



**FARKLI EGZERSİZLER UYGULANAN RATLARDA
KOENZİM Q10 TAKVİYESİNİN SERUM, KALP KASI ve İSKELET
KASLARINDA TÜMSTATİN EKPREZYONLARINA ve LİPİT
PROFİLİNE ETKİSİ**

Yavuz YASUL

BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Faruk AKÇINAR
Prof. Dr. Vedat ÇINAR**

Doktora Tezi - 2021

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI EGZERSİZLER UYGULANAN RATLARDA KOENZİM Q10
TAKVİYESİNİN SERUM, KALP KASI ve İSKELET KASLARINDA
TÜMSTATİN EKPREZYONLARINA ve LİPİT PROFİLİNE ETKİSİ**

Yavuz YASUL

**Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanları
Doç. Dr. Faruk AKÇINAR
Prof. Dr. Vedat ÇINAR**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2209 proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2021**

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak “Doç. Dr. Faruk AKÇINAR, Prof. Dr. Vedat ÇINAR” danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “Farklı Egzersizler Uygulanan Ratlarda Koenzim Q10 Takviyesinin Serum, Kalp Kası ve İskelet Kaslarında Tümstatin Ekspresyonlarına ve Lipit Profiline Etkisi” başlıklı doktora tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim./...../2021

Yavuz YASUL

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Egzersiz.....	3
2.2. Egzersiz Türleri.....	4
2.2.1. Aerobik Egzersiz.....	4
2.2.2. Anaerobik Egzersiz.....	4
2.3. Besinsel Ergojenik Destekler.....	5
2.3.1. CoQ10 (Ubiquinon).....	5
2.3.2. CoQ10'in Kimyasal Yapısı.....	6
2.3.4. CoQ10'in Biyosentezi.....	6
2.3.5. CoQ10'in Emilimi.....	7
2.3.6. CoQ10 ve Egzersiz.....	7
2.4. Damar Filizlenmesi ve Bölünmesi.....	8
2.4.1. Anjiyogenez.....	9
2.4.2. Anjiyogenezin Tarihsel Hikâyesi ve Tanımı.....	9
2.4.3. Anjiyogenez Mekanizmasının Yapısal Temelleri.....	9
2.4.4. Villöz Damar Gelişim Süreci ve Yapısı.....	9
2.4.5. Vasküler Gelişimin Yapısal Özellikleri.....	10
2.4.6. Anjiyogenezin Moleküler Regülasyonu.....	10
2.5. Egzersiz ve Anjiyogenez İlişkisi.....	13
2.5.1. Egzersizin Anjiyogenez Üzerindeki Fiziksel Etkileri.....	15
2.5.2. Egzersiz Şiddeti ve Süresinin Anjiyogenez Mekanizması Üzerindeki Etkisi.....	17
2.6. Anjiyogenez ve Baskılayıcı Moleküller.....	19
2.6.1. Tümstatin.....	19
2.6.2. Egzersiz ve Tümstatin İlişkisi.....	21
3. MATERYAL ve METOT.....	24

3.1. Araştırma Modeli.....	24
3.2. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri	24
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	25
3.4. Egzersiz Uygulaması	26
3.5. CoQ10 Hazırlanması ve Takviyesi.....	27
3.6. Ağrlık Takibi.....	29
3.7. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Alınması	29
3.8. Serum ile Kalp ve İskelet Kası Tümstatinin Belirlenmesi.....	29
3.9. Histolojik Çalışmalar	30
3.9.1. Doku Takibi ve Kesitlerin Alınması.....	30
3.9.2. İmmünohistokimyasal Boyama Metodu.....	32
3.10. Biyokimyasal Çalışmalar	33
3.10.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması ve Saklanması.....	33
3.10.2. Serum ve Doku Homojenatlarında Tümstatin Tayini.....	34
3.10.3. Lipit Profilinin Belirlenmesi	34
3.10.4. Tümstatin / COL4A3	34
3.11. Verilerin İstatistik Analizleri.....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. Canlı Ağrlık Bulguları	36
4.2. Biyokimyasal Bulgular	38
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular	44
4.3.1. Kalp Kası Dokusuna Ait Bulgular.....	44
4.3.2. İskelet Kası Dokusuna Ait Bulgular.....	48
5. TARTIşMA	53
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	67
EKLER	81
EK-1. Özgeçmiş	81
EK-2. Etik Kurul Kararı	82
EK-3. BAP Proje Bütçe Detayları.....	83

TEŐEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez s¼recim boyunca bilgi ve deneyimlerini ¼zveriyle benimle paylaŐan ve yetiŐmemi sağlayan, bilim insanı kiŐiliđiyle ¼rnek aldığım, ¼đrencisi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum saygıdeğer danıŐmanlarım Doç. Dr. Faruk AKÇINAR ve Prof. Dr. Vedat ÇINAR'a,

Tez konumun belirlenmesinden tezimin sonuçlanmasına kadar mesleki bilgi ve birikimlerini benimle paylaşarak tezime zenginlik katan ve tecr¼belerinden faydalanırken g¼stermiŐ olduğu sabır ve hoŐg¼r¼den dolayı Prof. Dr. S¼leyman AYDIN'a,

Ayrıca, birlikte ¼alıŐmaktan her zaman mutluluk duyduğum Doç. Dr. Taner AKBULUT'a, Dr. Mehmet Hanifi YALÇIN'a, ArŐ. Gör. İsa AYDEMİR'e, ArŐ. Gör. Emsal Çağla AVCU'ya, doktorant B¼Őra YILMAZ'a ve Dyt. M.Enes YASUL'a,

Sabrı ve ¼zerimdeki emekleri i¼in kıymetli aileme,

Tez ¼alıŐmamı destekleyen İn¼n¼ niversitesi Bilimsel Araştırma ve Projelendirme Birimine,

En i¼ten duygularımla teŐekk¼r ederim.

Yavuz YASUL

ARALIK 2021

ÖZET

Farklı Egzersizler Uygulanan Ratlarda Koenzim Q10 Takviyesinin Serum, Kalp Kası ve İskelet Kaslarında Tümstatin Ekspresyonlarına ve Lipit Profiline Etkisi

Amaç: Bu çalışma sıçanlara koenzim Q10 (CoQ10) takviyesi ile birlikte uygulanan farklı yoğunluktaki egzersizlerin tümstatin ekspresyon düzeyleri ve sıçan lipit profili üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot: Yapılan deneysel çalışmada 42 adet 8 haftalık erişkin Wistar albino ırkı erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele kontrol, CoQ10 takviye, aerobik ve anaerobik egzersiz, aerobik CoQ10, anaerobik CoQ10 takviye+egzersiz şeklinde 6 gruba ayrıldı. Tüm gruplar (kontrol ve CoQ10 grubu hariç) ilk haftayı koşu bandına ve egzersiz protokolüne hazırlık evresi olarak geçirdi. CoQ10 takviyesi gavaj yöntemi ile verildi. Tüm sıçanlara ait serum örnekleri, iskelet ve kalp kası dokuları -80 °C’de muhafaza edildi ve tümstatin seviyeleri ELISA yöntemiyle tespit edildi. Histolojik çalışmalar için ise sıçanlardan alınan iskelet ve kalp kası dokuları formaldehitte tespit edildi ve takip serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom ile 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı ve alınan kesitler immünohistokimya metodu ile boyandı. Boyanan preparatlar araştırma mikroskopunda incelendi ve fotoğraflandı.

Bulgular: Çalışmanın sonunda sıçan canlı ağırlıkları, serum HDL, VLDL, trigliserit ve kolesterol seviyeleri gruplar arasında anlamlı düzeyde farklıydı. Yine kalp ve iskelet kası homojenatlarındaki tümstatin seviyelerinde gruplar arasında anlamlı farklılıklar izlendi. Bu farklılıklar immünohistokimya metodu ile boyanan preparatlar tarafından desteklendi.

Sonuç: Çalışmada, egzersiz yoğunluğu ve CoQ10 takviyesi lipit profilini önemli düzeyde etkileyerek HDL, VLDL, trigliserit ve kolesterol seviyelerini iyileştirdiği gözlemlendi. Ayrıca egzersiz yoğunluğu ve CoQ10 takviyesi tümstatin salınım düzeyini de etkiledi. Dolayısıyla bu etki kalp ve iskelet kasında anjiyogenezi yeniden modelledi.

Anahtar Kelimeler: Egzersiz, Lipit, CoQ10, Tümstatin, Anjiyogenez, VEGF, MMPs

ABSTRACT

The Effects of Coenzyme Q10 on Tumstatin Expression and Lipid Profile in Serum, Cardiac Muscle Muscles and Skeletal Muscles of Rats Implemented with Different Exercise

Aim: This study was conducted to determine the effects of exercises with different intensities, which were implemented to rats with coenzyme Q10 (CoQ10) supplementation, on tumstatin expression levels and lipid profile levels.

Material and Method: In this experimental study, 42 8 weeks old adult male Wistar albino rats were used. Rats were randomly divided into 6 groups as control, CoQ10 supplementation, aerobic and anaerobic exercise, aerobic CoQ10, anaerobic CoQ10 supplementation+exercise. All rats (except for the control and CoQ10 groups) spent the first week in preparation for the treadmill and exercise protocol. CoQ10 supplementation was administered by the gavage method. Serum samples, skeletal, and cardiac muscle tissues of the rats were stored at -80 °C and tumstatin levels were measured by ELISA method. For the histological studies, skeletal and cardiac muscle tissues from rats were analyzed in a formaldehyde solution and embedded in paraffin blocks after passing through follow-up series. From the paraffin blocks, sections with 5-6 µm thicknesses were extracted via microtomes and the sections were dyed according to the immunohistochemistry method. The dyed slides were examined and photographed under a research microscope.

Results: At the end of the study, body weights, serum HDL, VLDL, triglyceride and cholesterol levels of the rats were significantly different between the groups. Additionally, significant differences were observed between the groups in tumstatin levels in terms of the heart and skeletal muscle homogenates. These differences were supported by the slides dyed according to the immunohistochemistry method.

Conclusion: In our study, it was observed that exercise intensity and CoQ10 supplementation significantly affected the lipid profile, improving HDL, VLDL, triglyceride, and cholesterol levels. Furthermore, exercise intensity and CoQ10 supplementation affected the level of tumstatin expression. It was observed that the angiogenesis was remodeled in the heart and skeletal muscles thanks to these effect.

