p<0.05$), ERR grubuna ait ölçümlerin EQQ'nın değerlerinden anlamlı olarak daha büyük olduğu belirlendi ($p<0.05$). ERR nin VKİ değeri EQR nin değerinden; EQQ nun VYO değeri ERT nin değerinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p<0.05$) (Tablo 16).

Tablo 16: Egzersiz fenotip gruplarının fiziksel ölçüm değerlerinin karşılaştırılması (Ort. ± SD)

GRUPLAR	YAŞ (yıl)	BOY (cm)	VA (kg)	VKİ (kg/m^2)	VYO (%)	HTES (saat)
EQQ (n=17)	45,2±4,0	172,9±8,0	82,5±7,6	27,7±2,8	24,1±4,0	4,12±0,93
EQR (n=18)	44,7±5,4	174,4±6,2	78,2±7,8	25,7±2,2 [ab]	20,5±2,8 [a]	3,67±0,91
ERR (n=5)	49,6±4,3	173,0±1,2	86,2±8,6	28,8±2,7 [a]	25,9±6,8 [a]	3,50±1,00
ERT (n=23)	45,7±5,5[a]	174,1±5,5	80,0±8,4	26,4±2,6	21,7±4,43	3,63±0,90

a : $p<0.05$ EQQ grubuna göre

b : $p<0.05$ ERR grubuna göre

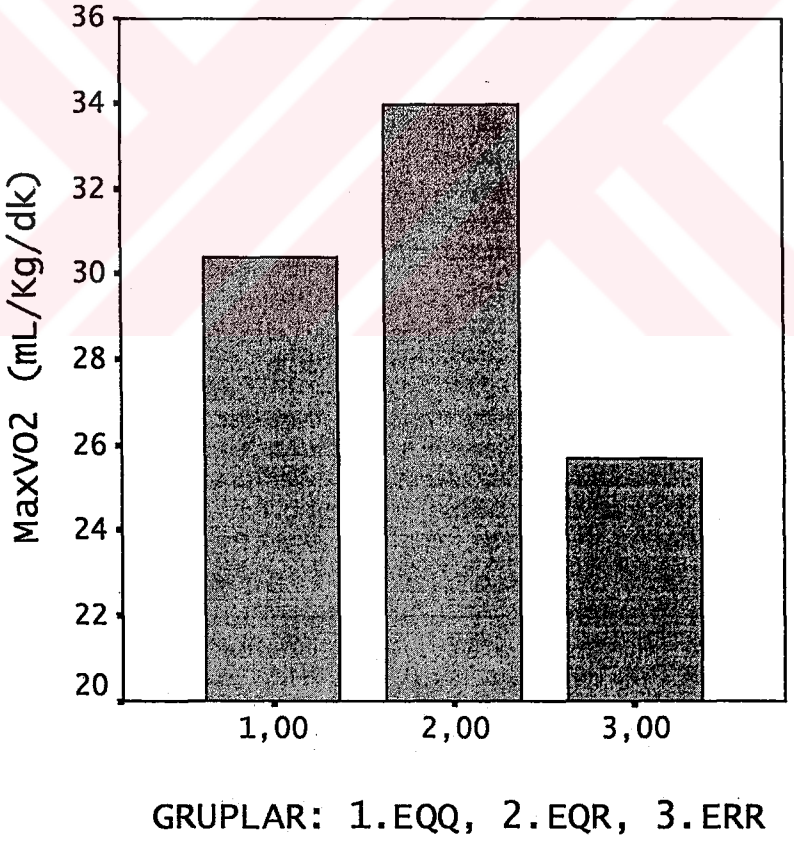
4.6.1.2.2.Fizyolojik ölçüm bulguları

EQR fenotip grubunun $MaxVO_2$ değeri ERR nin değerinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0.05$) (Tablo 17) (Grafik 13).

Tablo 17: Egzersiz fenotip gruplarının fizyolojik ölçüm değerlerinin (Ort. ± SD) karşılaştırılması

GRUPLAR	MaxVO$_2$ ML/kg/dk	İSTNAB atım/dk	SKB mmHg	DKB mmHg
EQQ (n=17)	30,4±4,9	66,7±7,7	121,2±11,7	81,8±10,1
EQR (n=18)	34,0±7,9 [a]	69,2±8,3	125,8±9,4	84,2±6,7
ERR (n=5)	25,7±5,1	72,4±8,0	118,0±17,9	76,0±8,9
ERT (n=23)	32,2±8,0	69,9±8,2	124,1±11,7	82,4±7,8

a:p<0.05 ERR grubuna göre



Grafik 13: Egzersiz fenotip gruplarının (EQQ, EQR ve ERR) maksimal oksijen kullanımının karşılaştırılması

4.6.1.2.3. Paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin bulgular

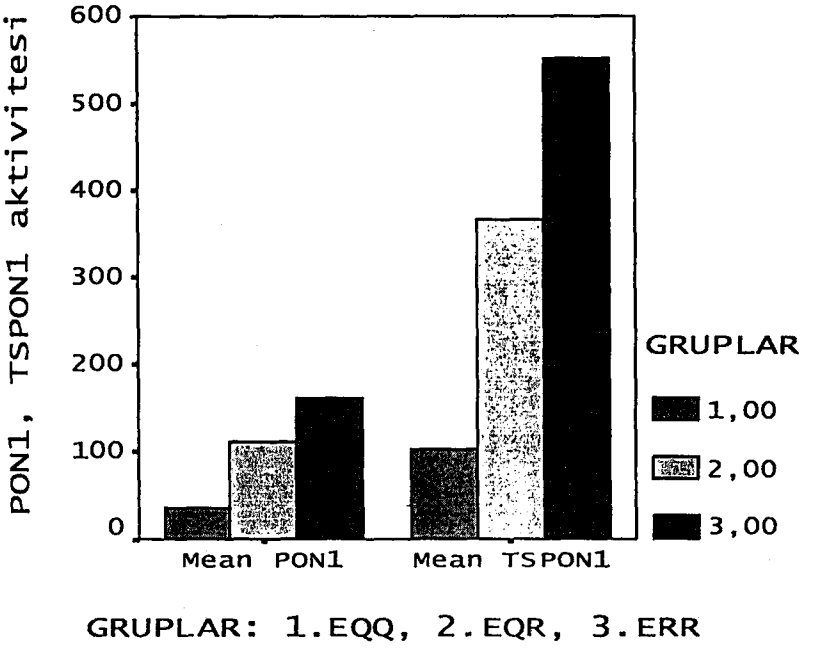
ERR fenotip grubuna ait PON1, TSPON1 aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranı EQR ve EQQ fenotip grubunun değerlerinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0.01$). EQR ve ERT gruplarının aynı parametreleri EQQ grubunun değerlerinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p<0.05$). AREST aktiviteleri için değerlendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 18) (Grafik 14)(Grafik 15)(Grafik 16)(Grafik 17).

Tablo 18: Egzersiz fenotip gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranının (ort. ± SD) karşılaştırılması

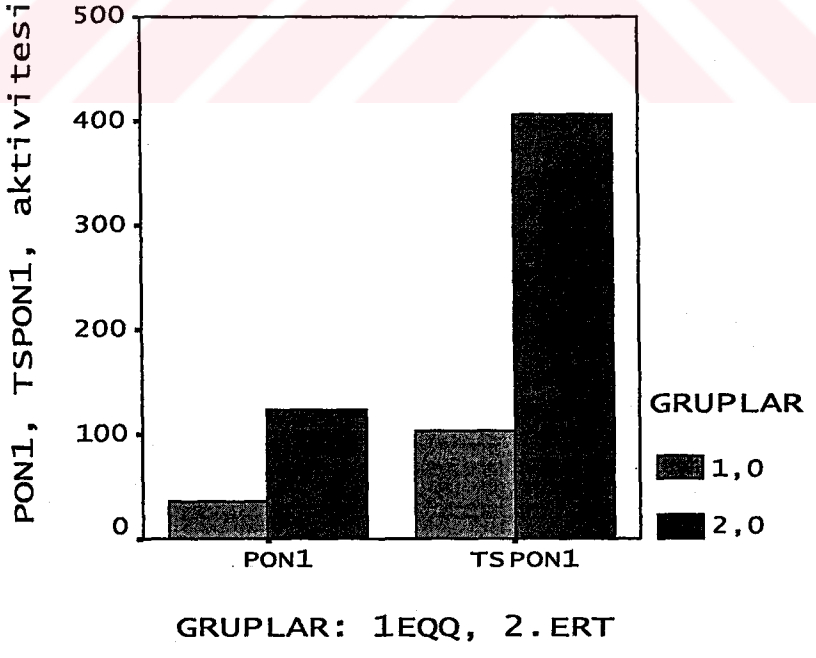
GRUPLAR	PON1 (U/L)	TSPON1 (U/L)	AREST (KU/L)	TSPON1 / AREST
EQQ (n=17)	35,5±11,1	103,0±26,0	81,9±25,8	1,34±0,46
EQR (n=18)	112,5±45,5 [a]	366,8±137,3 [a]	85,1±26,0	4,28±1,00 [a]
ERR (n=5)	161,0±51,4 [a]	551,0±177,4 [a]	70,8±23,2	7,84±0,52 [ab]
ERT (n=23)	123,0±50,0 [a]	406,8±162,3 [a]	82,0±25,6	5,1±1,75 [a]

a : $p<0.01$ EQQ grubuna göre

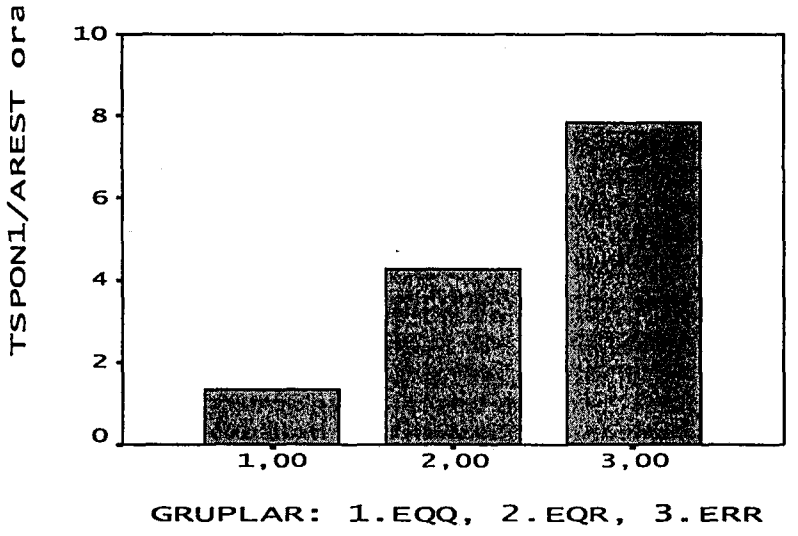
b : $p<0.01$ EQR grubuna göre



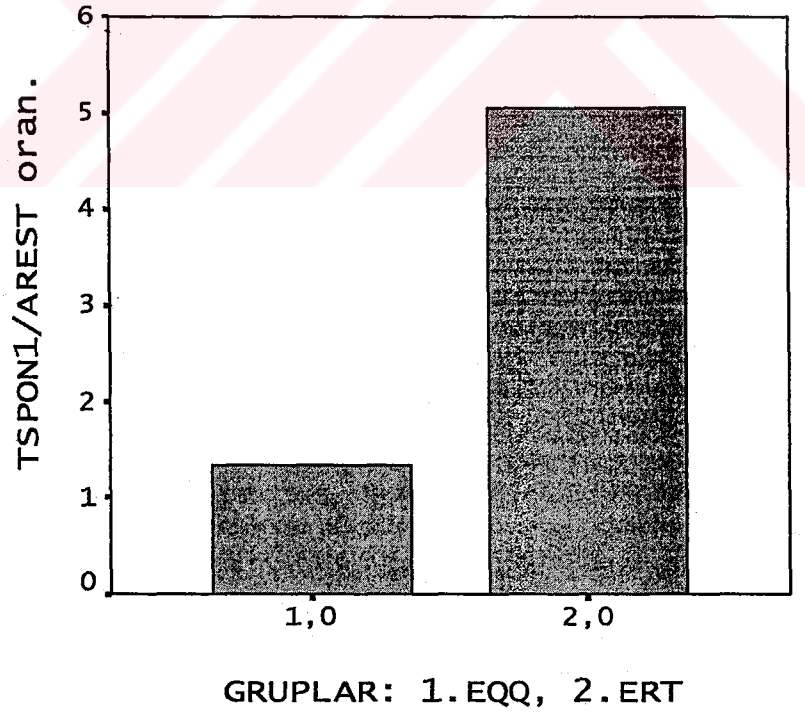
Grafik 14: Egzersiz fenotip gruplarının (EQQ, EQR ve ERR) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması



Grafik 15: Egzersiz fenotip gruplarının (EQQ ve ERt) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması.



Grafik16: Egzersiz fenotip gruplarının (EQQ, EQRve ERR) TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması



Grafik17: Egzersiz fenotip gruplarının (EQQ ve ERT) TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması

4.6.1.3. Kontrol fenotip gruplarına ait bulgular

4.6.1.3.1. Fiziksel ölçüm bulguları

Kontrol fenotip grupları arasında fiziksel parametreler açısından anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 19).

Tablo 19: Kontrol fenotip gruplarının fiziksel ölçüm değerlerinin karşılaştırılması. (Ort. ± SD)

GRUPLAR	YAŞ (yıl)	BOY (cm)	VA (kg)	VKİ (kg/m^2)	VYO (%)	HTES (saat)
KQQ (n=4)	43,8±3,9	163,8±4,2	74,4±9,1	27,7±2,7	23,2±4,7	0
KQR (n=11)	44,9±4,2	172,3±6,7	80,1±12,0	27,0±3,7	26,1±7,0	0
KRR (n=5)	44,4±5,6	172,8±10,6	78,8±9,0	26,4±2,1	23,3±3,2	0
KRT (n=16)	44,8±4,46	172,4±7,7	79,7±10,9	26,7±3,2	25,2±6,12	0

4.6.1.3.2. Fizyolojik ölçüm bulguları

Kontrol fenotip grupları arasında fizyolojik parametreler açısından anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 20).