Keywords: Exercise, Lipid, CoQ10, Tumstatin, Angiogenesis, VEGF, MMPs

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AE	: Aerobik Egzersiz
AnE	: Anaerobik Egzersiz
AnECoQ10	: Anaerobik Egzersiz + CoQ10
AECOQ10	: Aerobik Egzersiz + CoQ10
ATP	: Adenozin Trifosfat
BM	: Bazal Membran
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
COL4A1	: Tümstatin
CoQ10	: Koenzim Q10
ECM	: Ekstraselüler Matriks
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
FFA	: Serbest Yağ Asitleri
K	: Kontrol
LA	: Laktik Asit
mRNA	: Mesajcı RNA
MUFA	: Tekli Doymamış Yağ Asitleri
HIIT	: Yüksek Yoğunluklu İnterval Antrenman
HIF	: Hipoksi İndüklenen Faktör
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
TG	: Trigliserit
PAD	: Periferik Arter Hastalığı
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 1: Farklı dokularda CoQ10 seviyesi	7
Şekil 2: İnsan plasentası gelişimde vaskülogenez ve anjiyogenez	11
Şekil 3: VEGF ailesinin moleküler mekanizması	12
Şekil 4: Egzersiz ve anjiyogenez ilişkisi	16
Şekil 5: Egzersiz, tümstatin ve anjiyo modellenme ilişkisi	22
Şekil 6. Egzersiz protololu	26
Şekil 7. Gavaj uygulaması	28
Şekil 8. Ağırlık takibi	29
Şekil 9. Dokuların alınması ve muhafazaya edilmesi	29
Şekil 10. Kaset içerisine alınmış kalp ve iskelet kası dokuları	30
Şekil 11. Kalp ve iskelet kası dokularının parafin bloklara gömülmesi	31
Şekil 12. Kalp kası dokusunu homojenizatör yuvasına yerleştirmesi	33
Şekil 13. Homojenize olmuş kalp kası	34
Şekil 14. Örnek ekme işlemi	34
Şekil 15. 6 haftalık ağırlık değişimi	37
Şekil 16. Kan serum lipit düzeyleri	39
Şekil 17. AnaE grup kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi	44
Şekil 18. CoQ10 grup kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi	45
Şekil 19. K grup kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi	45
Şekil 20. AE grup kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi	46
Şekil 21. AECQ10 grubu kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi	46
Şekil 22. AnaECQ10 grubu kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi	47
Şekil 23. Negatif kontrol grubu kalp kası	47
Şekil 24. AECQ10 grubu iskelet kası tümstatin immünreaktivitesi	48
Şekil 25. AE grubu iskelet kası tümstatin immünreaktivitesi	49
Şekil 26. K grubu iskelet kası tümstatin immünreaktivitesi	49
Şekil 27. CoQ10 grubu iskelet kası tümstatin immünreaktivitesi	50
Şekil 28. AnaE grubu iskelet kası tümstatin immünreaktivitesi	50
Şekil 29. AnaECQ10 grubu iskelet kası tümstatin immünreaktivitesi	51
Şekil 30. Negatif kontrol iskelet kası dokusu-enine kesit	52
Şekil 31. Negatif kontrol iskelet kası dokusu-boyuna kesit	52

TABLULAR DİZİN

Tablo No	Sayfa No
Tablo 1. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin içeriği.....	24
Tablo 2. Deney grupları ve gruplardaki hayvan sayıları	25
Tablo 3. Araştırmada uygulanan egzersiz şiddeti, süresi ve mesafesi.....	27
Tablo 4. Histolojik takip serileri.....	31
Tablo 5. Kan serum lipit düzeyleri	38
Tablo 6. Kan serum tümstatin ortalamaları.....	40
Tablo 7. Kalp kası homojenatlarında tümstatin düzeyleri	41
Tablo 8. İskelet kası homojenatlarında tümstatin düzeyleri	42

1. GİRİŞ

Artan ve sabit oranlı egzersiz paradigmasının bazı metabolik ve hormonal profillerle ilişkisi değerlendirildiğinde koşu stresinin yalnızca laktat eşiği ile ilişkili yoğunluktan daha ötedeki mekanizmalarla ilişkilendirilmektedir (1). Yani egzersiz, organizma için metabolik bir stres olup bu stres faktörü egzersiz yoğunluğuna bağlı olarak artabilir. Homostatik duruma karşı artan bu yük tüm organizma tarafından hissedilir ve metabolizmada sistemik bir etki yaratır. Metabolizma bu süreçten çıkıp homostatik bir ortamda oksijen, besin ve diğer talep edilen ihtiyaçları karşılamak için gerekli mesajları ilgili birimlere iletmesi gerekir. Egzersize karşı ortaya çıkan bu metabolik tepki, temelde kas kasılma fonksiyonlarını destekleyerek egzersiz yoğunluğu ve süresine bağlı ortaya çıkan oksijen, besin ve diğer talepleri karşılama ve daha iyi bir verim çıktısına rehberlik etme çabasıdır.

Genel olarak dokulara oksijen, besin ve diğer ürünlerin taşınmasında kan damarları sorumludur. Ancak egzersiz yoğunluğu ve süresine bağlı olarak dokudaki taleplerin var olan kan damarları ile karşılanmaması, yeni kan damarlarının oluşumu tetikleyen süreçleri uyararak egzersize bağlı yeni metabolik cevapların ortaya çıkmasını sağlar. İfade edilen ortam şartlarına cevap verebilmek için ise anjiyo modelleme mekaniği devreye girer.

Anjiyogenez kavramı 1787 yılında İngiliz asıllı bir cerrah olan John Hunter tarafından kullanılmıştır. Bu terimi yirminci yüzyılın başlarında Herting adındaki bilim insanı ise plasentadaki kan damarlarında meydana gelen gelişimi tanımlamak amacıyla kullanmıştır (2). Risau 1997 yılında anjiyogenezin mekanizmasını açıklarken; kan damarlarının filizlenmesi şeklinde ifade etmiş ve bu yeni filizlenmenin daha önce var olan kan damarları üzerinde oluşabileceğine dikkat çekmiştir (3). Egzersiz ve anjiyogenez bağı, iskelet kası kapiler yoğunluk ile egzersiz arasındaki pozitif ilişkinin varlığı ile ortaya konmuştur (4). Son zamanlarda yapılan çalışmaların anjiyogenez modellenmesi üzerine etki eden mekanizmalar odağında devam ettiğini görülmektedir. Bu çalışma bir anjiyogenez düzenleyicisi olan *tümstatin*'in CoQ10 takviyesine ek olarak farklı egzersiz yoğunluklarında yönünü hangi tarafa çevireceğini ortaya çıkarma açısından önemlidir.

Bu sebeple araştırma, sıçanlara uygulanan farklı egzersiz yoğunlukları ve yine bu egzersiz yoğunluklarına ek olarak CoQ10 takviyesinin *tümstatin* düzeyi üzerindeki

etkisini ortaya çıkarmak ve tümstatinin bu yeni yön bulma çabasındaki arzunun anjiyo modellenmeyi nasıl etkileyeceği sorusuna cevap aranmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Egzersiz

Egzersiz, bedensel dayanıklılığı geliştirmeyi amaçlayan veya vücut sistemlerinin büyümesini ve gelişmesini uyaran, bilinçli ve planlı bir şekilde yapılandırılmış, sürekliliği olan etkinlikler olarak ifade edilmektedir. Diğer bir ifadeyle zinde olmak, dinçlik sağlamak ve kilo kontrolünü denetleyerek sağlıklı olmayı merkeze alan tüm fiziksel etkinlikler olarak tanımlanmıştır (5).

Egzersiz, kardiyovasküler sistematığında organizmayı hareket ettirmek için solunum ve dolaşım sistemlerinin çalışma yeteneğini hızlandırıp enerji metabolizmalarının çalışmasını sağlamaktadır (6). Bir yaşam tarzı olarak düzenli uygulanan egzersizler, bireylerde fiziksel uygunluğu iyileştirebilmenin yanı sıra vücut ağırlık kontrolü, iskelet kas kitlesinde artış, kalp damar ve solunum sistemi gibi sistemlerin gelişimine önemli katkılar sunarak bireyin sağlığını koruyabilmesine olanak sağlamaktadır. Amerikan Kalp Birliği düzenli yapılan egzersizi tedavi edici bir ilaç olarak tanımlanmış ve bireylerin genel sağlık durumunu ve yaşam kalitesini iyileştiren, hastalıkları önleyen ve ayrıca refah düzeyinin pozitif bir seviyeye yükselten bir olgu olarak tanımlamıştır (7).

İskelet kasları enerji üretebilmek için özellikle egzersiz esnasında, kasta depo olarak bulunan glikojeni, kanda glikozu ve laktatı, adipoz dokuda veya kasta depo olarak tutulan trigliserit ile kreatin fosfatı yakıt olarak kullanır. Bu kapsamda enerji elde etme sürecinde egzersizin şiddeti, süresi ve sıklığı kullanılan maddelerin miktarının belirlenmesinde önemli bir belirteçtir. Enerji üretimi sürecindeki bir diğer konu ise ortamdaki oksijen varlığıdır. Yani metabolizma, organizma tarafından talep edilen enerjinin üretilmesi aşamasında, yeterli oksijene sahip ise enerji aerobik enerji metabolizma tarafından karşılanmaktadır. Ancak özellikle egzersiz şiddetinin artmasına bağlı olarak ortamda yeterli düzeyde oksijenin olmaması anaerobik enerji metabolizmasına kapı aralamaktadır. Dolayısıyla enerji üretim sürecinde ortamda oksijen yetersizliği ortaya çıktığı andan itibaren aerobik enerji metabolizmasından anaerobik enerji metabolizmasına geçiş dönemi başlar ve bu an anaerobik eşik olarak adlandırılır. Bu noktadan itibaren egzersiz tiplerini anaerobik eşik altında kalan aerobik egzersizler ve anaerobik eşik üzerinde olan ve devam eden anaerobik egzersizler olarak iki farklı boyutta değerlendirmek gerekir (8).

2.2. Egzersiz Türleri

Egzersiz türü ifade edilirken temelde egzersizin süresine ve yoğunluğuna bakmak gerekir çünkü bu iki temel unsur kullanılan enerji üretim tercihlerinin belirlenmesinde önemli parametrelerdir. Bu bakış açısına göre egzersiz türlerini aerobik ve anaerobik olarak iki başlığa ayrılmaktadır.

2.2.1. Aerobik Egzersiz

Aerobik egzersiz, genel olarak büyük kas gruplarının aktif olduğu devamlı ve uzun süre yapılan ritmik egzersizlerdir. Aerobik kavramı, organizmanın bir etkinlik içindeyken oksijen varlığına duymuş olduğu ihtiyaç veya oksijenli ortam şeklinde kullanılmaktadır. Dolayısıyla organizmanın metabolik işlemleri veya enerji üreten süreçlerinde oksijen tüketimine karşılık gelen bir terim olarak karşımıza çıkmaktadır (9).

Aerobik egzersiz daha çok ritmik yeteneğe sahip anaerobik eşiğin altında uzun süre yapılabilen ve az kuvvet harcanan egzersiz türüdür. Aerobik egzersizle birlikte aktif olarak çalışan kaslara taşınan oksijen miktarında artışlar söz konusudur. Aerobik egzersiz esnasında uzun süre çalışan kas dokusundaki kan kılcal damar sayısında, ATP depolarında ve miyoglobin sayısında artışlar ortaya çıkmaktadır. Bisiklet sürme, tempolu yürüyüş, serbest stil yüzme, dans etme, merdiven çıkma ve step aerobik gibi aktiviteler aerobik egzersizlere örnek olarak verilebilir (10).

2.2.2. Anaerobik Egzersiz

Anaerobik egzersizler, kısa süreli ve yüksek şiddette yapılan aktivitelerdir. Daha açık bir şekilde, oksijensiz ortamda arka arkaya meydana gelen kimyasal tepkimelerdir. Oksijen ihtiyacı olmadan meydana gelen ve art arda oluşan kimyasal olaylar ise anaerobik metabolizma olarak ifade edilmektedir (11).

Anaerobik egzersizler, solunum fonksiyonundaki mekanizmalar işlevsel olarak görevlerini yerine getirmiş olsalar bile organizmayı oksijensiz olarak çalışmaya zorlayan egzersizlerdir. Dolayısıyla bu egzersiz tipinde metabolik ortamda oksijen yetersizliği oluşmasına bağlı olarak yapılan aktiviteler kısa süreli olmaktadır (12). Organizma, anaerobik egzersizde, enerji sağlamak için aerobik egzersizde olduğu gibi ortamdaki oksijene bağlı kalmaktan ziyade enerji sağlamak için kaslarda depo halinde bulunan hazır enerji kaynaklarını kullanmaktadır (13).

Anaerobik egzersizleri yüksek şiddet ve kısa süreli olmak kaydıyla anaerobik eşiğin üzerinde devam eden egzersizler olarak açıklayabiliriz. Yüksek şiddette yapılan egzersizde özellikle solunum yolu aracılığıyla alınan oksijen ile kastaki ATP üretim

süreci arasında ortaya çıkan yetersizlik ATP üretimi için anaerobik enerji metabolizmaların devreye girmesini tetikler. Anaerobik egzersizin uzun süre sürdürülememesinin temel sebebi, metabolik asidoz ve buna bağlı şekillenen yorgunluktur. Bu süreç glikoliz esnasında glikoz veya glikojenin pirüvik aside indirgendikten sonra pirüvik aside ve dolayısıyla laktik aside dönüşmesi ile ortamın pH'nın düşmesine bağlı olarak oluşmaktadır. Ortamda biriken laktat dolaşım sistemi aracılığıyla karaciğer ve kalp kasına iletilmektedir. Laktat karaciğerde tekrar glikoz ve glikojene çevrilirken kalp ise laktatı enerji elde etmek için kullanmaktadır. 1-3 dk arasında sürdürülen egzersizler anaerobik etkinlikler olarak değerlendirilmektedir. 40, 60, 100, 200 ve 400 metre gibi yüksek şiddetteki koşu aktiviteleri anaerobik egzersizlere örnek olarak verilebilir (8).

2.3. Besinsel Ergojenik Destekler

Ergojenik destekler, modern egzersiz kültürünün ortaya çıkardığı önemli olgulardan sadece biridir. Egzersizle kombine edilen ergojenik takviyeler organizmada verimsel artışı desteklemesi, toparlanmayı hızlandırması, metabolik atıkları süpürmesi veya metabolik süreçleri desteklemesi ile ünlüdür. Kalabalık bir nüfusa sahip olan ergojenik takviye ailesindeki ünlülerden biri de CoQ10'dur.

2.3.1. CoQ10 (Ubiquinon)

CoQ10, bütün hücre zarlarının hidrofobik kısmında var olduğu gibi mitokondrinin iç zarında da bulunan ve elektron transfer zincirinde (ETS) yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarında görev alıp enzim sistemlerinin aktiviteleri için gerekli olan önemli bir koenzimdir (14, 15).

CoQ10, hücrelerdeki enerji üretimi esnasında önemli enzimatik reaksiyonlarda koenzim olarak görev yapmaktadır. CoQ10 aynı zamanda her hücrede bulunabilen ve ayrıca yağda çözünebilen bir bileşik olarak da bilinmektedir (16, 17). CoQ10'nin diğer bir ismi ise Latince "ubiquitos quinone" kelimelerinden türetilmiş ubikinon'dur. Ubikinon tüm hücrelerde bulunması sebebiyle "her yerde bulunan" anlamına gelen bir terimdir (17).

CoQ10 ilk olarak Festerstein ve ark., tarafından 1955'te kalp kası mitokondrisinden izole edilmiş ve kimyasal yapısı ise 1958 yılında tanımlanmıştır (18).

O yıllarda Morton sıçan ciğerinde vitamin CoQ10'i bularak ona "ubiquinon" ismini vermiştir. CoQ10 biyokimyasal yapısını ise Karl Folkers ve yardımcısı Merck

1958 yılında açıklamıştır. 1960'ta Yamamura CoQ10'i bir insanda kalp yetmezliği tedavisinde ilk kez kullanmıştır. 1966'da Mellors ve Tappel CoQ10'nin antioksidan etki gösteren bir özelliğe sahip olduğunu ifade etmiştir. 1970'lere gelindiğinde saf CoQ10 elde edilmiştir. 1978'de ise Peter Mitchell CoQ10'in önemli bir yeteneğini keşfetmiş ve onun biyolojik enerji transferindeki rolünü kanıtlayarak Nobel Bilim Ödülü'nü elde etmiştir (19).

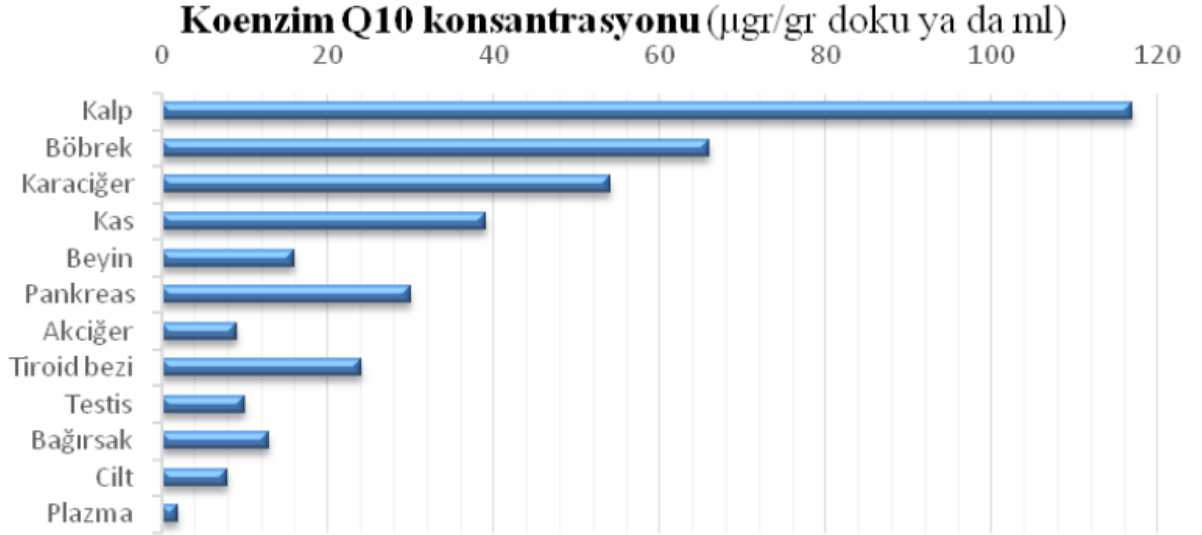
2.3.2. CoQ10'in Kimyasal Yapısı

CoQ10 2,3-dimetoksi, 5-metil, 6-dekaprenil, 1,4-benzokinon şekilde kimyasal formülü vardır (20, 21). CoQ10 biyolojik dokularda hem indirgenmiş (ubikinol-10) hem de okside formda (ubikinon-10) bulunabilmektedir. Ayrıca semikinon (ubisemikinon) olarak isimlendirilen kısmi-indirgenmiş serbest radikal formunda da bulunabilmektedir. İnsanlarda ve sıçanlarda Q harfi yapısındaki kinon grubunu sembolize ederken 10 rakamı ise yan zincirinde bulunan her biri 5 karbon taşımakta olan 10 adet izopren ünitesini sembolize etmektedir. Dolayısıyla kinonların oksidatif sistemde koenzimler gibi tavır sergiledikleri için CoQ10 şeklinde isimlendirilmiştir (22, 23). CoQ10'in indirgenmiş formu olarak bilinen ubikinol çok kuvvetli bir antioksidandır (24). Yapısı itibarı ile kinon grubu CoQ10'e elektron taşıma görevi vermektedir. Ayrıca CoQ10'in yüksek hidrofobik yeteneğe sahip izopren yan zinciri ise hücrelerin lipitten zengin bölgelerini çevrelemesine imkân vermektedir (25).

2.3.4. CoQ10'in Biyosentezi

CoQ10'nin biyosentezi üç ana aşamadan oluşmaktadır. İlk olarak halka yapısı benzokinon; esansiyel aminoasit olan tirozin veya fenilalanin sentezi ile ikinci aşamada izoprenoid yan zinciri; asetil coA atıklarından mevanolat yolu aracılığıyla ve üçüncü aşamada bu yapılar golgi cisimciğinde poliprenil-transferaz enzimi ile birleşmesinden CoQ10 oluşmaktadır (26). CoQ10 sentez edildikten sonra diğer hücre membranlarına ve kan lipoproteinlerine taşınmaktadır (27). CoQ10 normal fizyolojik koşullar altında tüm hücrelerde yeterli miktarlarda sentezlenmektedir (28).

Vücutta 0.5 -1,5 gr olmakla beraber, kandaki fizyolojik seviyesinin 0.7-1.0 µmg/ml olduğu bilinmektedir. Vücutta yüksek enerjiye gereksinim duyan kalp (110 µg/g), böbrek (70 µg/g), karaciğer (60 µg/g), pankreas ve kas hücrelerinde daha yüksek seviyelerde olduğu bildirilmiştir (29-32). Vücuttaki toplam CoQ10 miktarının %80-95'i ubikinol tarafından sağlanmakta ve iç mitokondriyal hücre zarında en yüksek düzeyde olduğu ifade edilmiştir (17, 30, 33, 34).



Şekil 1: Farklı dokularda CoQ10 seviyesi (35).

2.3.5. CoQ10'in Emilimi

Besinlerle alınan CoQ10'in yaklaşık %6'sı gastrointestinal sistemden emilmekte ve daha sonra karaciğer ve dalağa taşınmaktadır (27).

CoQ10 emilim miktarının beslenme tarzına göre değişebildiği, sıçanlarda yağ içeren bir öğün ile alınmasına bağlı olarak bağırsaklardaki emilimin üç kat daha fazla olduğu ifade edilmiştir (36). Ayrıca CoQ10'in mitokondrideki seviyesinin tekli doymamış yağ asitlerinden (MUFA) zengin diyet alımıyla artacağı, buna karşılık çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) zengin diyet alımıyla azalacağı vurgulanmıştır (37).

2.3.6. CoQ10 ve Egzersiz

Egzersiz, kas ve karaciğerde serbest radikal sürecini ve oksidatif stresi uyararak lipid peroksidasyonu neden olur. Oluşan bu olumsuz durum temelde egzersizin şiddetiyle ilişkilidir (38). Egzersiz, çalışan kasta 200 kata kadar daha fazla oksijen talep edebilir (39). Egzersiz esnasında kas mitokondri oksijen talebindeki artışla beraber reaktif oksijen iyonu olan süperoksid üretimi çoğalmaktadır (40). Egzersizden sonra reaktif oksijen türleri (ROT) kas yorgunluğu ve kas hasarı şeklinde kendini gösterir. Bu konu bağlamında sürdürülen çalışmalarda düzenli egzersizlerin birçok fayda sağladığı ancak yüksek yoğunlukta yapılan egzersizlerin ROT oluşumunda meydana gelen artışa bağlı olarak oksidatif tahribatı arttırdığı bildirilmiştir (41). Egzersizin sebep olduğu bu tür kötüleşmelerin sonlandırılması veya iyileştirilmesi amacıyla hem uzun mesafe koşucuları hem de deney hayvanları üzerinde çeşitli çalışmalar sürdürülmüştür. Bu çalışmalar genel

olarak oksidatif stresin ortadan kaldırma temeline dayanmakta ve güçlü antioksidan yeteneğe sahip olduğu kabul edilen maddelerin takviyesiyle olumlu etkilerin ortaya çıkmasını amaçlamaktadır. Bu antioksidan özelliğe sahip takviyelerden biri de CoQ10'dir. Mitokondrilerde doğal olarak bulunabilen CoQ10 endojen sentezlenme ve yağda çözünebilme yeteneğine sahip güçlü bir antioksidan olarak ifade edilmektedir (42).

Düzenli yapılan egzersizlerde CoQ10 üretiminin uyarıldığı (43) ve egzersizin CoQ10 seviyesini koruduğu ifade edilmiştir (44). Ancak yorucu ve uzun süreli yapılan egzersizlerde CoQ10 seviyelerinde düşüşlerin olduğu ifade edilmiştir (45). Ayrıca takviye olarak alınan CoQ10'in egzersize bağlı ortaya çıkan yorgunluk hissini azaltacağı ve fiziksel performansı iyileştireceği vurgulanmıştır (46).