Tablo 20: Kontrol fenotip gruplarının fizyolojik ölçüm değerlerinin karşılaştırılması (Ort. ± SD)

GRUPLAR	$MaxVO_2$ (mL/kg/dk)	İSTNAB (atım/dk)	SKB (mmHg)	DKB (mmHg)
KQQ (n=4)	23,9±4,9	69,8±6,7	117,5±5,0	82,5±5,0
KQR (n=11)	25,5±8,8	73,4±8,3	119,5±9,1	78,6±8,7
KRR (n=5)	22,8±2,6	74,8±8,7	120,0±14,1	78,0±8,4
KRT (n=16)	24,6±7,4	73,8±8,2	119,7±10,4	78,4±8,3

4.6.1.3.3. Paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin bulgular

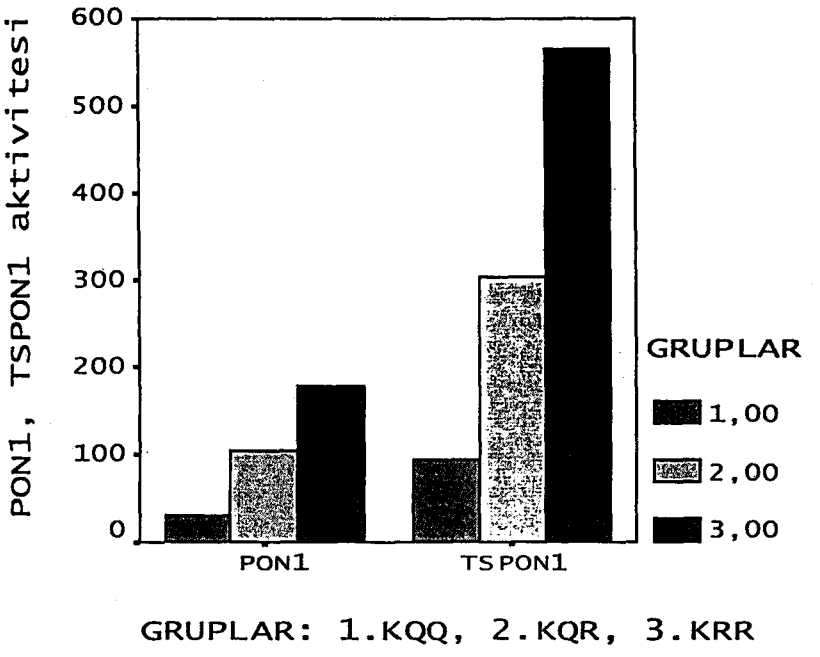
PON1 ve TSPON1 aktiviteleri açısından karşılaştırıldığında, KQR, KRR ve KRT grubunun değerleri, KQQ grubunun değerlerinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p<0.05$, $p<0.01$). Ayrıca KRR grubunun TSPON1 aktivitesi KQR grubunun aktivitesinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0.01$). TSPON1/AREST oranı incelendiğinde, KQR, KRR ve KRT fenotip gruplarının değerleri, KQQ grubunun değerinden daha büyük ($p<0.01$), KQR nin değeri KRR grubunun değerinden anlamlı olarak daha küçük bulundu ($p<0.01$). AREST aktivitesi açısından gruplar arasında anlamlı olarak fark yoktu (Tablo 21) (Grafik 18) (Grafik 19) (Grafik 20) (Grafik 21).

Tablo 21: Kontrol fenotip gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması (Ort. ± SD)

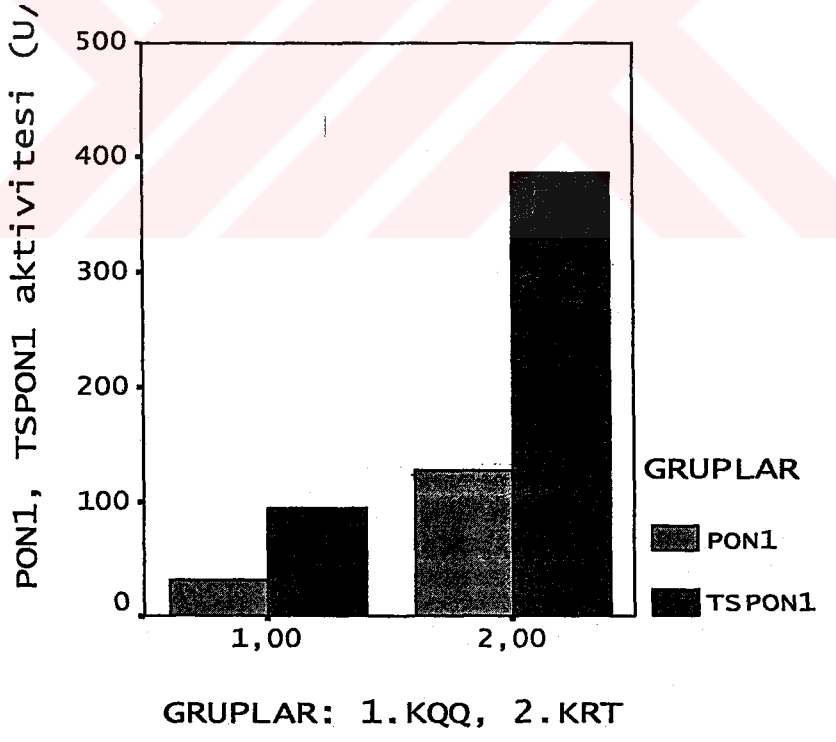
GRUPLAR	PON1 (U/L)	TSPON1 (U/L)	AREST (KU/L)	TSPON1/ AREST
KQQ (n=4)	31,4±7,30	94,6±8,4	86,4±26,5	1,19±0,41
KQR (n=11)	104,1±35,2 [a]	304,9±93,0 [a]	83,8±28,0	3,65±0,60 [a]
KRR (n=5)	178,6±71,9[a]	565,1±230,7 [a,b]	69,6±25,8	7,98±1,00 [a,b]
KRT (n=16)	127,4±59,0 [a]	386,2±188,4 [a]	79,4±27,3	5,0±2,20 [a]

a : $p<0.05$ KQQ grubuna göre

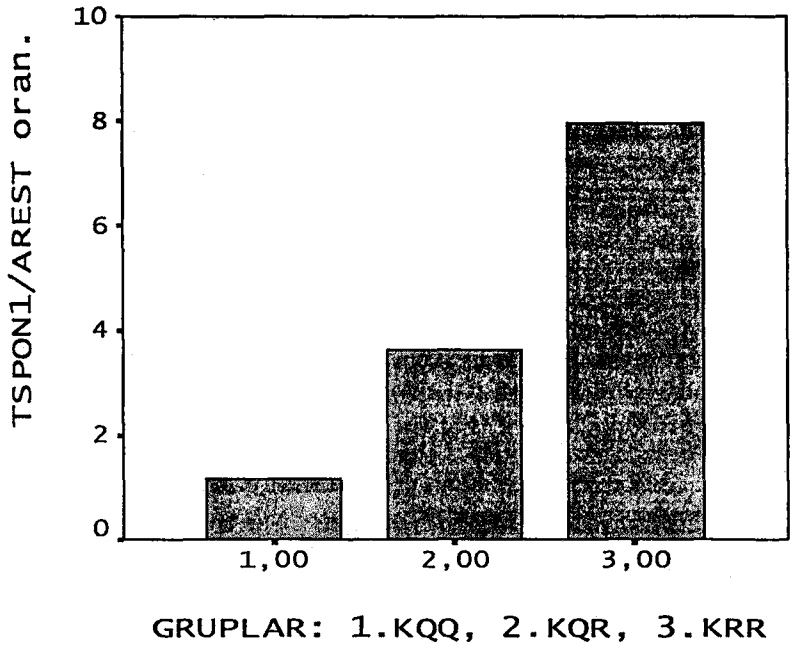
b: $p<0.05$ KQR grubuna göre



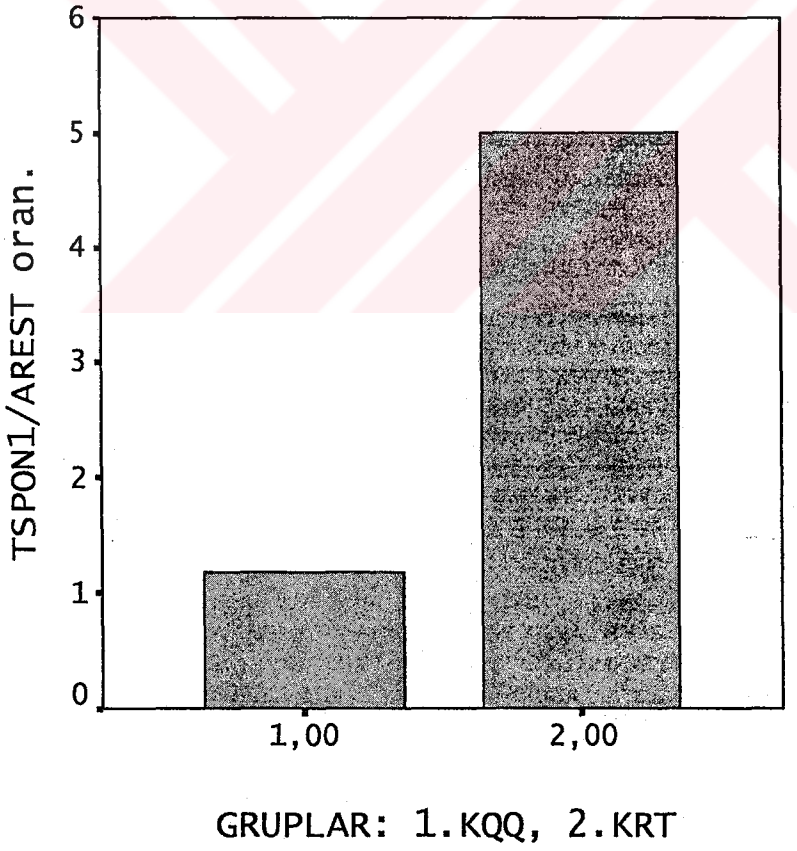
Grafik 18: Kontrol fenotip gruplarının (KQQ, KQR ve KRR) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması



Grafik 19: Kontrol fenotip gruplarının (KQQ, ve KRT) paraoksonaz ve tuzla stimüle paraoksonaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması



Grafik 20: Kontrol fenotip gruplarının (KQQ, KQR ve KRR) TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması



Grafik 21: Kontrol fenotip gruplarının (KQQ ve KRT) TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması

4.6.2. Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının karşılaştırılmasına ilişkin bulgular

4.6.2.1. Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının $MaxVO_2$ ölçüm bulguları

Egzersiz grubunun kontrol grubuna oranla kondüsyon açısından farklılığını belirlemek amacıyla iki grubun $MaxVO_2$ değerleri karşılaştırıldı. Egzersiz yapan fenotip gruplarından EQQ, EQR ve ERT fenotip gruplarının $MaxVO_2$ değerleri kendi kontrollerinin değerlerinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0.05$, $p<0.01$). Yaş, VA, VKİ, SKB, DKB gibi parametreler açısından egzersiz ve kontrol fenotip grupları arasında anlamlı bir fark bulunamadı. (Tablo 22) (Grafik 22) (Grafik 23).

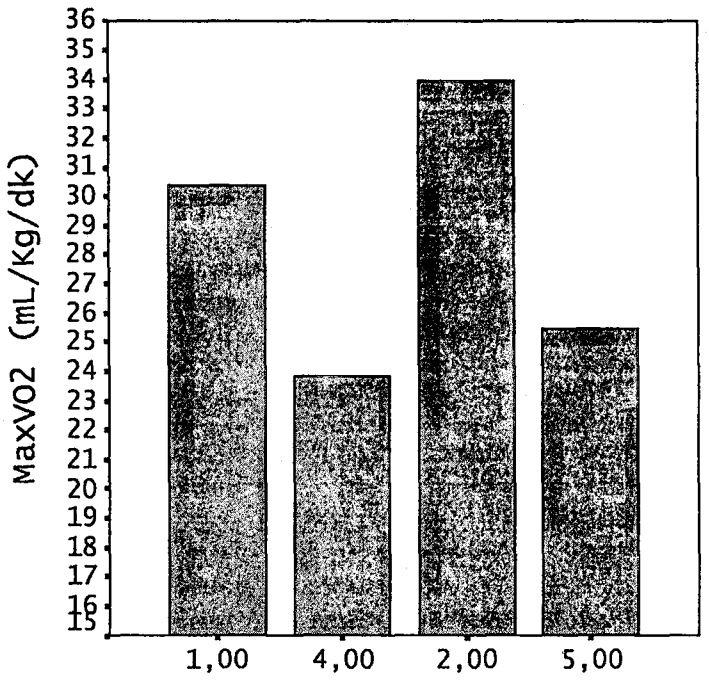
Tablo 22 : Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının $MaxVO_2$ değerlerinin karşılaştırılması (Ort. ± SD)

GRUPLAR	$MaxVO_2$ (mL/kg/dk)
KQQ (n=4)	23,9±4,9
KQR (n=11)	25,5±8,8
KRR (n=5)	22,8±2,6
KRT (n=16)	24,7±7,4
EQQ (n=17)	30,4±4,9 [a]
EQR (n=18)	34,0±7,9 [b]
ERR (n=5)	25,7±5,1
ERT (n=16)	32,2±8,0 [c]

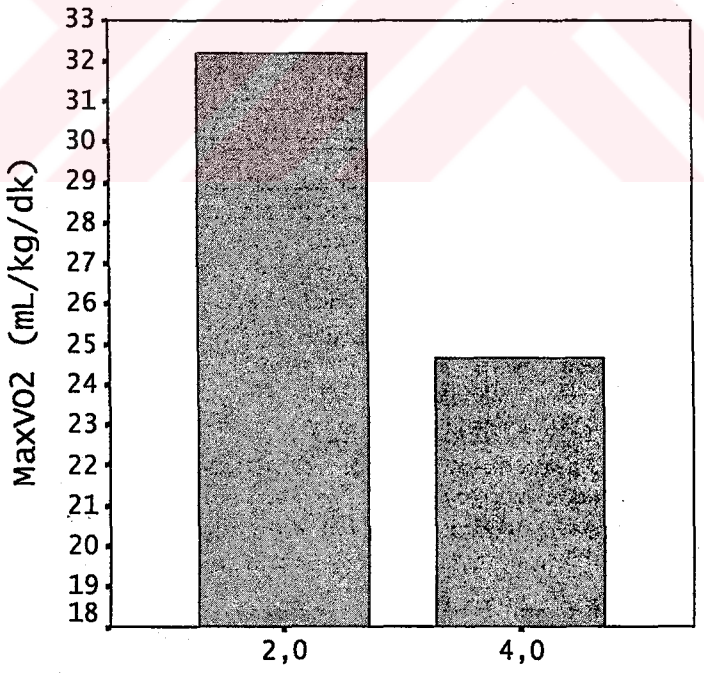
a : $p<0.05$ KQQ grubuna göre

b : $p<0.01$ KQR grubuna göre

c: $p<0.01$ KRT grubuna göre



Grafik 22: Egzersiz ve Kontrol fenotip gruplarının (EQQ, KQQ, EQR ve KQR) maksimal oksijen kullanımının karşılaştırılması



Grafik 23: Egzersiz ve Kontrol fenotip gruplarının (ERT ve KRT) maksimal oksijen kullanımının karşılaştırılması

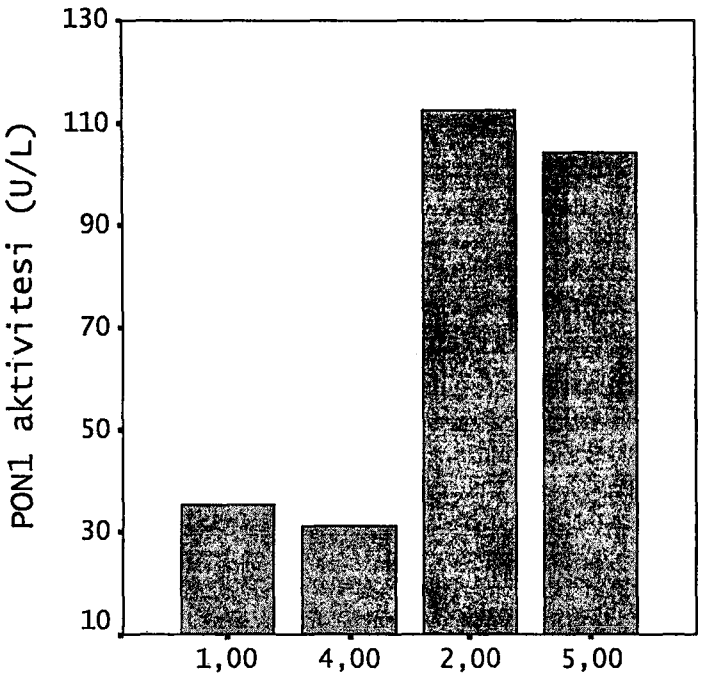
4.6.2.2. Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin bulgular

Egzersiz yapan EQQ ve EQR fenotip gruplarının bazal PON1 ve tuzla stimüle PON1 (TSPON1) aktiviteleri, kendi kontrol grupları (KQQ, KQR) nın değerlerinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0.01$). R taşıyıcı grubu (ERT) nun PON1 aktivitesi kontrol grubu (KRT) nun değerinden anlamlı olarak daha küçük ($p<0.02$), TSPON1 ise daha büyük bulunmuştur. Diğer egzersiz yapan ERR homozigot grubunun PON1 ve TSPON1 aktiviteleri ise kontrol grubu (KRR) nun değerinden anlamlı olarak daha küçüktü ($p<0.01$). Serum AREST aktivitesi açısından fenotip grupları arasında anlamlı bir fark yoktu (Tablo 23) (Grafik 24) (Grafik 25) (Grafik 26).

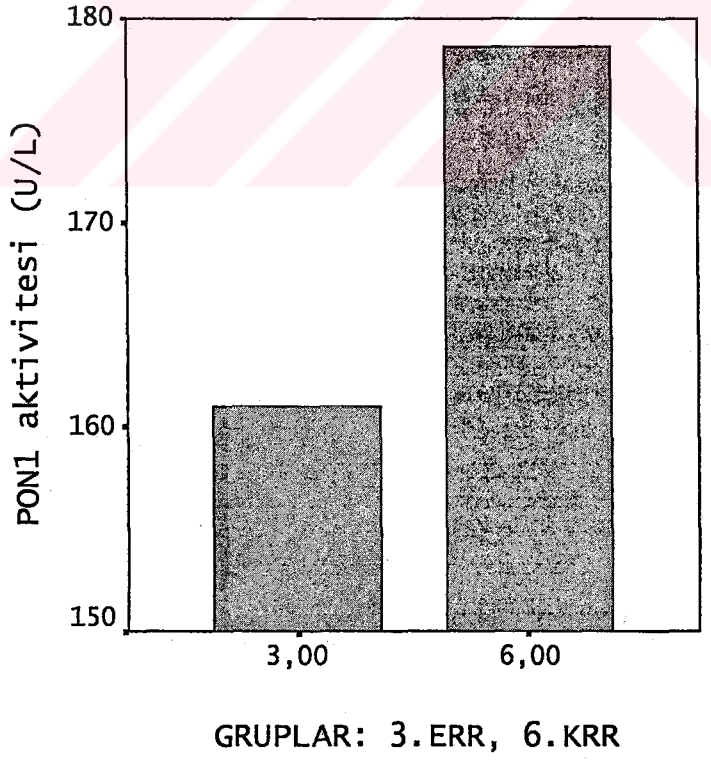
Tablo 23: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının paraoksonaz, aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranının karşılaştırılması (Ort ±.SD).

GRUPLAR	PON1 (U/L)	TSPON1 (U/L)	AREST (KU/L)
KQQ (n=4)	31,4±7,30	94,6±8,4	86,4±26,5
KQR (n=11)	104,1±35,2	304,9±93,0	83,8±28,0
KRR (n=5)	178,6±71,9	565,1±230,7	69,6±25,8
KRT (n=16)	127,4±59,0	386,2±188,4	79,4±27,3
EQQ (n=17)	35,5±11,1 [a]	103,0±26,0 [a]	81,9±25,8
EQR (n=18)	112,5±45,5 [b]	366,8±137,3 [b]	85,1±26,0
ERR (n=5)	161,0±51,4 [c]	551,0±177,4 [c]	70,8±23,2
ERT (n=23)	123,0±50,0 [d]	406,8±162,3 [d]	82,0±25,6

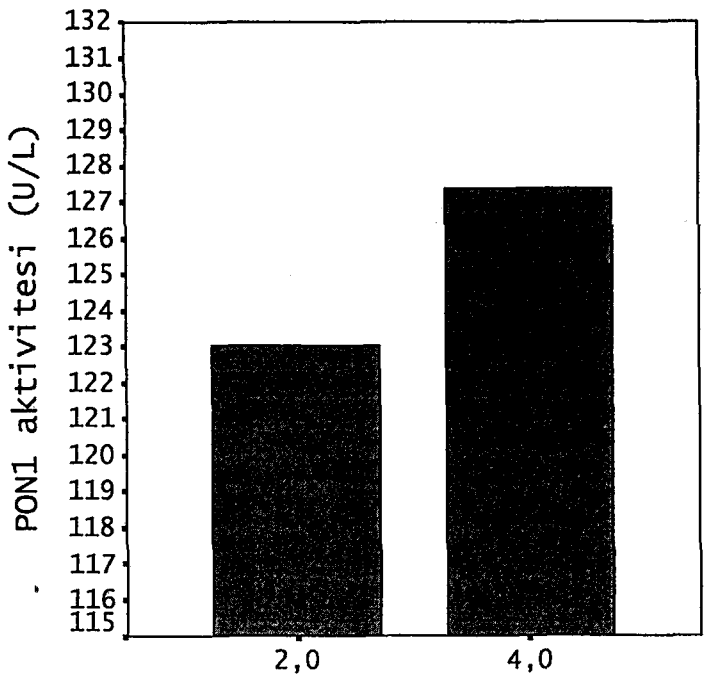
a : $p<0.01$ KQQ grubuna göre, **b:** $p<0.01$ KQR grubuna göre
c : $p<0.01$ KRR grubuna göre, **d :** $p<0.01$ KRT grubuna göre



Grafik 24: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQQ, KQQ ve EQR , KQR) paraoksonaz enzim aktivitesinin karşılaştırılması



Grafik 25: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (ERR ve KRR) paraoksonaz enzim aktivitesinin karşılaştırılması



Grafik 26: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (ERT ve KRT) paraoksonaz enzim aktivitesinin karşılaştırılması

4.6.3.PON1-192 fenotip gruplarının KKH klasik risk faktörlerine ilişkin bulguları

4.6.3.1.Total fenotip gruplarına ilişkin bulgular

Total fenotip grupları arasında KKH klasik risk faktörleri açısından anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 24).

Tablo 24: Total fenotip gruplarının KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırılması (Ort ±.SD)

GRUPLAR	TK (mg/dL)	LDL-K (mg/dL)	HDL-K (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL_2-K (mg/dL)	HDL_3-K (mg/dL)	TG / HDL-K
TQQ (n=21)	191,6±22,3	124,3±22,7	47,4±9,3	100,8±36,8	13,1±6,3	34,3±5,4	2,24±0,99
TQR (n=29)	194,9±26,0	127,2±26,0	45,6±9,6	110,8±35,9	10,7±5,1	34,9±6,3	2,61±1,12
TRR (n=10)	210,5±24,3	136,2±20,0	47,7±9,7	125,1±38,5	13,5±7,0	34,2±6,8	2,80±1,16
TRT (n=39)	198,9±26,2	129,5±24,6	46,1±9,6	114,5±38,6	11,4±5,6	34,7±6,4	2,65±1,12

4.6.3.2.Egzersiz fenotip gruplarına ilişkin bulgular

Egzersiz fenotip grupları arasında KKH klasik risk faktörleri açısından anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 25)

Tablo 25: Egzersiz fenotip gruplarının KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırılması (Ort ±.SD)

GRUPLAR	TK (mg/dL)	LDL-K (mg/dL)	HDL-K (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL_2-K (mg/dL)	HDL_3-K (mg/dL)	TG / HDL-K
EQQ (n=17)	191,2±21,4	124,1±23,4	48,4±10,1	94,3±29,8	14,1±6,3	34,2±5,8	2,07±0,84
EQR (n=18)	195,4±27,3	125,8±26,7	49,0±9,1	103,3±37,0	11,5±5,5	37,5±5,2	2,23±0,99
ERR (n=5)	217,8±11,2	142,4±15,9	50,4±7,5	124,6±13,6	15,6±8,0	34,8±4,5	2,52±0,47
ERT (n=23)	200,2±26,23	129,4±25,38	49,3±8,6	108,0±34,3	12,4±6,2	36,9±5,0	2,30±0,90

4.6.3.3. Kontrol fenotip gruplarına ilişkin bulgular

Kontrol fenotip grupları arasında KKH klasik risk faktörleri açısından anlamlı olarak farklı bulunamadı (Tablo 26).

Tablo 26: Kontrol fenotip gruplarının KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırılması (Ort.+SD)

GRUPLAR	TK (mg/dL)	LDL-K (mg/dL)	HDL-K (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL_2-K (mg/dL)	HDL_3-K (mg/dL)	TG / HDL-K
KQQ (n=4)	193,3±29,5	125,0±23,0	43,5±1,73	128,5±55,2	9,0±4,2	34,5±3,9	2,99±1,38
KQR (n=11)	194,0±24,9	129,4±25,9	40,0±8,0	123,0±32,0	9,5±4,2	30,5±5,8	3,22±1,10
KRR (n=5)	203,2±32,8	130,0±23,5	45,0±11,8	125,6±56,1	11,4±5,8	33,6±9,1	3,07±1,62
KRT (n=16)	196,9±26,8	129,6±24,4	41,6±9,3	123,8±39,0	10,1±4,7	31,5±6,8	3,17±1,22

4.6.3.4. Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının karşılaştırılmasına ilişkin bulgular

Egzersiz ve PON1-192 polimorfizmi ilişkisinin serum KKH klasik risk faktörleri üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla, egzersiz ve kontrol fenotip grupları karşılaştırıldı.

EQR ve KQR fenotip grupları karşılaştırıldığında: EQR grubunda HDL-K ve HDL3-K değerleri anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<0.05$). EQQ fenotip grubunun HDL-K değeri, KQR ve KRT grubunun değerinden anlamlı olarak daha büyük ($p<0.05$), EQQ grubunun TG/HDL-K oranı KRT grubunun değerinden anlamlı olarak daha küçük bulundu ($p<0.05$) (Tablo 27) (Grafik 27) (Grafik 28) (Grafik 29) (Grafik 30) (Grafik 31). Benzer fitnes ($MaxVO_2$) düzeyine sahip olan EQQ ve ERT grupları arasında KKH klasik risk faktörleri açısından anlamlı bir fark bulunamadı.