CoQ10 takviyesi teminde sürdürülen çalışmalarda, CoQ10 takviyesi verilen Finlandiyalı elit kayakçılarda aerobik ve anaerobik kapasitelerde artışların olduğu gözlemlenmiştir (47). Farklı bir çalışmada 3 ay CoQ10 takviyesi verilmiş ve 60 dakikalık müsabaka sonrası oksidatif stres belirteçlerine bakılmış ve çalışmanın sonunda CoQ10 takviyesinin oksidatif stres belirteçlerini azalttığı ifade edilmiştir (48). Tekrarlanan ve orta yoğunluğa sahip egzersizlerde CoQ10 takviyesinin egzersiz performansını etkileyip etkilemediği odağında yapılan çalışmada (49), plasebo ve CoQ10 gruplarına 5 tekrarlı olacak şekilde Wingate Testi uygulanmış ve daha sonra pik güç, ortalama güç ve yorgunluk indeksi değerlendirilmiştir. Pik güç indeksinde her iki grupta anlamlı bir düşüş ortaya çıkmış ancak her iki grup arasında istatistiksel olarak fark görülmemiştir. Ortalama güçte ise CoQ10 grubunda 5. tekrarda plasebo grubuna göre ortalama güçte artış olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın sonunda yorgunluk indeksi değerlendirilmiş ve CoQ10 grubunda anlamlı olarak daha düşük seviyede olduğu görülmüştür. Araştırmacılar çalışmanın sonucunda supramaksimal egzersiz esnasında CoQ10 takviyesinin egzersiz performansını iyileştirebileceği sonucuna varmışlardır.

2.4. Damar Filizlenmesi ve Bölünmesi

Yaşamsal faaliyetlerin sürdürülmesinde önemli bir yeri olan kan damarları ve damarlanma süreçleri dün olduğu gibi bugün de ilgi çekmekte ve birçok farklı bilim dalı tarafından araştırma konusu olmaktadır. Özellikle organizmanın metabolik olarak stres altında kaldığı zamanlarda bu strese vermiş olduğu fonksiyonel cevaplar spor bilimleri alanında çalışan araştırmacıların da ilgisini çekmektedir. Çünkü egzersiz temelde organizma için bir metabolik gerilimdir, yani strestir. Dolayısıyla metabolik olarak ortaya çıkan bu gerilimi ortadan kaldırmak için anjiyogenez (yeni damar oluşumu) oluşum

mekanizmasının göstereceği çabanın yanı sıra egzersize bağlı olarak meydana gelen gerilime/strese kan damarlarının nasıl ve ne şekilde cevap vereceği spor bilimleri için de ilgi çeken ve merak uyandıran bir konudur.

2.4.1. Anjiyogenez

2.4.2. Anjiyogenezin Tarihsel Hikâyesi ve Tanımı

Bilim dünyası kan damarlarının oluşum hikâyesini vaskülogenez ve anjiyogenez şeklinde iki farklı departmana ayırmıştır.

Vaskülogenez, en basit şekliyle yeni kan damarlarının meydana gelmesi/oluşması sürecidir. Anjiyogenez kavramı ise 1787 yılında İngiliz asıllı bir cerrah olan John Hunter aracılığıyla kullanılmıştır. Bu terimi yirminci yüzyılın başlarında Herting adındaki bilim insanı ise plasentadaki kan damarlarında meydana gelen gelişimi tanımlamak amacıyla kullanmıştır (2). 1997'ye geldiğinde ise anjiyogenez, Risau tarafından kan damarlarının filizlenmesi şeklinde ifade edilerek bu yeni filizlenmenin daha önce var olan kan damarları üzerinde oluşabileceğine dikkat çekmiştir. Risau aynı çalışmada vaskülogenezi embriyonun erken gelişim döneminde oluşacağını ve o dönemle sınırlı olduğunu bizlere bildirmiştir (3).

Günümüze geldiğimizde ise anjiyogenez hem dokulara oksijen sağlamak hem de dokuların besin ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla var olan damarlardan yeni kan damarı oluşum süreci olarak ifade edilmektedir (50).

2.4.3. Anjiyogenez Mekanizmasının Yapısal Temelleri

Anjiyogenez ile ilgili algılama sürecinin daha iyi sindirilmesi amacıyla villöz damar gelişimi ve yapısı, vasküler gelişimin yapısal özellikleri ve anjiyogenez mekanizmasının moleküler regülasyonuna değinmek gerekmektedir.

2.4.4. Villöz Damar Gelişim Süreci ve Yapısı

İnsan plasentasının yoğun damarlı yapıya sahip olduğu ve bu yapının 550 kilometrelik uzunluğuna ek olarak 15 metre karelik bir yüzey alanı üzerine yayılmış kapiller bir ağ olarak ifade edilmektedir (54). Bu yapısal özellik plasental villus ağacının gelişim sürecini desteklemesinin yanında özellikle materno-fetal bölgesinde meydana gelen değişim süreçleri içinde konforlu bir alt yapı oluşturmaktadır. Oluşan bu alt yapı zamanla *vaskülogenezi* ve devamında *anjiyogenezi* oluşturarak plasental gelişime hayati

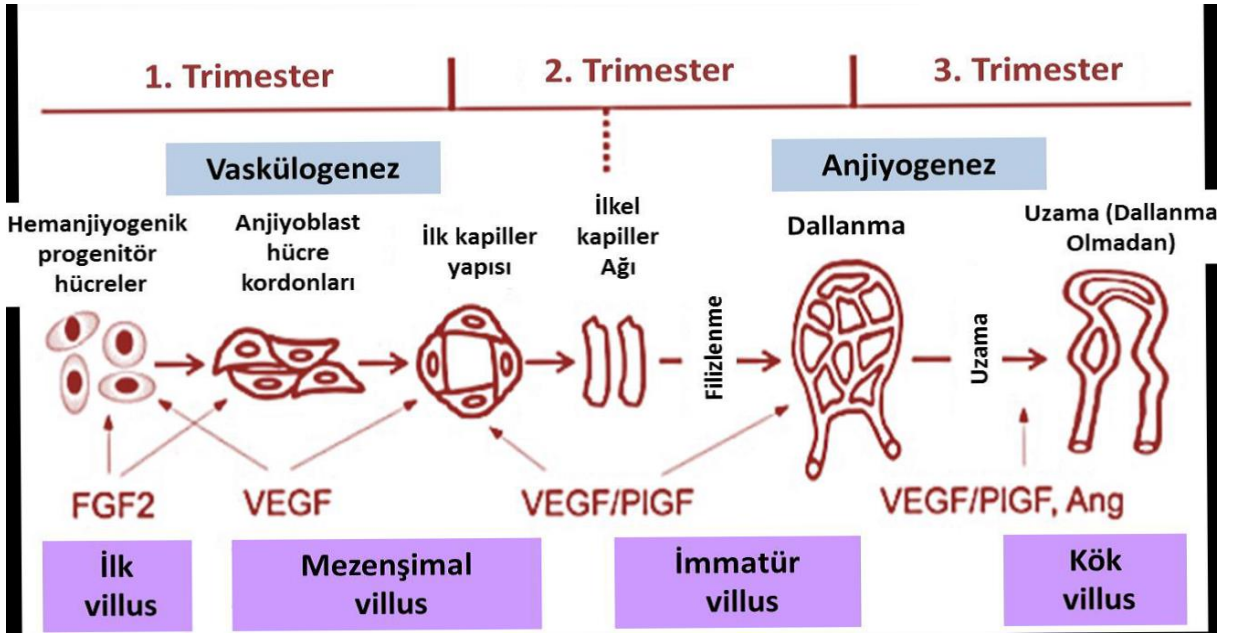
bir katkı sunar. Ancak bu damarlanma sürecinin uygun seyrinde ilerlememesine bağlı ortaya çıkan hatalar olumsuz sonuçlara sebep olabilir (52, 53).

2.4.5. Vasküler Gelişimin Yapısal Özellikleri

Gebeliğin 18 ve 20. günlerine gelindiğinde villus sürecin en ilkel aşaması olan mezenşimal villuslar damarlanma göstererek yeni vaskülogenezin yapısal belirtilerini ortaya çıkarır. Yani yeni endotel hücre oluşum süreciyle ortaya çıkan yeni kan damarları yapısal açıdan belirlemeye başlayarak vaskülogenezi oluşturur. Bu süreci derinleştirecek olursak hemanjiyoplastik hücrelerden yola çıkmamız daha doğru olacaktır. Kan damarlarının endotel tabakasının kök hücrelerini oluşturan ve embriyonik bir hücre olan anjiyoplastik hücreler farklı olarak kordları oluşturur. Kordlar aşamalı olarak lümen yapısını ve daha sonra da damar yapısını oluşturmaktadırlar (51,55). Lümen oluşumu gebeliğin 23. gününde gözlenir. Plasentada oluşan vasküler ağlanma gebelik süresi içinde sürekli kendini tekrarlayarak yeniden modellenmeye maruz kalmaktadır. Özellikle gebeliğin ilk ve orta üç ayında (1. ve 2. Trimesterde) plasental villus içindeki kapil sayısı ve hacmine ek olarak yüzey alanında aşamalı bir artış olmaktadır (56). 25. haftaya ulaşan gebelikte kapiller uzunluk artışının hızlandığı görülmektedir (57). Meydana gelen bu uzama endotel hücrelerin proliferasyonuna ve yeniden modellenmesine endekslidir (58).

2.4.6. Anjiyogenezin Moleküler Regülasyonu

Anjiyogenez uzama ve dallanma şeklinde gerçekleşen bir damarlanma sürecine sahiptir. Dallanma şeklindeki anjiyogenez, filizlenme vasıtasıyla yeni damar oluşumu olarak karşımıza çıkmaktadır. Uzama şeklindeki anjiyogenez ise uzama ile halkamsı ilmeklerin (loopların) oluşması şeklinde meydana gelir. Anjiyogenez gebeliğin 24. haftasında dallanma biçiminde, 24. haftadan sonra ise uzama şeklinde oluşmaktadır (59).

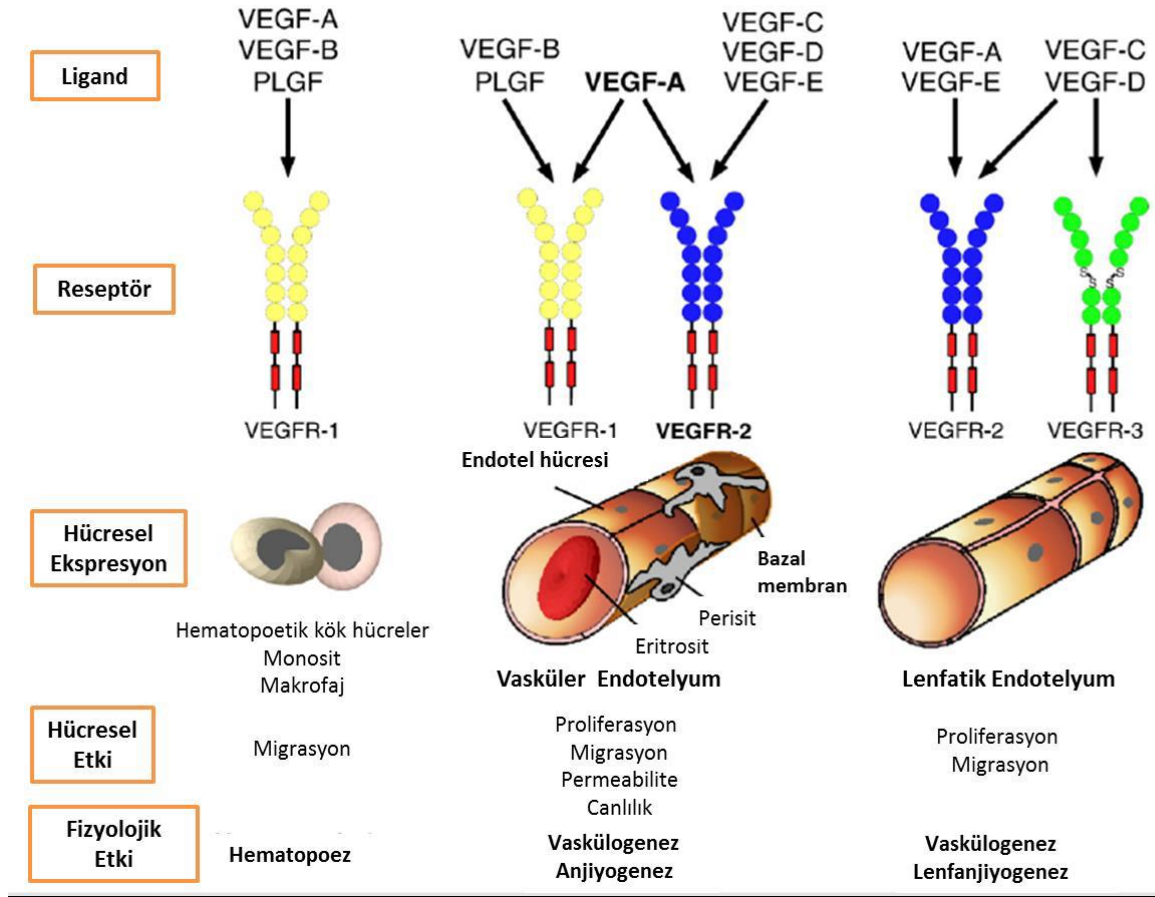


Şekil 2: İnsan plasentasında meydana gelen gelişimde vaskülojeniz ve anjiyogenez sürecinin sıralı düzenlenmesi (60).