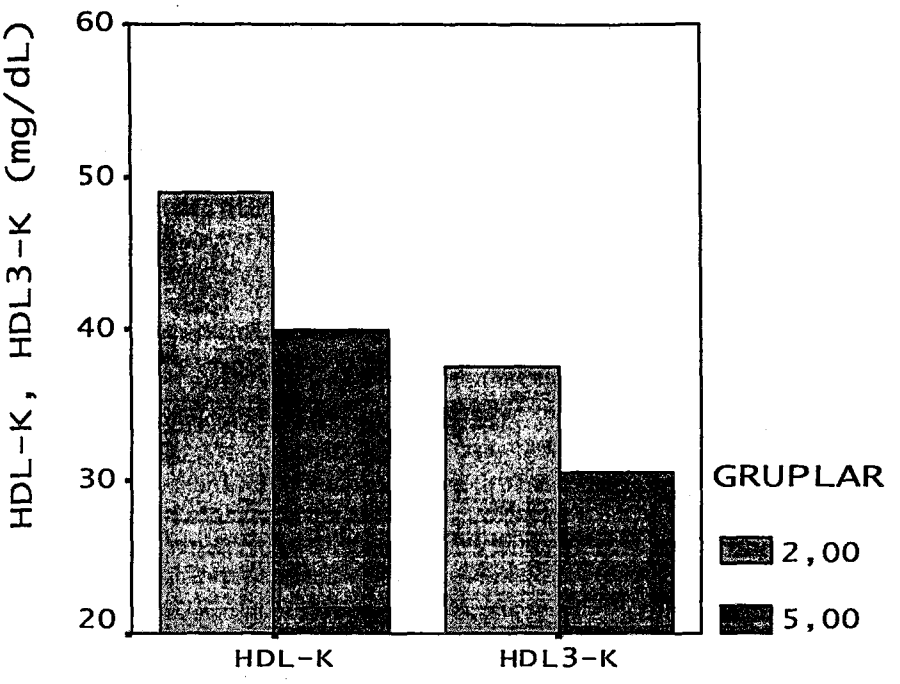
Egzersiz yapan R taşıyıcı (ERT) grubunun HDL-K değerleri kontrol (KRT) grubunun değerlerinden anlamlı olarak daha büyük bulundu.

EQQ ve KQQ fenotip grupları karşılaştırıldığında: EQQ grubuna ait HDL_2-K değerleri % 36.2 oranında daha büyük bulundu (Tablo 27).

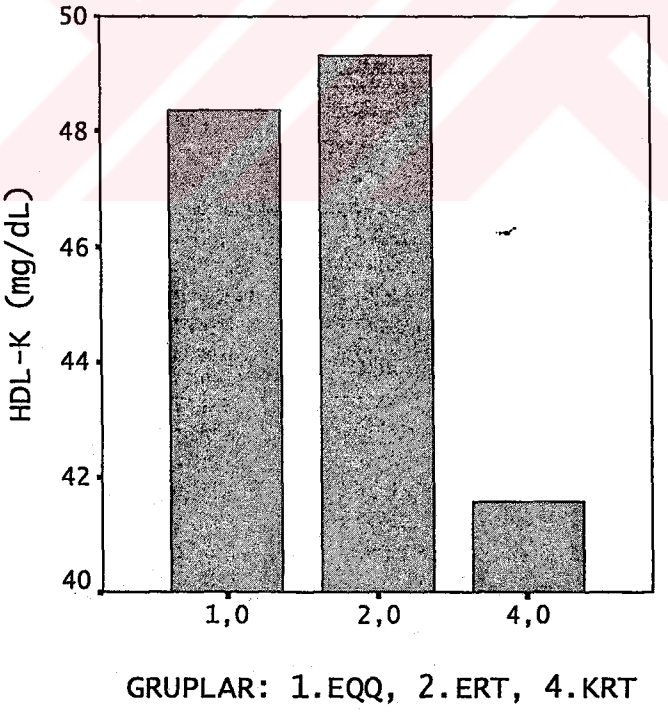
Tablo 27 : Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırılması (Ort. ± SD)

GRUP	TK (mg/dL)	LDL-K (mg/dL)	HDL-K (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL_2-K (mg/dL)	HDL_3-K (mg/dL)	TG / HDL-K
KQQ (n=4)	193,3±29,5	125,0±23,0	43,5±1,73[b]	128,5±55,2	9,0±4,2	34,5±3,9	2,99±1,38
KQR (n=11)	194,0±24,9	129,4±25,9	40,0±8,0	123,0±32,0	9,5±4,2	30,5±5,8	3,22±1,10
KRR (n=5)	203,2±32,8	130,0±23,5	45,0±11,8	125,6±56,1	11,4±5,8	33,6±9,1	3,07±1,62
KRT (n=16)	196,9±26,8	129,6±24,4	41,6±9,3	123,8±39,0	10,1±4,7	31,5±6,8	3,17±1,22
EQQ (n=17)	191,2±21,4	124,1±23,4	48,4±10,1[ab]	94,3±29,8	14,1±6,3	34,2±5,8	2,07±0,84[b]
EQR (n=18)	195,4±27,3	125,8±26,7	49,0±9,1[a]	103,3±37,0	11,5±5,5	37,5±5,2[a]	2,23±0,99
ERR (n=5)	217,8±11,2	142,4±15,9	50,4±7,5	124,6±13,6	15,6±8,0	34,8±4,5	2,52±0,47
ERT (n=23)	200,2±26,23	129,4±25,38	49,3±8,6 [b]	108,0±34,3	12,4±6,2	36,9±5,0	2,30±0,90

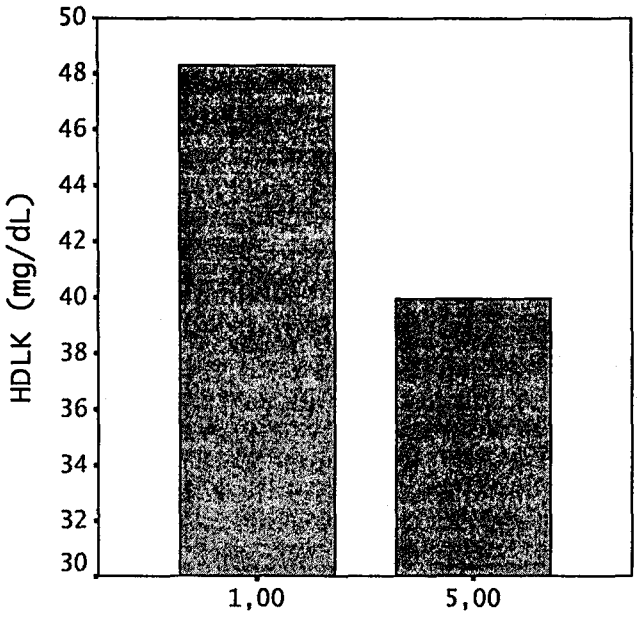
a: $p<0.05$ KQR grubuna göre **b:** $p<0.05$ KRT grubuna göre



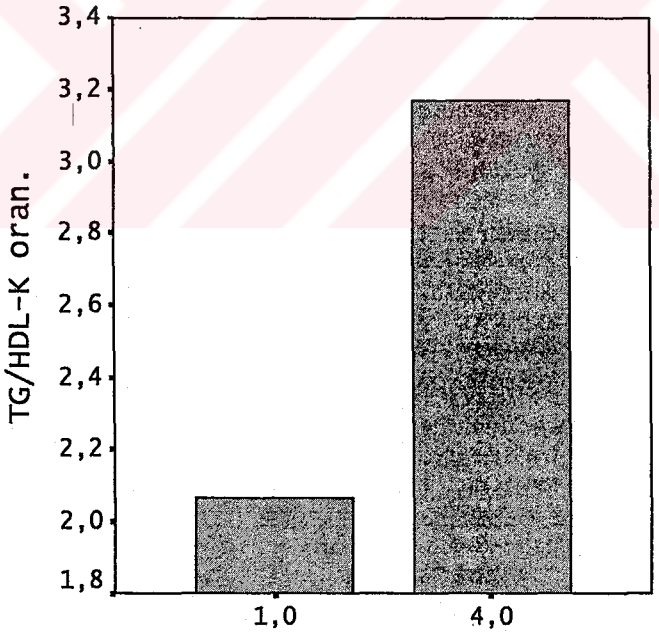
Grafik 27: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQR ve KQR) HDL-K ve HDL_3-K) açısından karşılaştırılması



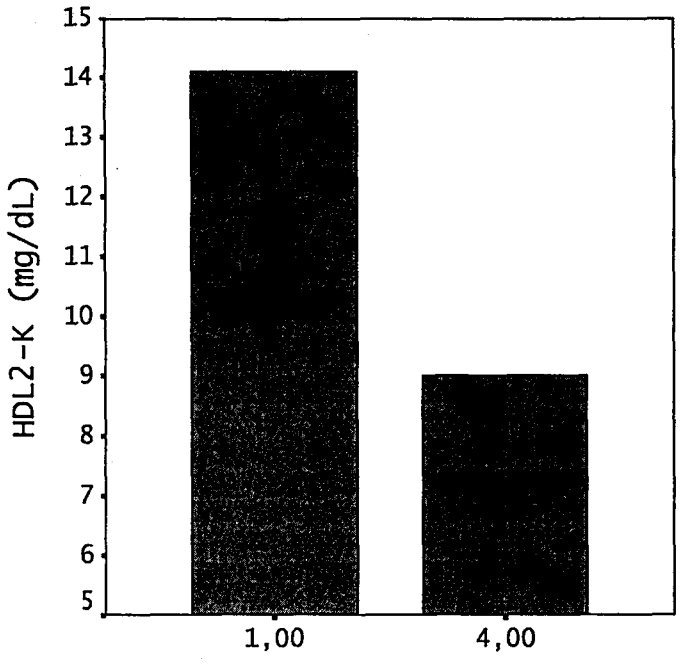
Grafik 28: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQQ, ERT ve KRT) HDL-K açısından karşılaştırılması



Grafik 29: Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQQ ve KQR) HDL-K açısından karşılaştırılması



Grafik 30 : Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQQ ve KRT) TG/HDL-K oranı açısından karşılaştırılması



Grafik 31 : Egzersiz ve kontrol fenotip gruplarının (EQQ ve KQQ) HDL_2-K açısından karşılaştırılması

4.7. İSTATİSTİKSEL OLARAK ANLAMLI BULUNAN KORELASYON ANALİZ BULGULARI

4.7.1.Tüm deneklerde anlamlı bulunan korelasyon analiz bulguları

4.7.1.1. KKH klasik risk faktörleri

Serum HDL-K, HDL_2-K ve HDL_3-K düzeyleri arasında ve TG/HDL-K ile TG arasında anlamlı pozitif, TG ve TG/HDL-K ile HDL-K, HDL_2-K ve HDL_3-K düzeyleri arasında ise anlamlı negatif korelasyonlar bulunmuştur (Tablo 28).

Tablo 28: Tüm deneklerde anlamlı bulunan KKH klasik risk faktörlerine ilişkin korelasyon analiz sonuçları

n=60	TG/ HDL-K	HDL_2-K	TG	HDL_3-K
HDL-K	r=-0.722 p=0.000	r=0.787 p=0.000	r=-0.447 p=0.000	R=0.798 P=0.000
HDL2-K	r=-0.517 p=0.000		r=-0.313 p=0.015	
HDL3-K	r= -0.624 p=0.000	r=0.256 p=0.048)	r=-0.394 p=0.020	
TG	r=0.917 p=0.000			

4.7.1.2. Bazal PON1, tuzla stimüle PON1 (TSPON1) ve aril esteraz (AREST) enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranı

Bazal PON1 aktivitesi ile tuzla stimüle PON1(TSPON1), aril esteraz (AREST) aktivitesi ve PON1/AREST oranı arasında, TSPON1 aktivitesi ile AREST aktivitesi ve TSPON1/AREST oranı arasında anlamlı pozitif korelasyonlar bulunmuştur (Tablo 29).

Tablo 29: Tüm deneklerde anlamlı bulunan kan bazal paraoksonaz, tuzla stimüle paraoksonaz, aril esteraz aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranına ilişkin korelasyon analiz sonuçları

n=60	PON1	TSPON1	AREST
TSPON1	r=0.957 p=0.000		r=0.276 p=0.033
AREST	r=0.284 p=0.028		
TSPON1/ AREST	r=0.817 p=0.000	r=0.862 p=0.000	

4.7.2.Total sporcularda anlamlı bulunan korelasyon analiz bulguları

Kan TBARS düzeyleri ile TG ve TG/HDL-K oranı arasında ve $MaxVO_2$ İle nitrik oksit (NO) düzeyleri arasında anlamlı pozitif korelasyonlar bulunmuştur (Tablo 30).

Tablo 30 : Total sporcularda anlamlı bulunan korelasyon analiz sonuçları

n=40	TG/HDL-K	TG	$MaxVO_2$
TBARS	r=0.373, p=0.018	r=0.410, p=0.009	-
NO			r=0.354, p=0.025

4.7.3.Kontrol grubunda anlamlı bulunan korelasyon analiz bulguları

Kontrol grubunda (n=20), tuzla stimüle PON1 ve bazal PON1 enzim aktiviteleri arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur (r=0.910, p=0.000).

4.7.4.QQ homozigot grubunda anlamlı bulunan korelasyon analiz bulguları

QQ homozigot grubunda (n=21), bazal PON1 ve AREST enzim aktiviteleri arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur (r= 0.458, p=0.037).

4.7.5.Total R taşıyıcı grubunda anlamlı bulunan korelasyon analiz bulguları

R taşıyıcı grubunda (TQQ +TRR), bazal PON1, tuzla stimüle PON1 (TSPON1), aril esteraz enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranı arasında anlamlı pozitif korelasyonlar bulunmuştur. TG/HDL-K oranı ile HDL-K ve alt grupları arasında anlamlı negatif, haftalık egzersiz saati ile $MaxVO_2$ ve HDL-K arasında anlamlı pozitif, TG ve TG/HDL-K oranı arasında ise anlamlı negatif korelasyonlar bulunmuştur (Tablo 31).