Şekil 2’de görüldüğü gibi hem vaskülojeniz hem de anjiyogenez birbirinden farklı büyüme faktörleri ve sinyal yolları aracılığıyla düzenlenmektedir (61).

Araştırmamızla ilişkili olarak anjiyogenez başlatan veya devam ettiren sinyal yollarının karmaşık ve çok sayıda olduğunu görmekteyiz. Damar oluşturma sürecini destekleyen proanjiyogenik sitokinler ve büyüme faktörleri arasında en iyi karakterize edilmiş ve damar oluşum sürecinde önemli bir role sahip Vasküler Endotelial Büyüme Faktörüdür (VEGF).

VEGF gen ailesi VEGF-A, -B, -C, -D, -E ve PlGF şeklinde altı üyeden oluşmaktadır.



Şekil 3: VEGF ailesinin vaskülojenenez, anjiyogenenez ve lenfanjiyogenenezdeki moleküler mekanizmaları (62).

Ayrıca VEGF de dâhil olmak üzere, fibroblast büyüme faktörü (FGF), anjiyopöietinler, dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β), platelet kökenli büyüme faktörleri (PDGFs), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), epidermal büyüme faktörü (EGF), interlökin-8 (IL-8) ile inflamatuvar hücreler (mast hücreleri, makrofajlar) perisitler, keratinositler veya tümör hücreleri tarafından sentezlenen anjiyogeninler olarak bilinmektedir. Bu büyüme faktörlerinden bazıları endotelial hücreler üzerindeki almaçlarına bağlanarak proliferasyon veya migrasyonu uyarırken bazıları anjiyogenenez uyarır. Bu anjiyogenenez uyarılmasını ise bir oluşumda görev alan lokal stromal yada yaralanma, tahriş ve enfeksiyon durumlarında vücudumuzun normal koruyucu tepkisi olarak bildiğimiz inflamatuvar hücreler üzerine etki ederek gerçekleştirir (63).

Bu etkilerin bir sonucu olarak çevre dokulara bir göç başlamaktadır. Anjiyogenenez oluşumu için zorunlu olan bu göçü destekleyen birtakım proteazlar vardır. Bu proteazlar matriks metalloproteinazlardır (MMP'ler) (64, 65). MMP'ler temelde bir enzim ailesi olarak karşımıza çıkarken bu aile normal koşullarda düşük bir tansiyona sahiptir ancak

onarım, yeniden düzenleme, iltihaplı veya hastalıklı doku koşullarında yüksek bir tansiyona sahiptir. Yani daha fazla etkinlik göstermektedirler. MMP'ler bu etkinliklerini en çok Ekstraselüler Matriksin (ECM) yıkımında gösterir (66). Çünkü ECM sadece hücrelere fizyolojik bir bariyer sağlamanın yanında sinyal mekanizmalarının işlenmesi için gerekli ortamı da sağlar. Bu ortam hücrelerin dış ortamlarla iletişim kurmasına, göç etmesine, farklılaşmasına ve çoğalmasına yardımcı olmaktadır. ECM ve bazal membran bileşenleri endotel hücreler üzerinde bulunan integrinlere bağlanarak proanjyogenik ve antianjyogenik sinyallerin iletilmesinde görev yapar. Ayrıca anjyogenez süreci engellemeye yönelik çalışmakta olan ve endojenöz inhibitörü olarak çalışan unsurlar da vardır. Bu unsurlar arasında en bilinenleri endostatin, *tümstatin*, arrestin ve canstatindir. Bu yapılar endotel hücre yüzey integrinlerine yapışarak *proliferasyonu* ve *migrasyonu* engeller (67, 68).

2.5. Egzersiz ve Anjyogenez İlişkisi

Bilindiği üzere egzersiz organizma üzerinde bir metabolik stres oluşturmaktadır. Bu metabolik stres seviyesi hareketin ihtiyaçları ve egzersizin şiddetine göre farklılaşabilir. Dolayısıyla farklı egzersiz yoğunluğuna (düşük, orta veya yüksek şiddet) sahip bir egzersiz modelinde organizmaya binen yük miktarı değiştirebilir. Bu durum organizmanın metabolik stresi algılama düzeyini etkileyebilir. Bu yüzden organizmanın iç dinamikleri ve ilgili birimleri bu metabolik stres seviyesine cevap vermek için bir dengeleşim sürecine girip organizmada meydana gelen metabolik strese bağlı olarak yeni kılcal damar oluşumlarını tetikleyebilir. Bu modellenmenin ortaya çıkan yeni durumlara adaptasyon için olduğunu ifade edebiliriz.

Yukarıda bilimsel mantık sistematığı içerisinde ifade etmiş olduğumuz konu egzersiz ve anjyogenez oluşumu arasındaki ilişki ile ilgilidir. Çünkü egzersizin uyarıcı bir nitelik oluşturduğu yaşamsal uyumlardan biri de anjyogenezdir. Bu uyum metabolik bir teoriye dayanmaktadır ve bu teori, organizmada uyarıcı etki oluşturan egzersizin bir sonucu olarak iskelet kasında ortaya çıkan metabolik gereksinim ile kapilarite (kılcallanma) arasındaki yakın ilişki olarak karşımıza çıkmaktadır (4). Özellikle hücrenin oksijen ve metabolik ihtiyaçlarının karşılanmasını destekleyecek kılcallanma yoğunluğundaki meydana gelen artış iskelet kasında aerobik egzersiz artışını da uyurabilir.

İskelet kasında meydana gelen damarlanma sürecinin başlatılması ve sürdürülmesinde sorumlu büyüme faktörleri daha önce ifade edilmişti. Bunlar arasında VEGF en çok bilinenlerdendir (69).

Ayrıca VEGF'ün anjiyogenez oluşumu sürecinde önemli bir aracı olduğu ve egzersizde VEGF'ü tetiklediği bilinmektedir (70).

Yapılan bazı akut egzersizlerden hemen sonra VEGF düzeyinde artışların tespit edilmesi (71-73) egzersize bağlı olarak hızlı bir şekilde vasküler adaptasyonun gerçekleşebileceğini ve iskelet kasındaki mikrosirkülasyonun beklediğimizden çok daha dinamik bir süreç olduğunu bize göstermektedir. Yani kısa dönemli yapılan antrenman uygulamaları hem VEGF seviyesinde bir artış sağlayacaktır hem de kılcallanma yoğunluğunu tetikleyebileceği ifade edilmiştir (69).

Akut egzersizlerde olduğu gibi kronik egzersizlerde de kılcallanmanın arttığı ifade edilmiştir (74, 75). Farelerin kullanıldığı deneysel bir çalışmada dört haftalık yapılan koşu bandı egzersizlerinin plantaris kası kılcallanma yoğunluğunda ve fibril oranında iki kata kadar artış olduğu gözlemlenmiştir (76).

Özellikle kapiler düzeyde gerçekleşen ve kılcal damar kan dolaşımı olarak bildiğimiz mikrosirkülasyon; dokularda meydana gelen metabolik olayların bir sonucu olarak ortaya çıkan ara ürünleri (metabolitleri) ve dokulara oksijenin dağıtılması / iletilmesi / taşınması için bir arayüz olarak hizmet vermektedir. Bu kapsamda sunulan hizmet; her zaman daha fazlası iyidir varsayımına dayanmaktadır. Bu varsayım daha fazla kılcal damar yüzey alanına sahip bir dokuda metabolitlerin; temizlenmesi, uzaklaştırılması ve oksijen difüzyon potansiyeli konusunda bir artışa sebep olacaktır. Dahası aerobik kapasite ve dayanıklılık gelişecektir (77). Ayrıca literatür incelendiğinde kılcal damar yoğunluğu ile oksidatif liflerin oranı veya farklı iskelet kasları arasındaki ortalama mitokondriyal hacim yoğunluğu arasındaki ilişkinin varlığına dikkat çekilerek (78) özellikle deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda egzersiz performansı veya maksimal aerobik kapasite ile iskelet kası kılcal damar yoğunluğu arasında önemli bir ilişkinin olduğu ifade edilmiştir (77).

Bilindiği üzere insan organizmasının en büyük organı iskelet kas dokusudur ve vücut kütlelerinin yaklaşık olarak %40 'ını oluşturmaktadır. Bu sebeple iskelet kası kılcal damar yoğunluğunda meydana gelen artış organizmanın hareket yeteneği, metabolik olaylar, oksijen taşınması ve metabolitlerin uzaklaştırılması yeteneği üzerine önemli bir etki oluşturacaktır.

İskelet kası kılcal damar yoğunluğundaki artış aslında yeniden bir damar oluşum süreci olarak karşımıza çıkıp anjiyogenez şeklinde anlam kazanmaktadır. Egzersiz ile ilişkili olarak anjiyogenez oluşum süreci aerobik kapasite, performans ve güç çıktısı konusunda fonksiyonel ve pozitif bir gelişim olarak değerlendirmek mümkündür. Ancak iskelet kası kılcal damar veya anjiyogenez oluşumunun seyrelmesine bağlı olarak güç, performans, aerobik kapasitede düşüşler gözlemlenebilir.

Anjiyogenez yaşamın bütün aşamalarında hayati bir role sahiptir. Anjiyogenezin bu rollerinden biri de çizgili kasları stres ve egzersiz süreçlerine hazır hâle getirmesi, adapte etmesidir. Uchida ve ark., (79) mikrosirkülasyonun hücrenel ve fiziksel etkilere bağlı olarak kaslara uygulanan metabolik talepleri tam olarak karşılama konusunda yetersiz kaldığı zamanlarda bu etkilerin kılcal ağ üzerinde çoğalma şeklinde bir etki oluşturacaklarını ifade etmiştir. Yukarıda ifade edilen fiziksel etkilerin kas lifleri ve endotel hücreler tarafından algılanıp endotel hücre fenotiplerini değiştirdiğini ve kılcal büyümeye yol açmak için uygun bir gen ekspresyon profiline dönüştüklerini vurgulamıştır. Ayrıca bu süreç anjiyogenezin metabolik homeostaz sağlanıncaya kadar devam edeceğine dikkat çekmişlerdir.