Tablo 31: Total R taşıyıcı grubunda anlamlı bulunan korelasyon analiz sonuçları

n=39	PON1	TPONSİT	TG/HDL-K	HTES
TSPON1	r=0.957, p=0.000			
AREST	r=0.284, p=0.028	r=0.276, p=0.033		
TSPON1/ AREST	r=0.817 p=0.000	r=0.861 p=0.000		
TG/HDL-K				r=-0.400 p=0.002
HDL_3-K			r=-0.626 p=0.000	
HDL_2-K			r=-0.517 p=0.000	
TG			r=0.917 p=0.000	r=-0.320 p=0.013
HDL			r=-0.722 p=0.000	r=0.288 p=0.026
$MaxV0_2$				r=0393 p=0.002

BEŞİNCİ BÖLÜM

5.0. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda toplumlardaki ekonomik gelişmeye eşlik eden hazır yiyeceklerin kullanımındaki ve sedanter yaşam biçimindeki artış, obezite, diyabet, hiperlipidemi gibi hastalıklara zemin hazırlamaktadır. Bu hastalıklara ek olarak, artan sigara kullanımı ve stresin ateroskleroz için birer risk faktörü olduğu bilinmektedir. Ateroskleroz nedeniyle oluşan koroner kalp hastalığı (KKH), dünyada ve ülkemizde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir (1).

Diğer yandan aerobik egzersizlerin hiperlipidemi, hipertansiyon, obezite gibi KKH risk faktörleri üzerindeki olumlu etkileri bilinmektedir (1,2,3,69). Egzersiz, kardiyovasküler kapasitede artış, lipid metabolizmasında iyileşme, vücuttaki fazla yağların yakılması ile obezitenin önlenmesi, artan TG katabolizması nedeniyle HDL-K düzeylerinde artış gibi olumlu etkiler aracılığı ile KKH risk faktörlerine karşı koruyucu rol oynamaktadır (3,23,67,69).

Gelişmiş toplumlarda çok sayıda insan tarafından aerobik egzersizlerin yanı sıra futbol gibi anaerobik tipteki egzersizler de sağlıklı yaşam amacıyla sıklıkla yapılmaktadır. KKH nedeniyle meydana gelen kalitesiz bir yaşam yanı sıra kaybedilen işgücü ve tedavi masrafları göz önünde bulundurulduğunda uygun bir egzersizin ne denli önemli olduğu ortaya çıkmaktadır.

Ateroskleroz gelişiminde ilk meydana gelen değişiklerden olan endotelyal disfonksiyon, koroner kalp hastalığı için birer bağımsız risk faktörü olarak kabul edilen hiperhomosisteinemi, hiperkolesterolemi ve düşük HDL-K düzeyleri ile yakından ilişkilidir. HDL nin yapısında yer alan PON1, aterosklerozda merkezi role sahip LDL ve HDL yi oksidasyona karşı koruyan antioksidan bir enzimdir (13,19,20). Ayrıca PON1 in Hcy metaboliti olan tiolaktonu hidroliz eden tiyolaktonaz enzimi ile idantik olduğu belirtilmektedir (18). Vazodilatör ve antioksidan bir madde olan nitrik oksid (NO) in de homosisteinin oluşturduğu endotelyal hasara karşı koruyucu etkisi bulunmaktadır (48,49).

Egzersizin HDL-K düzeyleri üzerindeki olumlu etkileri çok iyi bilinmesine karşın, yapısında yer alan paraoksanaz ve aril esteraz enzim aktiviteleri üzerindeki

etkileri belirsizdir (21,25). Değişik çalışmalarda Hcy, NO ve HDL arasında ilişkiler gösterilmiştir (7,78,79), ancak literatürde egzersizin bu parametreler üzerindeki etkilerini ve aralarındaki olası ilişkileri birlikte inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

PON1-192 polimorfizminin KKH ile yakından ilişkili olduğu (13, 20) ve kan lipid, lipoprotein düzeylerini modüle ettiği (13,20); ayrıca egzersizin PON1 aktivitesi, lipid ve lipoprotein düzeyleri üzerindeki etkilerinin de PON1-192 polimorfizmi ile modüle edildiği belirtilmektedir (21,25). PON1 enziminde 192. pozisyonda glutaminin yer alması ile meydana gelen düşük aktiviteli Q, ve glutamin yerine arjinin gelmesi oluşan yüksek aktiviteli R izoformlarının frekansları etnik gruplar arasında büyük farklılıklar göstermektedir (20,30). Ancak PON1-192 polimorfizmi ve egzersiz ilişkisi konusunda yapılan çalışma sayısı yok denecek kadar azdır. Ayrıca bu konuda yapılan çalışmalarda yaş, cinsiyet, ağırlık, diyet alışkanlığı, sigara, alkol, ilaç ve vitamin kullanımı, hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi gibi KKH risk faktörlerinin yanı sıra yapılan egzersizlerin tipi, frekansı ve süresi yeterince göz önünde bulundurulmamıştır. Bu faktörler KKH için birer bağımsız risk faktörü olarak kabul edilen kan PON1/AREST aktiviteleri, Hcy, NO ve HDL-K gibi parametrelerin düzeylerini ve aralarındaki olası ilişkileri etkileyebilir (7,13,30,36,37,50,56). Yaptığımız literatür incelemesinde Türk toplumunda yapılmış PON1-192 polimorfizmi ve egzersiz ilişkisi inceleyen bir çalışma mevcut değildir.

Bu düşüncelerin ışığı altında geniş kapsamlı bir çalışma planlayarak; KKH açısından risk taşıyan 40-55 yaş grubu sağlıklı erkeklerde sağlıklı yaşam için uzun süredir yapılan jogging ve futbol tipindeki iki farklı egzersizin ***kan PON1 ve AREST enzim aktiviteleri, NO, Hcy düzeyleri, KKH klasik risk faktörleri üzerine etkilerini ve bu parametreler arasındaki olası ilişkileri*** incelemek istedik.

Bu amaçla egzersiz grupları (futbol ve jogging) ve kontrol grubunun oluşturulması aşamasında aşağıdaki özelliklere dikkat edildi: Egzersiz ve kontrol grupları arasında KKH ile ilişkili oldukları bilinen (1,2,3,69) fiziksel parametreler: yaş, vücut ağırlığı (VA), vücut kitle indeksi (VKİ) ve vücut yağ oranı (VYO) ve fizyolojik parametreler: istirahat nabzı (İSTNAB), sistolik (SKB) ve diastolik kan basıncı (DKB) açısından anlamlı bir fark yoktu. Egzersiz gruplarının maksimal oksijen kullanım kapasiteleri ($MaxVO_2$) kontrol grubununkinden anlamlı olarak daha büyüktü ($p<0.01$). İki egzersiz grubu arasında haftada yapılan toplam egzersiz

miktarı (saat olarak) arasında anlamlı bir fark yoktu. Tüm bu bulgular egzersiz gruplarının kontrol grubuna göre daha iyi bir egzersiz kapasitesine sahip olduklarını ve belirli bir süredir egzersiz yaptıklarının kanıtlamaktadır.

Çalışmamıza katılan kişilerin KKH ile yakından ilişkisi bulunan obezite, hipertansiyon, diabet gibi hastalıklara sahip olmayan sağlıklı kişiler olması; kan Hcy, PON1, NO ve HDL-K değerlerini etkilediği bilinen sigara, alkol, folik asit ve B kompleks vitaminleri, antioksidan ilaçları düzenli olarak kullanıyor olmamaları (7,13,30,50,54,55,63,64,65,80); egzersiz gruplarının uzun süredir (Ort.9.4 yıl) ve düzenli olarak bir antrenör yönetiminde egzersiz yapmaları; özellikle beslenme biçim ve alışkanlıkları açısından benzer sosyo-kültürel yapıya sahip olmaları çalışmamızın bu konuda daha önce yapılan diğer popülasyon çalışmalarına kıyasla daha kontrollü olduğunu göstermektedir.

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda:

* Serum lipid ve lipoprotein düzeylerini etkilediği bilinen (1,2,3,23); vücut ağırlığı (VA), vücut kitle indeksi (VKİ), vücut yağ oranı (VYO) açısından, egzersiz grupları (FG ve JG) ve kontrol grubu (KG) arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Bu sonuçlar çalışma ve kontrol gruplarımızın sözü geçen parametreler açısından benzer olduğunun kanıtıdır.

* İki egzersiz grubunun (FG ve JG) $MaxVO_2$, serum HDL-K, HDL_2-K ve HDL_3-K değerleri kontrol grubu (KG) değerlerinden anlamlı olarak daha büyük ($p<0.01$); TG, TG/HDL-K düzeyleri ise KG değerlerinden anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p<0.05$). $MaxVO_2$ düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen temel olarak aerobik özellik taşıyan jogging egzersizi yapan grubun daha anaerobik nitelikteki futbol grubuna göre anlamlı olarak daha antiaterojenik bir lipid ve lipoprotein profiline sahip olduğu gözlendi ($p<0.05$). Total grupta TG katabolizmasının indirekt bir göstergesi olarak kullanılan TG/HDL-K oranı ile HDL-K, HDL_2-K ve HDL_3-K arasında negatif, TG arasında ise anlamlı düzeylerde pozitif korelasyonlar gözlendi ($p<0.05$). Ayrıca sporcularda TBARS düzeyleriyle TG ve TG/HDL-K arasında pozitif korelasyonlar bulundu ($0<0.05$).

* Kan bazal PON1 ve AREST enzim aktiviteleri açısından egzersiz ve kontrol grupları karşılaştırıldığında, her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

* Kan Hcy, NO ve TBARS düzeyleri incelendiğinde, egzersiz ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamakla birlikte, futbol grubunun Hcy ve NO değerleri kontrol ve jogging gruplarınınkinden daha büyük, futbol grubu TBARS değerleri ise sadece kontrol grubununkinden daha büyük olarak belirlendi. Total deneklerde, fiziksel fitnes ($MaxVO_2$) düzeyleri ve dinlenik kan NO düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon bulundu. ($p<0.05$).

*Total, egzersiz, kontrol fenotip grupları (QQ, QR ve RR, R taşıyıcı) KKH klasik risk faktörleri açısından kendi içlerinde karşılaştırıldığında: anlamlı bir fark bulunamadı.
*EQQ homozigot grubunun, HDL-K düzeyi KQR ve KRT grubunun değerlerinden, EQQ nun TG/HDL-K oranı ise KRT grubunun değerinden anlamlı olarak daha büyük bulundu ($p<005$).
*Total, sporcu ve kontrol fenotip grupları PON1, TSPON1 enzim aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranları açısından kendi içlerinde karşılaştırıldığında: Tüm gruplar için RR, QR ve R taşıyıcı (RT) fenotip gruplarının değerleri, QQ fenotip grubunun değerlerinden, RR fenotip grubunun aynı parametre değerleri QR fenotip grubunun değerlerinden anlamlı olarak daha büyük bulundu. Tüm gruplar için fenotip grupları arasında AREST enzim aktiviteleri açısından yapılan karşılaştırmada anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 15, Tablo 18, Tablo 21). Tüm deneklerde (n=60) ve total R taşıyıcı grubunda (n=39) yapılan korelasyon analizinde bazal PON1 ile tuzla stimüle PON1 (TSPON1), AREST aktiviteleri ve TSPON1/AREST oranı arasında anlamlı korelasyonlar saptandı ($p<0.05$) (Tablo 29, Tablo 31). Tüm deneklerde Q allelinin frekansı ($p=0.592$), R allelinin frekansı ($q=0.408$) olarak hesaplandı. Bu analiz sonucunda elde ettiğimiz QQ ve RR homozigotlarının frekans değerlerinin 'Mendelian kuralına' göre "Hardy-Weinberg eşitliği" { QQ frekans değeri (p) + RR frekans değeri (q) }^{2} =1 olarak verilen eşitliği sağlamıştır (71). Bu sonuç yapılan fenotiplemenin 'Mendelian kuralına' uygun olduğunu gösterir. Tüm bu bulgular, yaptığımız PON1-192 polimorfizmi fenotiplemesinin temel ilke ve kuralları içinde ve bu konuda yapılan diğer temel literatür verileriyle uyumlu olduğunu gösterir (30,31,33,36, 41).

*Egzersiz grubuna ait fenotip grupları kendi kontrol fenotip grupları ile KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırıldığında: EQR grubunun HDL-K ve HDL_3-K düzeyleri ve ERT grubunun HDL-K düzeyleri kontrol grubu değerlerinden anlamlı

olarak daha büyük bulundu ($p<0.05$). EQQ homozigot grubunun HDL_2-K düzeyleri istatistiksel bir düzeye ulaşamamış olsa da kontrol grubununkinden daha büyüktü.

* Egzersiz grubuna ait fenotip grupları kendi kontrol fenotip grupları ile PON1enzim aktivitesi açısından karşılaştırıldığında: EQQ ve EQR fenotip gruplarında bazal PON1 aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu ($p<0.05$), ERR homozigot grubununda ise kontrole göre daha düşük olduğu saptandı ($p<0.01$). ERR homozigot grubuna EQR heterozigot grubunun ilavesi ile oluşturulan R taşıyıcı (ERT) grubunda da egzersizle bazal PON1 aktivitesinin kontrol (KRT) grubuna göre düştüğü saptandı ($p<0.05$). AREST aktivitesi açısından fenotip gruplarında egzersizin anlamlı bir etkisi bulunamamıştır.

Futbol ve jogging egzersizlerinin KKH klasik risk faktörleri üzerine etkileri incelendiğinde: Senti ve ark.(21) yaptıkları kesitsel bir çalışmada bizim sonuçlarımıza benzer şekilde günlük fiziksel aktivite ve aerobik egzersizin, serum TG değerlerini ve TG/HDL-K oranını düşürdüğünü ve HDL-K değerlerini arttırdığını göstermişlerdir.

Nakamura ve ark.'nın (81) çalışmasında, bizim çalışmamızdaki yaş ve cinsiyet grubuna benzer şekilde, iki yıl düzenli olarak jogging yapan 45-50 yaşlarındaki erkeklerde antrenmandan dört ay sonra HDL-K nin anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir.