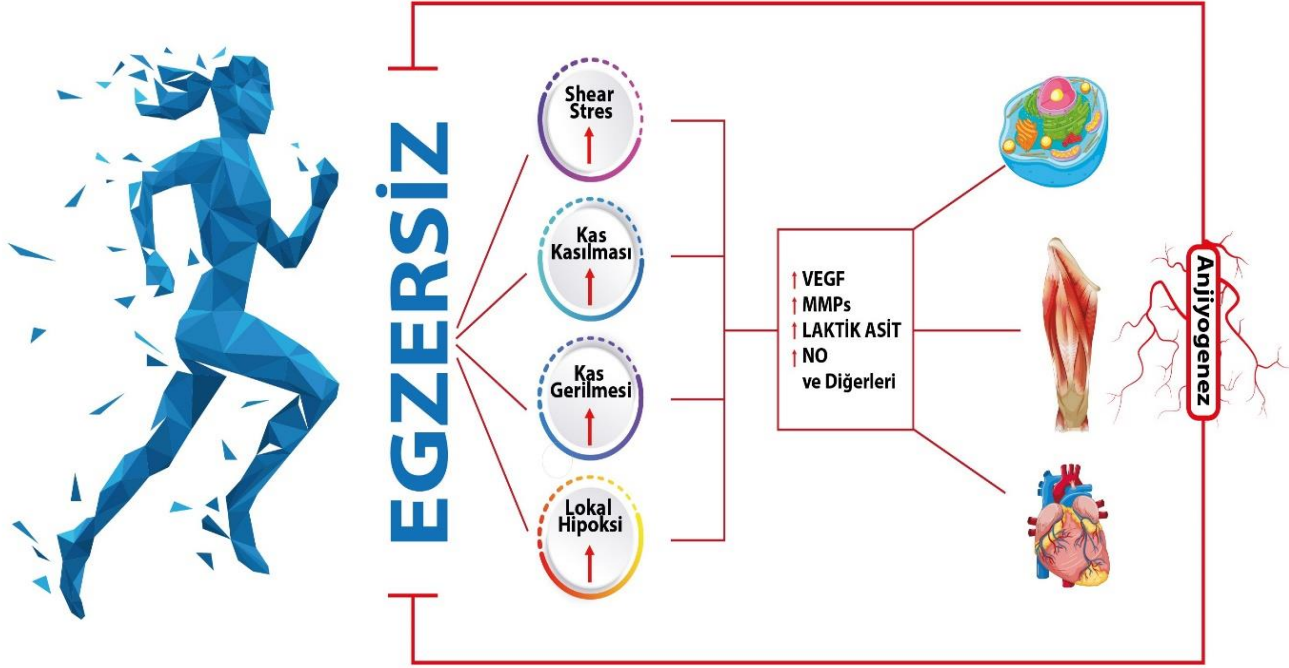
2.5.1. Egzersizin Anjiyogenez Üzerindeki Fiziksel Etkileri

Egzersizin dokular üzerinde bir metabolik stres oluşturduğunu ve oluşan bu strese bağlı olarak ortaya çıkan yeni metabolik talepleri karşılamak için organizmada yeni fizyolojik süreçlerin başlatıldığını biliyoruz. Bu süreçlerden biri de egzersizin anjiyogenez oluşum süreci üzerindeki fiziksel etkileridir.

Kılcal damar yoğunluğunun fizyolojik düzenlemesi (yeniden modelleme sırasında) fiziki çevrede önemli bir etki oluşturmaktadır. Örneğin, kas kasılma gevşeme döngüsündeki tekrarların bir sonucu olarak veya fonksiyonel hiperemiye (dokunun fazla kanlanması) bağlı olarak kapiler lümenler (damarlar) üzerindeki kan akış gerilim çabasının artması gibi mekanik faktörler hem kalp kasında hem de iskelet kasında kapiler (kılcal) büyümeyi ve çoğalmayı uyarabilir (77).

Kılcal damarların fonksiyonel hiperemiye göstermiş olduğu düşük uyum sebebiyle mikrovasküler kan akış gerilimi artar ve kronik bir şekilde yükselen kan akışı kasın yapısında herhangi bir değişiklik yapmadan anjiyogeneze sebep olabilir. Bu durum genel olarak anjiyogenez için gerekli olduğu varsayılan ev sahibi doku ile hücrenel geri bildirim (feedback) arasında ortaya çıkan bir bağlantı kopukluğudur (80). Yani stresli bir

ev ortamında çalışan ev sahiplerinin verimliliğini arttırma açısından iletişim kurmak gerekli bir durumdur. Dolayısıyla iletişimin kurulabilmesi için yeni kapılar, pencereler veya yollara ihtiyaç vardır ve iletişimin gerçekleşebilmesi kılcallanmaya, yani yeni damarların oluşumuna (*anjiyogeneze*) bağlıdır.



Şekil 4: Egzersiz ve anjiyogeneze ilişkisi

Dinlenik durumda iskelet kaslarına olan kan akışı düşük seviyelerdedir ancak kasılma aktivitesinin gerçekleştiği esnada ortaya çıkan büyük oksijen talebini karşılamak için kan akışı yüz kata kadar artabilir (81). Dolayısıyla egzersiz esnasında kasa doğru gerçekleşen kan akışındaki büyük artış kapiler yataktaki kan akış geriliminde önemli bir artışa neden olur ve anjiyogeneze oluşum süreci uyarılır (82-84).

Kasın gerilebilme yeteneği (esneklik, hareket açıklığı) hem normal hem de aşırı yük altında, kas hipertrofisine (büyümesi) eşlik eden anjiyogenik bir uyarı oluşturmaktadır (85, 86).

Dayanıklılık egzersizlerinde mitokondrinin hacim yoğunluğu kas hipertrofisi ile orantılı olarak azalır. Aksine gerilemeyle birlikte (kasın daha fazla esnemesi) kılcal damar beslemesi, %20'lik kılcal lif oranının sürekli esnemeye maruz kalması sebebi ile anabolic (aerobic) çevrede cevap olarak artmaktadır ve bu kılcal lif oranı %45 düzeyine kadar çıkmaktadır (87). Bu süreçte yüksek VEGF seviyeleri artan matriks metalloproteinaz (MMP) aktivitesine eşlik eder. Bu aktivite ekstraselüler matriksin yeniden modellenmesi

ile doğrudan ilişkilidir (88). Ancak MMP reaksiyon hızındaki düşüş endotel hücre migrasyonunu (göçünü) engeller. Buna rağmen MMP, kas uyarımı sırasında (egzersizde) endotel hücre proliferasyonuna (çoğalma, üreme, yaygınlaşma) engel oluşturmaz ve anjiyogenik aşamaları destekleyen bir etkinlik gösterir (90). Dolayısıyla kasın uyarılması sırasında, yani bir egzersiz şemsiyesi altındaki aktivite ile ilişkili olarak anjiyogenez oluşum aşaması bireysel elemanları üzerinde farklı kontroller yapabildiğini ifade edebiliriz.

İskelet kasına uygulanan indirekt elektriksel uyarımların anjiyogenez oluşumu için en etkili uyarıcılardan biri olduğu bilinmektedir. İndirekt elektriksel uyarımların kemirgen arka bacak ekstansör kaslarındaki kılcal lif oranını %50'ye kadar çoğalttığı gözlemlenmiştir (89). Mekanik aktivitelerin – hemodinamik güçler (kan akış gerilimi, transmural basınç) ve dinamik göreve sahip döngüler (kas uzaması, kas kısılması) - çok faktörlü sonuçları endotel hücrelerin mekanik uyarımını elektrokimyasal aktiviteye dönüştüren mekanizmasını (mekanotransdüksiyon) aktifleştirerek damar sisteminin yeniden modellenmesini başlatır. Bir önceki cümlede ifade edilen sürece integrinler ve GTPazlar eşlik etmektedir. Bir sonraki sinyal iletiminde ise uyarıcıya veya dokuya uygun bir yanıtı ortaya çıkarmak için kinazların fosforilasyonunun aracılık ettiği ifade edilmiştir (90). Fakat elektiriksel uyarım ve kan akımının damarlara uyguladığı mekanik kayma (shear stress) kuvvetindeki dolaylı artış aynı zamanda endotel hücrelerin yüzeyinde bulunup lümeni çevreleyen glikokalikse zarar verebileceği ayrıca bildirilmiştir (91). Yine de anjiyogenik elektriksel uyarım yoluyla ortaya çıkan uyarımlar muhtemelen en çok dayanıklılık egzersizi sırasında ortaya çıkan anjiyogenik oluşum basamaklarını başlatan uyarımlar ile benzer özellik gösterebilecekleri düşünülmektedir (79).

2.5.2. Egzersiz Şiddeti ve Süresinin Anjiyogenez Mekanizması Üzerindeki Etkisi

Egzersiz temelde bir disiplindir. Farklı uygulama seçenekleri sunan bu disiplin ihtiyaca göre şekillenebilmektedir. Yani yüksek verim kazanmak için yapılan egzersiz uygulamaları ile sağlıklı bir yaşam kapsamında yapılan egzersiz uygulamaları arasında farklılıklar vardır. Bu farklılıkları ortaya çıkaran kritik unsurlar; egzersiz şiddeti ve süresidir. Bu iki önemli unsur arasında zıt bir ilişki olduğunu ifade ederek bu zıt ilişkinin ortaya çıkaracağı etkinin de farklı olacağını ifade etmemiz gerekmektedir. Örneğin, yüksek şiddetli kısa süreli bir egzersiz uygulamasının organizma üzerinde oluşturacağı

metabolik stress ve bu strese bağı olarak dokusal düzeyde gerçekleşecek kapiler yeniden modellenme serüvenindeki uyarıların mekanik etkileri birbirinden farklı olacağı gibi düşük şiddetli ve uzun süreli bir egzersiz uygulamasında ise daha farklı olacaktır.

Zorunlu koşu bandı egzersizi yapan fare iskelet kası anjiyogenezinde önemli bir artışın meydana gelmesi için en az 6 hafta geçmesi gerektiği ancak gönüllü olarak tekerlek koşusu yapan farelerin çalışmaya başladıktan sadece 5-7 gün sonra iskelet kası kapiler yoğunluğunda bir artışın olduğu görülmüştür (92). Aynı şekilde fonksiyonel hiperemi ve aşırı yüklenme uyarıları 2 hafta içinde benzer anjiyogenez veya kapiler artış şeklindeki cevapları başarabilmişken elektriksel uyarıların bu cevapları sadece 1 hafta gibi bir sürede başarabileceği ifade edilmiştir (91).

Farelerle yapılan deneysel bir çalışmada (günlük 5-10 km arasında) gönüllü bir şekilde dönen teker üzerinde koşmalarına imkan verilmiş ve bu egzersiz modelinde onların maksimal eforlarının (egzersiz yoğunluğunun) sadece %25'lerde olduğu ifade edilmiştir. Sonuç olarak düşük yoğunluklu ve uzun süreli bu egzersiz modelinde 5-7 gün gibi kısa bir süre içinde kılcal damar çoğalmasının gerçekleştiği tespit edilmiştir. Aksine maksimal eforları (egzersiz yoğunluğunun) %50'nin üzerinde olan ve koşu bandında günlük 2 km koşmak zorunda bırakılan farelerde meydana gelen kas kılcallanmasındaki değişim ise 6 hafta veya daha uzun bir sürenin geçmesi gerektiği bildirilmiştir. Toparlayacak olursak yüksek hacimli (uzun süreli) ve düşük yoğunluklu (şiddetli) egzersiz programları düşük hacimli (kısa süreli) ve yüksek yoğunluklu (şiddetli) egzersiz programlarına göre anjiyogenezin uyarlanma sürecinin başlamasında daha hızlı bir uyum oluşmasına imkân vereceği bildirilmiştir (93, 94, 95). Dolayısıyla egzersiz şiddeti ve süresinin anjiyogenez oluşum aşamalarında belirleyici bir etkiye sahip olduğunu söyleyebiliriz. Özellikle uzun süreli yapılan (aerobik) düşük yoğunluklu ve uzun süreli egzersizlerde anjiyogenez oluşumu daha erken dönemlerde başlarken yüksek yoğunluklu ve kısa süreli yapılan egzersizlerde anjiyogenez oluşumu daha geç dönemlerde başlamaktadır.

Düşük yoğunluklu ve yüksek hacimli (uzun süreli) egzersiz modelleri daha güçlü anjiyogenik uyarı üretebilir. Bu egzersiz modeli, özellikle anjiyogenez oluşum tarzı açısından uzunlamasına ya da iç içe geçme (intussusception/longitudinal splitting) şeklinde gerçekleşen kapiler bölünmeyi uyarabilir. Aslında bu yöntem filizlenme (capillary sprouting) şeklinde gerçekleşen anjiyogenez ile karşılaştırıldığında daha az enerjiye ihtiyaç duyan bir modeldir. Yani daha ekonomik ve kolaydır. Dolayısıyla bölünme

(splitting) şeklinde gerçekleşen anjiyogenez oluşumu filizlenme (capillary sprouting) şeklinde modellenen anjiyogeneze kıyasla daha hızlı yeni kılcal damar adaptasyonu sağlar (96). Oysaki *yüksek yoğunluklu ve düşük hacimli (kısa süreli) egzersiz uygulamalarında anjiyogenez modellenmesi daha hızlı olmalıdır* şeklindeki mantık kurgusu bir mağlubiyete uğramış gibi durabilir. Bu yüzden Araştırmada farklı egzersiz yoğunluk tercihleri muğlak kalan bu mağlubiyeti bir neticeye bağlama konusunda da yoğun bir arzu içerisindedir.

2.6. Anjiyogenez ve Baskılayıcı Moleküller

Anjiyogenez sürecini engellemeye yönelik çalışmakta olan ve endojenöz inhibitörü olarak çalışan birden fazla molekül vardır. Bu moleküller arasında en yaygın olarak bilinenleri endostatin, *tümstatin*, arrestin ve canstatindir. Bu yapılar endotel hücre yüzey integrinlerine yapışarak *proliferasyonu ve migrasyonu* engellerler (67, 68). Araştırmada özellikle farklı *egzersiz* yoğunlukları ve CoQ10 takviyesinin *anjiyogeneze* oluşumunu regüle eden *tümstatinin* ekspresyonlanma kabiliyeti merkeze alınacaktır.

2.6.1. Tümstatin

Tümstatin anjiyogenez inhibitör ailesi üyesinden sadece biridir ve doğal anti anjiyogenetik özellik göstermektedir.

Bu doğal anjiyogenez inhibitörü fizyolojik süreçlerin kontrollü gelişmesi ve ilerlemesinde önemli rol oynamakta ve ayrıca bazı patolojik durumlarda (kanser ateroskleroz, diyabetik retinopati) anjiyogenezi sınırlandırarak koruyucu bir etki göstermektedir (97). Bu koruyucu veya dengeleyici etki insan organizması için hayati bir öneme sahiptir.

Çünkü kontrolsüz çoğalmayı uyaran onkogen aktivasyonları ve baskılayıcı role sahip tümör süpressörlerinde meydana gelen azalma kanserli hücre gelişiminde belirleyici bir role sahiptir. Bu şekilde gerçekleşen senaryonun sonucunda profilerasyon ve apoptozis arasında bir dengesizlik oluşacak ve profilerasyon lehine sonuçlanan bir durum ortaya çıkacaktır. Bu durum ölümcül bir tümör gelişimiyle neticelenecektir. Ancak birinci bölgede veya metastazlarıyla (kanserli hücrelerin buldukları doku dışında başka bölgelere sıçramaları) ölüme sebep olacak boyutta bir tümör kitlesinin gelişimi için kontrolsüz hücre profilerasyonu tek başına yeterli değildir. Tümör kitlesinin büyümesi ve zararlı hâle gelmesi için anjiyogenez oluşumu gereklidir. Çünkü anjiyogenez olmadan bir tümör hücresi maksimum 1mm² hacime kadar gelişebilir, büyüyebilir ve bu boyuttaki bir kanser hücresinin zararsız olduğunu ifade edilmiştir (98, 99). Dolayısıyla patolojik

süreçlerle birlikte hızlı gelişen anjiyogenezi engellemek hem organizmaya zarar vermeyen kanser hücrelerinin çok küçük mm² tutacak hem de kanser hücrelerini mikroskopla fark edilecek bir seviyede kalmasını sağlayacaktır. Bilimin bu mantıksal tezahürü kanser ile mücadelede çözüm arayan bilim dünyasının umutlarını yeşertmekte ve çözümü anti anjiyogenetik faktörler veya anjiyogenez inhibitörleri şeklinde adlandırılan unsurlar etrafında aramaya yönlendirmektedir.

Anti anjiyogenetik etki gösteren birden fazla moleküler yapı ailesi olduğunu ifade etmiştik. Bu moleküler yapılardan biri de tümstatin olarak karşımıza çıkmıştı.

Tümstatin, 232 amino asitten oluşan tip IV kollajenin $\alpha 3$ zincirinde yer alan bir moleküldür (100). Tümstatin, matriks metalloproteinazlar (MMP) tarafından salgılanmasının (101, 102) yanında 28 kDa moleküler ağırlığa sahiptir (103). Ayrıca MMP'ler tümör hücreleri ve damar endotel hücrelerine integrinler aracılığıyla bağlanarak güçlü anti-tümör veya anti-anjiyogenetik etkiye sahiptir (104). Başka bir ifadeyle tümstatin kan damarlarının oluşumunu ve endotel hücre kılcallarının çoğalmasını engelleyen bir anjiyogenez inhibitörü olarak hareket etmektedir (100, 105-108). Özellikle patolojik süreçlerdeki tümör büyümesinde inhibitör olarak görev alan tümstatinin özgürleşme hikâyesine biraz daha yakından bakmak gerekmektedir. Yani temelde sorumuz şudur: Tümstatin BM'den (bazalzar/membran) nasıl ayrılmakta, kurtulmakta ve özgürleşmektedir? Bu soruya "MMP ailesi yapar" şeklinde kısa bir cevap verebiliriz. Ancak bizim ilgilendiğimiz nokta MMP ailesi üyelerinden hangisinin tümstatini özgürleştirme sürecinde daha fazla görev aldığıdır. Hamano ve ark. (103) yapmış oldukları çalışmaya göz attığımızda bu aileden tümstatini özgürlüğüne en çok kavuşturan üyenin proteinaz enziminin MMP-9 olduğunu görmekteyiz. Tümstatinin özgürleşmesi için BM'nin yıkımında görev alan diğer proteinaz enzimlerinin ise MMP-2 MMP-3 MMP-13 olduğu ifade edilmiştir ancak bu proteinazların özgürleştirme kabiliyetlerinin önemli bir seviyede olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca MMP-9 proteinazının anjiyogenez sürecinde tümstatin gibi inhibitör görevi gören arrastin ve constatin de uyardığı ve özgürleştirgi ifade edilmiştir ancak önemli bir seviyede olmadığı da belirtilmiştir (103). Sonuç olarak proteinaz MMP-9 enziminin BM yıkımı sürecinde etkinlik göstermesine bağlı olarak tümstatinin aktifleşmesi yani özgürleşmesi aşamasında önemli bir enzimatik etkinlik gösterdiğini söyleyebiliriz.

Yukarıda ifade etmiş olduğumuz anjiyogenez, ekstrasellüler matriks, bazal membran, tümstatin ve MMP-9 arasındaki ilişkiye eğilen deneysel çalışmalara bakacak

olursak, genetik olarak yeniden düzenlenmiş ve tümstatinden yoksun hâle getirilmiş farelerde tümör büyümesinin üç kat arttığı ifade edilmiştir. Yine tümstatinden yoksun ve eksojen olarak verilen tümstatin grubundaki farelerde tümör hücre büyüme hızı ile kontrol grubundaki farelerin tümör büyüme hızlarının birbirine yakın seviyede seyrettiği bildirilmiştir. Dolayısıyla tümstatinden yoksun olan farelerdeki tümör hücre büyümesinin en fazla bu grupta gerçekleştiği tespit edilmiştir (109). Başka bir deneysel çalışmada ise “tümör büyümesine engel olmak amacıyla dolaşımdaki tümstatin seviyesinin ne kadar olması gerektiği” şeklindeki soruya cevap aranmıştır. İki grup oluşturulmuştur (Deney – MMP-9’ den yoksun grup). Bu çalışmada tümör hücrelerinin 500 mm² kadar büyüme hızlarının benzer olduğunu ancak proteinaz MMP-9 enzimi bakımından yoksun olan farelerdeki tümör büyümesinin 500 mm² büyüdükten sonra hızla arttığını, deney grubunda ise tümör büyümesini baskılandığını tespit etmiştir. Ayrıca tümstatin, patolojik anjiyogenezde bir iç düzenleyici olarak fonksiyon gösterirken normal koşullarda ise anjiyogenez sürecindeki sirkülasyonu denetler. Tümstatinin bu aktivitesi ekstrasellüler matriksi ayrıştıran proteinaz MMP-9 enzimine ve $\alpha V\beta 3$ integrinine bağlıdır. Tümstatin, kendi kendini üreten bir gen değildir ancak tümstatin, MMP-9 ’un bazal membranda (BM) Col IV’ten ayrıldığı zaman üretilmektedir (103).

2.6.2. Egzersiz ve Tümstatin İlişkisi

Fiziksel egzersiz mekanik yük koşullarını uyararak organizmada dayanıklılık kapasitesini geliştirmekten kas kuvvetini arttırmaya kadar çeşitli fizyolojik ve biyolojik reaksiyonları kontrol eder. Bu gerçek mekanik yüklemeye bağlı olarak iskelet kas sistemi ve egzersize bağlı kayma kuvveti tarafından kontrol edilen endotel hücre sistemi içinde geçerlidir. Kayma kuvveti ve mekanik yük hücre iskeletinin mekanosensitif merkezini (Ekstrasellüler Matriks) yeniden modelleyebilen proteaz adındaki proteolitik enzimin etkinleşmesi ile sonuçlanır. Ekstrasellüler Matriks bileşenlerinin (ECM) yeniden modellenmesi ise bölünme fragmanlarının salınımına neden olur. Bu bölünme fragmanlarının belirli bir sıra hâlinde uygulanması anjiyogenez modülasyonu, nitrik oksit üretimi veya kas regülasyonu gibi biyolojik fonksiyonları tanımlar (110).



Şekil 5: Egzersiz, tümstatin ve anjiyo modellenme ilişkisi

Suhr'tan (110) esinlenerek hazırlanmış olan şekil 5, egzersize bağlı olarak ortaya çıkan eylem dizisine genel bir bakıştır. Egzersiz endotelial veya iskelet kasları gibi dokularda mekanik yükü arttırmaktadır. Bu mekanik yük proteazları aktif etme konusunda güçlü bir potansiyele sahiptir. Bu durum yaklaşık olarak her çeşit ECM bileşenini daha fazla işleyebilir ve modelleyebilir. ECM'nin işlenmesi ve modellenmesi sonucunda tümstatin gibi bölünme fragmanları (CFs) serbestlenir. CFs biyolojik fonksiyonlar tanımlanırken ve temelde anjiyogenezis (damarlanma) bağlamındaki çalışmalarda kullanılmaktadır.

Yani egzersiz ile artan mekanik stres doku sertliğinin kademeli olarak artmasına neden olur. Artan doku sertliği proteaz enzim aktivitelerini arttırarak ECM'nin yeniden modellenmesini uyarır. Yeniden modellenme sürecine giren ECM sinyal merkezlerini, mekanik algılamalarını ve hücreler için bir yapı iskeleti sağlayan merkezi birimi dönüştürür. Bu süreç tümstatin gibi birçok bölünme fragmanlarını serbestleyerek hücrenin yeni çevresel değişimlere kendini yeniden uyarlaması şeklindeki anjiyo modülasyonu tetikler. Ancak anti-anjiyogenik tavır sergileyen tümstatinin egzersizle

ortaya çıkan mekanik stres koşullarında nasıl tavır sergileyeceğini ifade etmek mevcut literatür ve bilimsel çalışmalar ışığında çok olanaklı değildir.