Lehtonen A ve ark.'nın (82) çalışmasında, buz hokeyine göre antrenmanları daha aerobik nitelik taşıyan futbolcuların, serum HDL-K değerleri buz hokeyi ve sedanter gruplarının değerlerinden anlamlı olarak daha büyük bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da futbola göre daha aerobik nitelikteki jogging grubunun anlamlı olarak daha antiaterojenik lipoprotein profiline sahip oldukları gözlenmiştir. Bu bulgular, egzersizin serum lipid ve lipoproteinler üzerindeki etkilerinde yapılan egzersizin enerji metabolizmasındaki farklılıkların da rolü olabileceğini göstermektedir.

Çalışma sonuçlarımızdan farklı olarak, 25-55 yaş arasındaki obez erkeklerin dört ay süreyle haftada iki saat olmak üzere yaptıkları futbol antrenmanlarının kan lipid ve lipoprotein profili üzerinde olumlu bir etkisi gözlenmemiştir (83). Bu çalışma sonuçları ile bizim sonuçlarımız arasındaki farklar haftalık antrenman saati (4st/hf) ve antrenman süresi (9.4 yıl) ve VKİ farklarından kaynaklanıyor olabilir.

Sonuç olarak, çalışmamızda iki farklı kronik egzersizin KKH klasik risk faktörleri üzerinde olumlu etkileri bulunmuştur. Lipid profili açısından, futbol grubunun koşu grubuna göre daha aterosklerotik nitelikte olması, futbolun daha anaerobik doğasından kaynaklanıyor olabilir (3,23).

Egzersizin PON1 ve AREST enzim aktiviteleri üzerine etkisini polimorfizm göz önüne alınmaksızın incelediğimizde, bazal PON1 aktiviteleri incelendiğinde egzersizin anlamlı bir etkisi bulunmamıştır.

Bu bulgularımızla paralellik gösteren iki çalışmada, Ferre ve ark.(84), 18-75 yaş arası 388 kişilik bir popülasyonda fiziksel aktivite ile PON1 aktivitesi arasında anlamlı bir ilişki bulamamıştır; Thomas ve ark. (25), 17 kişide dört aylık aerobik egzersiz sonrasında (yaş ort.19.5 yıl) PON1 aktivitesinde anlamlı bir fark bulamamışlardır.

Bizim sonuçlarımızdan farklı olarak, 25-74 yaşları arasındaki erkek ve kadınlarda (n=1380) yapılan bir diğer çalışmada (85), fiziksel aktivite yapan grubun PON1 aktiviteleri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Bir popülasyon çalışması olan bu çalışmada PON1 aktivitesini etkilediği bilinen antioksidan kullanımı (86) ve östrojen etkileri (87) gibi faktörler yeterince dikkate alınmamıştır. Ayrıca egzersizin tipi, yoğunluğu, süresi, frekansı, kişilerin kondisyon düzeyleri ve kullanılan PON1 ölçüm yöntemlerindeki farklılıklar gibi henüz araştırılmamış olan faktörler çalışma sonuçlarını etkilemiş olabilir.

Literatürde insanda AREST-egzersiz ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Egzersizin PON1 enzim aktivitesi üzerine etkisi polimorfizm ile birlikte incelendiğinde:Literatürde PON1-192 polimorfizminin egzersiz ile ilişkisinin incelendiği tek çalışmada Thomas ve ark.(25), insanlardaki genel fenotiplemede düşük oranda bulunan RR homozigot grubunu, QR grubu ile birleştirerek "R taşıyıcıları" adı altında incelemişlerdir. Çalışma sonunda dört aylık düzenli aerobik egzersizin PON1 aktivitelerini QQ homozigotlarında bazal değerlerine göre anlamlı olarak arttırdığını; R taşıyıcılarında ise anlamlı olarak düşürdüğünü belirlemişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda egzersizin R taşıyıcılarında olduğu gibi RR homozigot grubunda da PON1 aktivitesini düşürdüğü saptanmıştır. Bu nedenle biz tartışmamızda R taşıyıcılarındaki sonuçları temel aldık.

Egzersizle R taşıyıcılarında PON1 aktivitelerindeki azalmayı açıklamak için iki hipotez ortaya atılmıştır: Birincisi, R fenotipindeki kişilerin egzersizle oluşan oksidan stresin PON1 aktivitesi üzerinde oluşturduğu (25) olası bir inhibisyona karşı çok daha fazla duyarlı olabilecekleri; ikincisi, PON1 gen promotör bölgesinde ya da diğer bir bölgedeki bir polimorfizmin PON1 sentez veya aktivitesini değiştirebileceği öne sürülmektedir.

Çalışmamızda egzersizin QQ homozigotlarda PON1 aktivitesini arttırmasının olası nedenleri aşağıdaki gibi açıklanabilir: Birincisi, egzersiz göz önüne alınmaksızın, yapılan in vitro çalışmalarda Q allolizminin doğal olarak oksidan strese karşı daha iyi bir koruma sağladığı gösterilmiştir (13,20); bu nedenle ileri derecede oksidatif koşullarda PON1 enzim aktivitesi daha az etkilenmektedir. İkincisi, yapılan çalışmalarda aerobik tipteki egzersizlerin (88) ve düzenli olarak yapılan futbol antrenmanlarının plazma antioksidan kapasitesini (askorbik asid, ürik asid, alfa-tokoferol düzeyleri ve SOD aktivitesi) arttırdığı saptanmıştır (89). Böylece egzersizle oksidatif strese karşı antioksidan sistem kapasitesinde meydana gelebilecek artışlar PON1 aktivitesini artırabilir. Çalışmamızda da lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kullanılan TBARS düzeyleri açısından egzersiz ve kontrol fenotip grupları arasında anlamlı bir farkın görülmemesi, kronik egzersizin antioksidan savunmayı güçlendirdiğinin bir göstergesi olabilir. Ayrıca sporcularda TBARS düzeyleriyle TG ve TG/HDL-K arasında bulunan pozitif korelasyonlar ve egzersizle düşen TG ve TG/HDL-K oranı, artan antioksidan nitelikteki HDL-K ve alt gruplarının anti oksidan savunmaya katkısını gösterebilir. Futbol grubunun jogging grubuna göre değil de, kontrol grubuna göre daha büyük bir TBARS ve Hcy düzeylerine sahip olmasında, FG'nin HDL-K ve HDL_2-K düzeylerinin JG' ye göre daha düşük olmasının da rolü olabilir. Bu nedenle, çalışmamızda QQ homozigot grubunda serum PON1 aktivitesinde meydana gelen artışlarda hem genetik özelliğinin hem de antioksidan kapasitede egzersizle uyarılan muhtemel artışların rolü olduğunu söyleyebiliriz.

KKH insidansı ile PON1-192 polimorfizmi arasında bir ilişkinin olduğu belirtilmektedir. QQ homozigotuna sahip kişilerin KKH a yakalanma risklerinin R taşıcılarına göre daha düşük olduğu ortaya konmuştur (13,20,90). Bunun nedenlerinden birinin QQ homozigotlarının R taşıyıcılarına göre daha antiaterojenik bir lipid ve lipoprotein profililine (91) sahip olmaları gösterilmektedir.

Çalışmamızda serum lipid ve lipoprotein profilinin, PON1-192 polimorfizmi ile ilişkili olup olmadığını araştırmak amacıyla total deneklerde, kontrol ve sporcu gruplarında, fenotip grupları içinde KKH klasik risk faktörleri açısından yapılan karşılaştırmalarda, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Bu sonuçlar PON1-192 polmorfizminin lipid ve lipoprotein profili üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı göstermektedir. Antikanin ve ark. (92) ve Sanghera ve ark.'nın (93) çalışma sonuçları da bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir.

Farklı gruplara ait çalışma sonuçlarının arasındaki farklılıklar, olasılıkla PON1-192 polimorfizminde toplumlar arasında gözlenen allel frekansındaki farklılıklardan ve lipid, lipoprotein düzeylerini etkileyen diğer faktörlerden kaynaklanabilmektedir.

Egzersiz, PON1-192 polimorfizmi ve KKH klasik risk faktörleri ilişkisi açısından incelendiğinde: Senti ve ark.(21) tarafından orta yaştaki (Ort. 55.0, n=262) erkeklerde yapılan ve denek seçiminde genelde bizimkine benzer bir yöntemin uygulandığı bir popülasyon çalışmasında; egzersiz ve PON1-192 polimorfizmi arasındaki etkileşimin, kan lipid ve lipoprotein profilini modifiye edebileceği gösterilmiştir.

Çalışmamızda, egzersizin QR grubunda, kan HDL-K ve HDL_3-K düzeylerini, R taşıyıcılarında, HDL-K düzeylerini anlamlı olarak arttırdığı bulunmuştur ($p<0.05$). Bu bulgular Senti ve ark.'nın (21) çalışma sonuçlarına benzemektedir. QQ homozigot grubun HDL_2-K değerleri ise istatistiksel olarak bir anlamlılığa ulaşamamış olsa da sedanter fenotip grubunun (KQQ) değerlerinden daha büyük olarak saptanmıştır. QQ homozigotlarında bulunmamasına karşın, R taşıyıcılarında haftalık egzersiz saati ile $MaxVO_2$ ve HDL-K arasında anlamlı pozitif, TG ve TG/HDL-K oranı arasında anlamlı düzeyde pozitif, TG/HDL-K oranı ile HDL-K ve alt grupları arasında negatif korelasyonların bulunmuş olması, egzersizin R taşıyıcı grubunda TG katabolizmasını arttırmak suretiyle HDL-K seviyelerini arttırdığını, dolayısıyla R taşıyıcı grubunun egzersizden QQ homozigotlarına göre daha fazla yarar görmüş olabileceklerini ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar Senti ve ark.'nın çalışma sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda Senti ve ark.'nın çalışma sonuçlarınından farklı olarak; KKH klasik risk faktörleri açısından karşılaştırıldığında, QQ ve R kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunamazken, egzersiz yapan ve anlamlı olarak yüksek fitnes düzeyine sahip QQ homozigot grubunun HDL-K değeri düşük fitnes

düzeyine sahip kontrol R taşıyıcı grubuna kıyasla anlamlı olarak daha büyük, TG/HDL-K oranı ise anlamlı olarak daha küçük bulunmuştur ($p<0.05$

Çalışmamızda egzersiz yapan ve benzer fitnes ($MaxVO_2$) düzeyine sahip olan QQ homozigot ve R taşıyıcı grubu arasında KKH klasik risk faktörleri açısından anlamlı bir fark bulunamazken, Senti ve arkadaşları, egzersiz yapan ve benzer fiziksel aktivite düzeyine sahip olan R taşıyıcılarının TG düzeylerini QQ homozigot grubun değerinden anlamlı olarak daha küçük olduğunu tesbit etmişlerdir. KKH klasik risk faktörleri açısından, total, sporcu ve kontrol fenotip grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamasına karşın, egzersiz ve sedanter fenotip grupları arasında saptanmış olan farklılıkların temel nedeni, Senti ve ark.'nın (21) da belirtmiş oldukları gibi egzersiz ve PON1-192 polimorfizmi arasındaki bir etkileşim olabilir. Çünkü düzenli olarak yapılan fiziksel aktivite sonucunda lipid ve lipoproteinlerde meydana gelen değişikliklerinin çoğu lipoprotein lipaz (LPL) enzim aktivitesindeki artışlara bağlanmaktadır (94). LPL aktiviteleri, trigliseridden zengin lipoproteinlerin ve HDL-K seviyelerinin bir fizyolojik belirleyicisi olarak kabul edilirse, egzersiz ve PON1-192 polimorfizmi arasındaki bir etkileşimin LPL ve PON1 aktivitesi arasındaki ilişkiyi (95) modüle edebilmesi olası görünmektedir. Bu hipotez, toplumlar arasında lipid ve lipoprotein profilinde ve bu faktörlerle ilişkili olan KKH insidansındaki farklılıkların nedenlerini açıklamada bir dereceye kadar yardımcı olabilir.

Egzersizin NO, Hcy ve TBARS düzeyleri üzerine etkisini incelediğimizde: Egzersiz ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamakla birlikte, futbol grubu NO ve Hcy değerleri kontrol ve jogging grubu değerlerinden daha büyük, futbol grubu TBARS değerleri ise sadece kontrol grubu değerlerinden daha büyük olarak belirlendi. İki egzersiz grubu arasında fitness düzeyleri ($MaxVO_2$) açısından anlamlı bir fark olmamasına karşın, FG'nin NO değerleri KG ve JG ninkinden daha büyük bulunmasının nedeni futbolun, koşuya göre çok sayıda anaerobik nitelikteki kısa süreli maksimal koşular (sprint) içermesi olabilir. Çünkü NO salınımı hipoksi ve kas kasılmalarıyla indüklenmektedir (7,46). Bu da NO salınımı için futbolda tekrarlı uyarımların sıklığından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca total deneklerde fiziksel fitnes ($MaxVO_2$) düzeyleri ve dinlenik kan NO düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Bu sonuçlarımız Jurgensten ve arkadaşları (96)'nın sonuçları ile uyumludur.

Kısa süreli aerobik türdeki akut (96) ve kronik aerobik egzersizlerin bazal kan NO düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (97). Kingwell (7), kısa süreli (birkaç gün-birkaç haftalık) egzersizde bazal NO değerlerinde artış görülmekle birlikte, yıllar süren uzun süreli egzersizde NO düzeylerinde anlamlı artışların gözlemlenmediğini belirtmiştir. Bu sonucun altında yatan mekanizmayı şu şekilde açıklamaktadır; kısa süreli egzersizde aort, aktif ve inaktif kaslar ve koroner arterlerden bazal NO salınımı artmakta; artmış NO üretiminin daha sonraki kalıcı yapısal değişiklikler için bir geçiş yanıtı oluşturmakta, uzun süreli egzersizde yapısal değişiklikler oluşması nedeniyle akut NO artışlarına gereksinim kalmamaktadır.

Jogginge benzer şekilde orta şiddetteki ($MaxVO_2$ 'nin % 50 si) kronik aerobik egzersizlerin, NO biyoaktivitesi ve antioksidan kapasite üzerinde anlamlı düzeyde yararlı etkileri gözlenirken, çok daha yüksek şiddetteki kronik egzersizin NO biyoaktivitesi ve antioksidan kapasitesini negatif yönde etkilediği gösterilmiştir (98). Çalışmamızda serum nitrit, nitrat konsantrasyon sonuçlarını serbest radikal oluşumu yönünden değerlendirdiğimizde her iki uzun süreli egzersiz tipinin belirlediğimiz nitrik oksit metabolitlerinin artışına neden olmadığını söyleyebiliriz. Bu sonuçlar, uzun süreli egzersizin yol açtığı antioksidan kapasitedeki adaptif artışlardan kaynaklanıyor olabilir (64,65) Ayrıca çalışmamızda oksidan stresi belirten parametrelerden TBARS ve Hcy düzeylerinde anlamlı artışların bulunamamış olması bu sonuçları destekler niteliktedir.

Çalışmamızda kan Hcy düzeyleri açısından FG, JG ve KG arasında anlamlı bir fark olmamasına karşın, FG nin Hcy değerleri KG ve JG ninkilerden daha büyük bulunmuştur. Aerobik özellikteki akut bisiklet egzersizi (Yaş ort:22) (99) ve 17 hafta süren iki kez/hafta ve 45 dakika/gün olmak üzere yapılan beceri ağırlıklı fiziksel egzersiz (70 yaş üstü) sonucunda (100) plazma Hcy düzeylerinin anlamlı olarak değişmediği gözlenmiştir. Bu çalışma sonuçları, yapılan egzersizlerin tipi, çalışma planı ve denek özellikleri farklı olmasına rağmen bizim sonuçlarımız ile benzerlik göstermektedir.

Rinder ve ark (101) yaklaşık 68.5 yaşındaki endurans antremanlı erkek sporcuların, plazma Hcy düzeylerini bizim çalışmamızdan farklı olarak sedanter grubunkinden anlamlı olarak daha büyük bulmuşlardır. 63-65 yaş arası kadın ve erkek KKH'na sahip olan normolipidemik kişilerde (n=150): 12 haftalık bir kardiyak

rehabilitasyon ve egzersiz antrenmanı sonrasında, yalnızca yüksek Hcy düzeyine sahip (15 µmol/L ve daha büyük) grubun plazma düzeylerinde %12'lik bir düşme gözlenmiştir (102).

Belirtilen iki çalışma ve bizim çalışma sonuçları arasındaki farklılıklarda, deneklerimizin sadece sağlıklı kişilerden seçilmesi, normal plazma Hcy değerlerine (8.5±3.8 µmol/L) sahip olmaları, deneklerimizin yaşının diğer çalışmaya göre daha düşük (40-55 yıl) olması ve yapılan egzersizin tipi, yoğunluğu, süresi gibi faktörlerin rolü olabilir.

Antrene erkeklerde (n=43) maksimal kalp atım hızlarının %70-85'inde, 4 hafta süreyle haftada üç kez yapılan hipoksik ve normoksik bisiklet egzersleri sonucunda, plazma Hcy düzeylerinin hipoksik antrenmanla anlamlı olarak düşerken, normoksik olanla arttığı tesbit edilmiştir (103). Bizim çalışmamızda futbolun koşuya göre daha anaerobik nitelikte olmasına rağmen, her ikisi için de Hcy düzeylerinde anlamlı bir değişikliğin bulunmamasının nedenleri, kullanılan egzersizlerin tipi, süresi ve frekansının farklı ve belirtilen çalışmada hipoksik ortamın özel olarak hazırlanmış olması gibi faktörler olabilir. Yapılan bir çalışmada haftalık antrenman saati daha fazla olan egzersiz grubunda plazma Hcy ve folat düzeyleri, daha az olana göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (104). Ancak anaerobik nitelikteki sprint koşularından sonra, antreman saatinden bağımsız olarak tüm sporcularda Hcy düzeyleri artmıştır ($p<0.001$). Bizim çalışmamızda FG ve JG nin haftalık toplam egzersiz saatleri arasında anlamlı bir fark bulunmamasına karşın futbol grubunun Hcy düzeylerinin büyük olmasında, futbolun anaerobik özelliğinin etkisinin olduğu düşünülebilir.

Sonuç olarak:

- ***Sağlıklı yaşam amacıyla yapılan düzenli, uzun süreli ve temel olarak aerobik nitelikteki jogging ve anaerobik nitelikteki futbol egzersizlerinin:***

*KKH klasik risk faktörleri üzerinde iyileştirici etkileri bulunmuştur. Ancak futbol, jogginge göre daha az antiaterosklerotik bir doğaya sahiptir.

*Kan PON1 ve AREST aktiviteleri, NO, Hcy ve TBARS düzeyleri üzerinde etkisi bulunmamaktadır.

- ***PON1-192 polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde sağlıklı yaşam amacıyla yapılan düzenli, uzun süreli egzersizin:***

- QQ homozigot kişilerde PON1 aktivitesini arttırırken, R taşıyıcılarında düşürmesi, R taşıyıcılarında HDL-K düzeyleri açısından iyileştirici bir etki göstermesi PON1-192 polimorfizmi ile egzersiz arasında bir etkileşimin sonucu ortaya çıkmış olabilir.
- AREST aktivitesi üzerinde etkisi bulunmamaktadır.

➢ ***Egzersiz faktörü göz önüne alınmadan değerlendirildiğinde***:

*KKH klasik risk faktörleri ile PON1-192 polimorfizmi arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Sonuçlarımız ışığında, sağlıklı yaşam amacıyla uzun süreli yapılan aerobik türdeki jogging egzersizinin koroner kalp hastalığı riski açısından futbola göre daha koruyucu olabileceği; bu etkinin PON1-192 polimorfizm ile modifiye edillebileceği söylenebilir. Bu nedenle kişilerin hangi fenotip grubuna dahil olduklarını bilmeleri nin egzersiz programlarının belirlenmesinde yol gösterici olabileceği düşüncesindeyiz. Bu çalışmanın bu konuda yapılacak diğer çalışmalar için bir temel oluşturacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKÇA

1. Mahley RW. Aterogenezin Hücresel ve Moleküler Biyolojisi (Çev.: Gökdemir O, Paloğlu KE). İstanbul: Merck, Sharp and Dohme Yayınları; 1993.
2. Thompson GR. Hiperlipidemi El Kitabı (Çev. Editör: Tamuğur E). İstanbul: Merck, Sharp and Dohme, Uycan Yayınları AŞ.; 1991.
3. Superko HR: Exercise training, serum lipids, and lipoprotein particles. is there a change threshold? Med Sci Sports Exerc 1991; 23 : 677-85.
4. Walker CH ,Mackness MI. Esterases which can hydrolyse organaphosphates without being inhibited by them are termed A esterases. Arch Toxicol 1987; 60: 30-33.
5. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. FEBS Lett 1991; 286: 152-154.
6. Mackness MI, Arrol S, Abbott CA, Durrington PN. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. Atherosclerosis 1993; 104:129-135.
7. Kingwell BA. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disase.The FASEB j 2000; 14:1685-1696.
8. Reid MB. Nitric oxide, reactive oxygen species, and skeletal muscle contraction .Med Sci Sports Exerc 2001; 33(3):371-376.
9. Nygard O, Vollset SE, RefsunH et.al. Total plasma homocystein and cardivascular risk profile.The Hordaland study. Jama 1995; 15:274(19):1526-33.
10. Qujeg D, Omran TS, Hosini L. Correlation between total homocysteine,low-density lipoprotein cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol in the serum of patients with myocardial infarction. Clinical biochemistry 2001; 34:97-101.
11. Saw SM ,Yan JM,Ong JN et al. Genetic, dietary, and other lifestyle determinants of plasma homocysteine concentrations in middle-aged and older Chines men and Women in Singapore. Am J Nutr 2001; 73:232-9.

12. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La DU BN. Purification of human paraoxonase /arylesterase: evidence for one esterase catalyzing both activities. Drug Metab Disp 1991; 19:100-106 .
13. Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. J Mol Med 2003; 81(12):766-79.
14. Navab M, Judith AB, Andrew D et.al. The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology 1996; 16:831-42.
15. Gilbert r, Upchurch JR, George N et al. Homocysteine decreases biovailaible Nitric Oxide by a Mechanism involving Glutatione Peroxidase. Am Society Biochem Moleculer Biology 1997; 272:17012-17.
16. Jakubowskı H. Protein homocysteinylation: possible mechanism underlying pathological consequences of elevated homocystein levels. Faseb J 1999; 13:2277-83.
17. Jakubowskı H. Homocysteine Thiolactone :Metabolic origin and protein homocysteinylation in humans. J of Nutrition 2000; 130:377S-381S.
18. Jakubowskı H. Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. J Biol Chem 2000; 275(6):3957-62.
19. Durrington PN, Mackness B, Mackness ML . Paraoxonase and Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2001; 21(4):473-80. Review.
20. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human Serum Paraoxonase. General Pharmacology 1998; 31(3): 329-36.
21. Senti M, Aubo C, Elosue R,et al. Effect of physical activity on lipid levels in a population-based sample of men with and without the Arg 192 variant of the human paraoxonase gene. Genet Epidemiol 2000; (3):276-86.
22. Salonen JT, Salonen R, Seppanen K, Rauramaa R, Tuomilehto J. HDL, HDL_2, and HDL_3 subfractions, and the risk of acute myocardial infarction. Circulation 1991; 84: 129-39.
23. Shephard RJ . Biochemistry of Physical Activity. Springfield, Illinois USA : Charles C Thomas Publ; 1984.
24. Turgay F: Aerobik ve Anaerobik Eşik Hızlarında Yapılan İki Değişik Egzersizin Kan Lipid ve Lipoproteinleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir, 1997.

25.Tomas M, Elosua R, Senti M, Molina L, Vila J, Anglada R, Fito M, Covas MI,and Marrugat J. Paraoxonase 1-192 polymorphism modulates the effects of regular and acute exercise on paraoxonase 1 activity. J Lipid Research 2002; 43: 713-720

26.Burtis CA and Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia: WB Saunders Co ; 1999.

27.Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. Harper'ın Biyokimyası (Çev.: Menteş G, Ersöz B).İstanbul: Barış Kitabevi; 1993.

28.Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connely PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. Cur Opin Lipid 1996, 7: 69-76.

29.Adkins S, Gan KN, Mody M, La Du BN. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: Glutamine or arginine at position 191, for the respective A ör B allozymes. Am J Hum Genet 1993, 52: 598-608.

30.Draganov DI and DU BNL. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2004; 369(1):78-88.

31.La Du BN, Adkins S, Kuo CL, Lipsig D. Studies on human serum paraoxonase/ arylesterase. Chem Biol Interactions 1993; 87: 25-34.

32. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La Du BN. Human serum Paraoxonase/arylesterase' s retained hydrophobic N terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids. Thromb Vasc Biol 1999; 19: 2214-2225.

33.Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/ arylesterase polymorphism. Am J Hum Genet 1983; 35(6): 1126-38.

34.Aviram M, Rosenblot M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo L, La Du BN. Paraoxonase inhibits high density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. J Clin Invest 1998; 101(8): 1581-1590.

35.Geldmacher v Mallinckrodt M, Diepgen TL, Duhme C, Hommel G. A study of the polymorphism and ethnic distribution differences of human serum paraoxonase. Am J Phys Anthropol 1983; 62(3): 235-41.

36.Hernandez AF, Gonzalvo MC, Gil F, Rodrigo L, Villanueva E, Pla A. Distribution profiles of paraoxonase and cholinesterase phenotypes in a Spanish population. Chem Biol Interact 1999; 119-120:201-9.

37.Williams FM, Mutch E, Blain PG. Paraoxonase distribution in Caucasian males. Chem Biol Interact 1993; 87(1-3):155-60.

38.Senti M, Tomas M, Annglada R, et al. Interrelationship of smoking, paraoxonase activity, and leisure time physical activity: a population-based study. Eur J Int Med 2003; **14:** 178-84.

39.Sutherland WHF, VValker RJ, Jong SA, Van Rij AM, Phillips V, VValker HL. Reduced postprandial serum paraoxonase activity after a meal rich in used cooking fat. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999; 19: 1340-1347.

40.Van der Gaag MS, Van Tol A, Scheek LM, James RW, Urgert R, Schaafsma G, Hendriks HFJ.*S* Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet controlled, randomised intervention study in middle aged man. Atherosclerosis 1999; 147: 405-410.

41.Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. Am J Hum Genet 1983; 35(2): 214-27.

42.Aynacıoğlu AS, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Nacak M, Tapanyiğit EE, Roots I. Paraoxonase I mutations in a Turkish population. Toxicol and Appl Pharmacol 1999; 157: 174-17.

43.Salonen JT, Malin R, Tuomainen TP, Nyssönen K, Lakka TA, Lehtimaki T.Polymorphism in high density lipoprotein paraoxonase gene and risk of acute myocardial infarction in men: prospective nested case- control study. BMJ 1999; 319(7208): 487-489.

44.Cao H, Globa AGi, Berthezene F, Moulin P. Paraoxonase protection of LDL against peroxidation is independent of its esterase activity towards paraoxon is unaffected by the Q ->• R genetic polymorphism. J Lipid Res 1999; 40: 133-139.

45.Ellis G, Adatia I, Yazdanpanah M, Makela SK. Nitrite and nitrate analyses: a clinical biochemistry perspective. Clin Biochem 1998; 31(4):195-220. Review.

46.Stamler JS, Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. Physiol Rev 2001; 81(1):209-237. Review.

47.Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. N Engl J Med. 1993; 30;329(27):2002-12.

48.Cannon RO. Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on the endothelium. Clin Chem. 1998; 44(8 Pt 2):1809-19. Review .

49.Britten MB, Zeiher AM, Schachinger V. Clinical importance of coronary endothelial vasodilator dysfunction and therapeutic options. J Intern Med 1999; 245(4):315-27. Review.

50.Welch GN, Loscalzo J.Homocysteine and atherothrombosis. N Engl J Med 1998; 338(15):1042-50.

51.Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan Biyokimyası. Ankara : Palma Yayıncılık ; 2002.

52.Mudd SH, Uhlendorf BW, Freeman JM, Finkelstein JD, Shih VE. Homocystinuria associated with decreased methylenetetrahydrofolate reductase activity. Biochem Biophys Res Commun 1972; 46:905-912.

53.Brattström L, Israelsson B, Lindgärde F, Hultberg B. Higher total plasma homocysteine in vitamin B_{12} deficiency than in heterozygosity for homocystinuria due to cystathionine ß synthase deficiency. Metabolism 1988; 37:175-178.

54.Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. JAMA 1993;270:2693-2698.

55.Vermaak WJ, Ubbink JB, Barnard HC, Potgieter GM, van Jaarsveld H, Groenewald AJ. Vitamin B_6 nutrition status and cigarette smoking. Am J Clin Nutr 1990; 51:1058-1061.

56.Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. JAMA 1995; 274:1049-1057.

57.McCully KS. Homocysteine and vascular disease. Nat Med 1996; 2:386-389.

58.Jakubowski H. Metabolism of homocysteine thiolactone in human cell cultures: possible mechanism for pathological consequences of elevated homocysteine levels. J Biol Chem 1997; 272:1935-1942.

59.Naruszewicz M, Mirkiewicz E, Olszewski AJ, et al. Thiolation of low-density lipoprotein by homocysteine thiolactone causes increased aggregation and altered interaction with cultured macrophages. Nutr Metab Cardiovasc Dis 1994;4:70-77.

60.White BC, Grossmann LI, and Kause GS. Brain injury by global ischemia and reperfusion: a atheroretical perspective on membrane damage and repair. Neurology 1993; 43: 1656-65.

61.İşlekel H. Deneysel global penumbral ve global derin beyin iskemi-reperfüzyonunun lipid peroksidasyonu katepsinler ve antioksidan enzimler üzerine etkisinin

incelenmesi. Doktora tezi. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Biyokimya Ana Bilim Dalı; 1996.

62.Krause GS, Joyce KM, Nayini RN, Zonia CL and Garritano AM. Cardial arrest and resuscitiation : Brain iron delocalization during reperfusion. Annals of Emergency Medicine 1985; 14: 1037-43.

63.Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem 1995; 41 (12) : 1819-28.

64.Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? Am J Clin Nutr. Review 2000 ; 72(2 Suppl):637S-46S.

65.Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicology 2003; 15;189(1-2):41-54. Review.

66.Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress.Circ Res. Review 2000 ; 87(10):840-4.

67.Akgün N. *Egzersiz Fizyolojisi*, Cilt I ve II, 4. baskı.İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi; 1993.

68.Astrand PO, Rodahl K. Textbook of Work Physiology. New York: McGraw Hill Co; 1986.

69.Tran ZV, Weltman A, Glass GV, Mood DP. The effects of exercise on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis of studies. Med Sci Sports Exerc 1983; 15: 393-402.

70.Jurimae T, Sudi K, Payerl D, Leppik A, Jurimae J, Muller R, Tafeit E. Relationships between bioelectric impedance and subcutaneous adipose tissue thickness measured by LIPOMETER and skinfold calipers in children. Eur J Appl Physiol 2003; 90(1-2):178-84.

71.Passarge E. Renkli genetik atlası. (Çev: Lüleci G, Sakızlı M, Alper Ö). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000: 148-150.

72.Najwa KC, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by kinetic cadmium – reduction method. Clin Chem 1990; 36(8): 1440-43.

73.Yu HH, Joubran R, Asmi M, Law T, Spencer A, Jouma M, Rifai N. Agreement among four homocysteine assays and results in patients with coronary atherosclerosis and controls. Clin Chem 2000; 46(2):258-64.

74.Meijer EP, Goris AH, van Dongen JL, Bast A, Westerterp KR. Exercise-induced oxidative stress in older adults as a function of habitual activity level. J Am Geriatr Soc 2002; 50(2):349-53.

75.Liu J, Yeo HC, Doniger SJ, Ames BN. Assay of aldehydes from lipid peroxidation: gas chromatography-mass spectrometry compared to thiobarbituric acid. Anal Biochem 1997; 245(2):161-6.

76.Kostner GM, Molinari E, Pichler P: Evaluation of a new HDL_2/HDL_3 quantitation method based on precipitation with polyethylene glycol. Clin Chim Acta 1985; 48: 139-47.

77.Friedewald WT, Levy RI, and Fredrickson DS. Estimation of concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18: 499-503.

78.Gilbert R, Upchurch JR,George N et al. Homocysteine decreases biovailaible Nitric Oxide by a Mechanism involving Glutatione Peroxidase.Am Society Biochem Moleculer Biology 1997; 272:17012-17.

79.Qujeg D,Omran TS,Hosini L:Correlation between total homocysteine,low-density lipoprotein cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol in the serum of patients with myocardial infarction.Clinical biyochemstry, 34:97-101,2001.

80.Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress.Circ Res. Review 2000; 87(10):840-4.

81.Nakamura N, Kobori S, Uzama H, Maeda H. The effects of regular jogging on the time course of serum high density lipoprotein cholesterol level. J Sport Card 1983; 2: 55-60.

82.Lehtonen A, Viikari J. Serum lipids in soccer and ice-hockey players. Metabolism 1980; 29(1):36-9.

83.Dansou P, Tolly PL, Yehouenou B, Tossou R, Hadonou ML. The effect of soccer training on the levels of atherosclerotic lipids in the blood of obese subjects. Sante 2000; 10(6):393-7.

84.Ferre N, Camps J, Fernandez-Ballart J, Arija V, Murphy MM, Ceruelo S, Biarnes E, Vilella E, Tous M, Joven J. Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population. Clin Chem 2003; 49(9):1491-7.

85.Senti; M, Tomas M, Anglada R, Elosua R, Marrugat J, Covas MI, Fito M. Interrelationship of smoking, paraoxonase activity, and leisure time physical activity: a population-based study. Eur J Intern Med 2003; 14(3): 178-184.

86.Aviram, M., M. Rosenblat, S. Billecke, J. Erogul, R. Sorenson, C. L. Bisgaier, R. S. Newton, and B. La Du. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by

oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. Free Radic Biol Med 1999; 26: 892–904.

87.Sutherland WH, Manning PJ, de Jong SA, Allum AR, Jones SD, Williams SM. Hormone-replacement therapy increases serum paraoxonase arylesterase activity in diabetic postmenopausal women. Metabolism 2001; 50(3):319-24.

88.Selamoglu S, Turgay F, Kayatekin BM, Gonenc S, Yslegen C. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. Acta Physiol Hung 2000;87(3):267-73.

89.Brites FD, Evelson PA, Christiansen MG, Nicol MF, Basilico MJ, Wikinski RW, Llesuy SF. Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status. Clin Sci (Lond) 1999 ; 96(4):381-5.

90.Boright AP, Connelly PW, Brunt JH, Scherer SW, Tsui L-C, Hegele RA. Genetic variation in paraoxonase-1 and paraoxonase-2 is associated with variation in plasma in Alberta Hutterites. Atherosclerosis 1998; 139: 131-136.

91.Hegele RA, Brunt JH, Connelly PW. A polymorphism of the paraoxonase gene associated with variation in plasma lipoproteins in a genetic isolate. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995; 15: 89-95.

92.Antikainen M, Murtomaki S, Syvanne M, Pahlman R, Tahvanainen, Jauhiainen M,FrickMH,Ehnholm C. The Gln-Arg 191 polymorphism of the human paraoxonase gene (HUMPONA) is not associated with the risk of coronary artery disease in Finns.J.Clin Invest 1996; 98(49):883-885.

93.Sanghera DK, Saha N, Aston CE, Kamboh MI. Genetic polymorphism of paraoxonase and the risk of coronary heart disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997; 17: 1067-1073.

94.Weintraub M, Rosen Y, Otto R, Eisenberg S, Breslow J. Physical exercise conditioning in the absence of weight loss reduces fasting and postprandial triglyceride-rich lipoprotein levels. Circulation 1989; 79: 1007-1014.

95.Nevin DN, Zambon A, Furlong CE, Richter RJ, Humbert R, Hokanson JE, Brunzell JD. Paraoxonase genotypes, lipoprotein lipase activity, and HDL. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1996; 16(10):1243-9.

96.Jungersten L, Ambring A, Wall B, Wennmalm A. Both physical fitness and acute exercise regulate nitric oxide formation in healthy humans. J Appl Physiol. 1997; 82(3):760-4.

97.Vassalle C, Lubrano V, Domenici C, L'Abbate A. Influence of chronic aerobic exercise on microcirculatory flow and nitric oxide in humans. Int J Sports Med 2003; 24(1):30-5.

98.Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, Kawamura M, Chayama K, Yoshizumi M, Nara I. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. Circulation. 2003; 5;108(5):530-5.

99.Cree DC, Whitting PH, Cole H: Interactions between homocysteine and nitric oxide during acute submaximal exercise in adult males. Int J Sports Med 2000; 21: 256-62.

100. De Jong N, Chin A Paw MJ, de Groot LC, Rutten RA, Swinkels DW, Kok FJ, van Staveren WA. Nutrient-dense foods and exercise in frail elderly: effects on B vitamins, homocysteine, methylmalonic acid, and neuropsychological functioning. Am J Clin Nutr 2001; 73(2):338-46.

101.Rinder MR, Spina RJ, Ehsani AA. Enhanced endotelium-dependent vasodilation in older endurance-trained men. J Appl Physiol 2000; 88(2): 761-6. 102. Ali A, Mehra MR, Lavie CJ, et al. Modulatory impact of cardiac rehabilitation on hyperhomocysteinemia in patients with coronary artery disease and normal lipid levels. Am J Cardiol1998; 82: 1543-5.

103. Bailey DM, Davies B, Baker J. Training in hypoxia: modulation of metabolic and cardiovascular risk factors in mn. Med Sci Sports Exerc 2000; 32: 1058-66.

104.Konig D, Bisse E, Diebert P,Muller HM, W,eland H, Berg A. Influence of training volume and acute physical exercise on homocysteine levels in endurance – trained men: interactions with plasma folate and vitamin B12. Ann Nutr Metab 2003; 47(3-4): 114-8.

EK 1: DENEKLERE VERİLEN FORM ÖRNEĞİ

ADI SOYADI:	
DOĞUM TARİHİ:	
ADRESİ	
TEL. NO:	
MESLEĞİ VE EĞİTİM DURUMU :	
CİNSİYETİ:	
SİGARA İÇİYORSA GÜNDE KAÇ ADET İÇİYOR?	
NE KADAR SÜREDİR SİGARA İÇİYOR?	
ALKOL KULLANIYORSA NE SIKLIKLA İÇİYOR?	
KAÇ YILDIR ALKOL KULLANIYOR?	
HERHANGİ BİR ÖNEMLİ HASTALIK GEÇİRMİŞ Mİ YA DA ŞU ANDA HASTA MI?	
DEVAMLI KULLANDIĞI BİR İLAÇ VAR MI?	
AİLESİNDE 55 YAŞINDAN ÖNCE KALP KRİZİ GEÇİREN VARMI ?	
AİLESİNDE KALP VEYA BAŞKA BİR CİDDİ HASTALIĞI OLAN VARMI ?	
KAÇ YILDIR SPOR YAPIYOR?	
HANGİ TİPTE VE NE SIKLIKTA BİR SPOR YAPIYOR?	

EK 2: BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Çalışmanın amacı, biri futbol oyunları diğeri ise koşu ve jogging şeklinde yapılan iki farklı egzersizin orta yaşlı erkeklerde, koroner kalp hastalığı risk faktörü olarak kabul edilen kan paraoksonaz aktiviteleri ile homosistein amino asid ve nitrik oksid düzeyleri üzerine etkilerini ve bu parametreler arasındaki etkileşimleri incelemektir. Bu çalışmaya katılmanız halinde genel bir tıbbi muayeden geçirilecek EKG 'niz çekilecektir. Uygun bulunduğu takdirde size verilcek bir randevuya göre sadece bir kez submaksimal (orta şiddette) bir bisiklet egzersizine tabi tutulacaksınız. Bu testler 12 saatlik bir açlık sonrası yapılacaktır. Bu egzersiz ısınma dahil yaklaşık 15-20 dakika kadar sürecektir. Bu her sağlıklı insanın yapabileceği ölçüde bir efor olup sağlık açısından herhangi bir tehlike oluşturmamaktadır. Ancak efor sırasında herhangi bir sıkıntı ya da rahatsızlık duymanız halinde bunu testi yapan doktora hemen bildirmelisiniz. Egzersiz testine girmeden önce 10 dakika oturarak istirahat esnasında nabız ve tansiyonunuz ölçülecek ve kol damarınızdan yaklaşık 15 mL kan alınacaktır. Bu miktarda kan vermenin size sağlık açısından herhangi bir zararı olmayacaktır. Testler esnasında hasta olmanız halinde teste ara verilerek başka bir zamana bırakılacaktır.

Bu testlere katılmanız size ilave bir mali yük getirmeyecektir. Bu testler sonrasında elde edilecek verileri, isminizi kullanmaksızın bilimsel araştırmalarda kullanabilmemiz için onayınız gerekmektedir. Bu araştırırmaya katılıp katılmamakta özgürsünüz. Konu ile ilgili sormak istediğiniz konular için mesai saatleri içinde 0232 4625587 yada 4623651 mesai dışında ise 0232 3781737 no lu telefonlardan Faruk TUGAY'ı arayabilirsiniz.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi, gereken bilgileri içeren metni okudum. Uygulamalar hakkında yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarda bu araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Denek adı ve soyadı:

Açıklamaları yapan araştırmacı:

Rıza işlemine tanıklık eden kişi Tarih. / /