Dolayısıyla araştırmamız; farklı egzersiz şiddetlerinde (özellikle serum, kalp ve iskelet kası) tümstatin ekspresyonlanmasının nasıl tavır sergileyeceğini ortaya çıkararak egzersiz, anjiyogenez ve tümstatin arasındaki ilişki konusunda değerlendirme yapma imkânı sunacaktır.



3. MATERYAL ve METOT

Çalışma için gerekli etik izin, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulunun 13/05/2020 tarihli, 390786 evrak ve 07 sayılı oturum toplantısında alındı. Hayvan deneyi Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) biriminde gerçekleştirildi.

3.1.Araştırma Modeli

Araştırma, son test kontrol gruplu deney desenli bir modeldir.

Araştırmanın Hipotezi

H_1 = Farklı egzersiz uygulamaları ile birlikte CoQ10 takviyesi tümstatini uyararak anjiyogenezi yeniden modeller.

H_0 = Farklı egzersiz uygulamaları ile birlikte CoQ10 takviyesi tümstatini uyararak anjiyogenezi yeniden modellemez.

3.2. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri

Yapılan deneysel çalışmada 42 adet 8 haftalık erişkin Wistar albino ırkı erkek sıçan kullanıldı. Deneysel çalışmaya katılan sıçanlar FÜDAM biriminden alındı. Tüm sıçanlar Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı için Ulusal Sağlık Enstitüsü rehberine uygun olarak davranıldı. Sıçanlara FÜDAM hayvan laboratuvarında, 22-25 °C ortam ısısında, 12 saat aydınlık (07:00-19:00) ve 12 saat (19:00-07:00) karanlık periyodunda ve standart kafeslerde, ad libitum besleme ile bakıldı. Hayvanlara standart pelet yemler verildi.

Tablo 1. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin içeriği (Türk, 2014).

Sıçan Yeminin Terkibi	%
Buğday	15
Mısır	10
Arpa	27
Kepek	8
Soya	29.4
Balık Unu	8
Tuz	0.6
Kavimix VM 23-Z*	0.2
Methionin	0.2
DCP **	1.6

* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D3, 12 mg E, 0.8 mg K3, 0.8 mg B1, 2.4 mg B2, 1.2 mg B6, 0.006 mg B12 vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3.2 mg Cal. D. Panth. 0.32 mg Folic acid, 0.02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0.8 mg I, 0.2 mg Co, 0.06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca. ** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0.2 flor'dan oluşur.

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Canlı ağırlıkları 322 gr ortalamaya sahip olan 8 haftalık 42 adet Wistar albino ırkı erkek sıçan, her grupta yedişer hayvan olacak şekilde 6 farklı gruba random olarak ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol): Sıçanlar standart diyet ile beslendi ve herhangi bir işlem yapılmadı.

Grup 2 (Aerobik Egzersiz): Sıçanlar standart diyetle beslendi ve haftada 5 gün aerobik egzersiz programı uygulandı.

Grup 3 (Anaerobik Egzersiz): Sıçanlar standart diyetle beslendi ve haftada 5 gün anaerobik egzersiz programı uygulandı.

Grup 4 (CoQ10): Sıçanlar standart diyetle beslendi ve haftada 5 gün CoQ10 takviyesi verildi.

Grup 5 (Aerobik Egzersiz + CoQ10): Sıçanlar standart diyetle beslendi, haftada 5 gün aerobik egzersiz yaptırıldı ve CoQ10 takviyesi verildi.

Grup 6 (Anaerobik Egzersiz + CoQ10): Sıçanlar standart diyetle beslendi, haftada 5 gün anaerobik egzersiz yaptırıldı ve CoQ10 takviyesi verildi.

Deney sonunda sıçanlardan serum rnekleleri, kalp ve iskelet dokuları alındı.

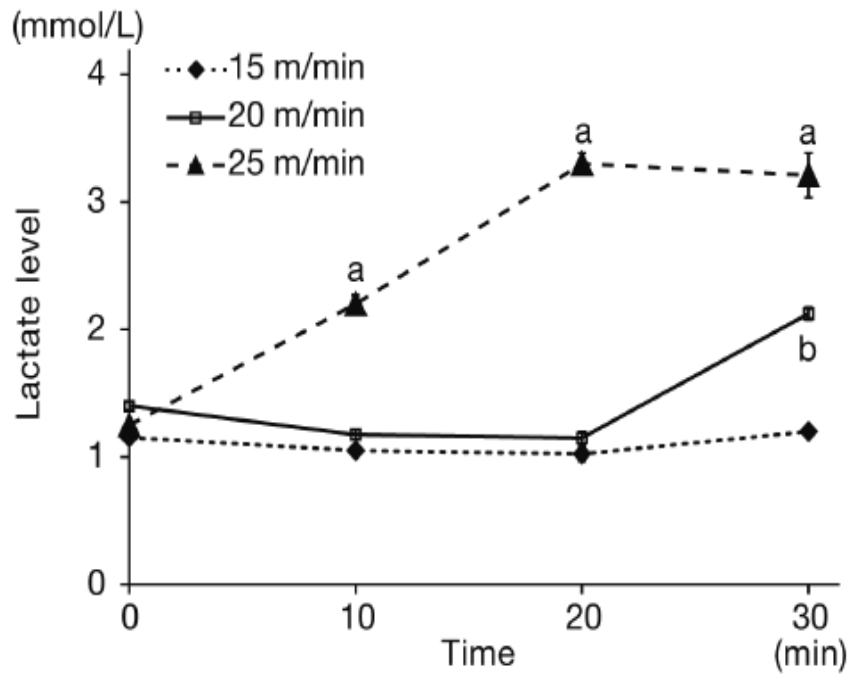
Tablo 2. Deney grupları ve gruplardaki hayvan sayıları

Deney Grupları	Sıçan Adedi
Grup 1: Kontrol	7
Grup 2: Aerobik Egzersiz	7
Grup 3: Anaerobik Egzersiz	7
Grup 4: CoQ10	7
Grup 5: Aerobik Egzersiz + CoQ10	7
Grup 6: Anaerobik Egzersiz + CoQ10	7

3.4. Egzersiz Uygulaması

Araştırmada, tüm sıçanlar (hariç, kontrol ve CoQ10) ilk haftayı (6 gün) koşu bandına (KN-73; Natsume Seisakusho Co.,Ltd., Tokyo, Japan) ve egzersiz protokolüne hazırlık evresi olarak geçirdi. Egzersizler 11.00 ile 13.00 saatleri arasında yapıldı. Egzersiz protokolü uygulanırken egzersizde aşamalı yüklenme ilkesine riayet edildi. Egzersiz protokolü olarak sıçanlar üzerinde koşu bandı stresini en aza indiren Soya ve ark., tarafından açıklanan koşu bandı egzersiz versiyonu benimsendi (1). Soya ve ark., egzersiz yoğunluğunu (aerobik, 15m/dk ve anaerobik, 25m/dk) koşu bandı egzersizleriyle ulaşılan laktat eşiğine göre belirlemiştir (1, 111).

Araştırmada uygulanan egzersiz protokolü **şekil 6**'da verildi (111).



Şekil 6. Egzersiz protokolü

Tablo 3. Araştırmada uygulanan egzersiz şiddeti, süresi ve mesafesi

Gün	Egzersiz Grupları	Hız km/sa	Süre	Metre	m/dk	Gün	Egzersiz Grupları	Hız km/sa	Süre	Metre	m/dk
1	AeE/AeECo*	0.4	10	131	6	11	AeE/AeECo	0.9	15	225	15
	AnaE/AnaECo*	0.4	10	131	6		AnaE/AnaECo	1.5	15	375	25
2	AeE/AeECo	0.5	15	165	8	12	AeE/AeECo	0.9	16	240	15
	AnaE/AnaECo	0.5	15	165	8		AnaE/AnaECo	1.5	16	400	25
3	AeE/AeECo	0.6	15	199	10	13	AeE/AeECo	0.9	17	255	15
	AnaE/AnaECo	0.6	15	199	10		AnaE/AnaECo	1.5	17	425	25
4	AeE/AeECo	0.7	20	233	11	14	AeE/AeECo	0.9	18	270	15
	AnaE/AnaECo	0.7	20	233	11		AnaE/AnaECo	1.5	18	450	25
5	AeE/AeECo	0.8	20	267	13	15	AeE/AeECo	0.9	19	285	15
	AnaE/AnaECo	0.8	20	267	13		AnaE/AnaECo	1.5	19	475	25
6	AeE/AeECo	0.8	20	260	13	16	AeE/AeECo	0.9	20	300	15
	AnaE/AnaECo	0.8	20	260	13		AnaE/AnaECo	1.5	20	500	25
7	AeE/AeECo	0.9	15	225	15	17	AeE/AeECo	0.9	20	300	15
	AnaE/AnaECo	1.1	15	385	18		AnaE/AnaECo	1.5	20	500	25
8	AeE/AeECo	0.9	15	225	15	18	AeE/AeECo	0.9	20	300	15
	AnaE/AnaECo	1.1	15	385	18		AnaE/AnaECo	1.5	20	500	25
9	AeE/AeECo	0.9	15	225	15	<i>42. güne kadar şiddet, süre, mesafe aynı şekilde devam eder...</i>					
	AnaE/AnaECo	1.4	15	350	23						
10	AeE/AeECo	0.9	15	225	15	41	AeE/AeECo	0.9	20	300	15
	AnaE/AnaECo	1.5	15	375	25		AnaE/AnaECo	1.5	20	500	25
						42	AeE/AeECo	0.9	20	300	15
							AnaE/AnaECo	1.5	20	500	25

3.5. CoQ10 Hazırlanması ve Takviyesi

Araştırmada, kapsülleri sığır jelatininden üretilen ve kapsül içerisinde soft jel şeklinde bulunan 200 mg Dynavit marka CoQ10 kullanıldı. CoQ10 kapsülleri her gün kalın uçlu iğne ile delinerek içerisine zeytinyağı (5ml) eklendi metal kâseye aktarıldı. CoQ10, zeytinyağı içerisinde çözüldükten sonra 0.5 ml'lik enjektörlere alındı. Takviye gruplarına 0.5 ml/gün/kg CoQ10 gavaj yöntemi ile verildi. Gavaj verilen sıçanlar 30 dakika dinlendikten sonra egzersiz uygulamasına başladı.

CoQ10 takviyesinin kullanım miktarı hakkında 50-3600 mg/gün doz arasında değişebileceği ve en yüksek dozda bile nadir yan etki gösterdiği ifade edilmiştir (112).

Emilim miktarının diyete göre farklılaşabileceği, özellikle sıçanlarda yağ içeren bir öğün ile birlikte alındığında bağırsaklardaki emilim düzeyinin 3 kata kadar daha fazla olacağı bildirilmiştir (36). Ayrıca CoQ10'nin mitokondrideki miktarının, tekli doymamış yağ asitlerinden (MUFA) zengin bir diyet ile artacağı, çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) zengin diyetle alındığı zaman ise azalacağı ifade edilmiştir (37).



şekil 7. Araştırmacılar tarafından CoQ10 takviyesi verilirken, gavaj uygulaması.

3.6. Ağırlık Takibi

Tüm sıçanlar her hafta başı (pazartesi) egzersiz uygulamalarından önce DESİS marka (ETS Elektronik Tartı Sis. San. ve Tic. Ltd. Şti., İstanbul) hassas tartı ile tartıldı ve ağırlık değişimleri kaydedildi.



Şekil 8. Araştırmacı tarafından sıçan ağırlık takibi

3.7. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Alınması

Biyokimyasal analizler yapmak için tüm sıçanların dekapite edilerek kan ve dokuları alındı. Dekapitasyon işleminden hemen sonra sıçanların iskelet ve kalp kas dokuları hızlı bir şekilde çıkarıldı. Histolojik çalışma yapmak için alınan iskelet ve kalp kası dokuları formaldehitte tespit edildi. Tüm sıçanlara ait kan, iskelet ve kalp kası dokuları ELISA yöntemiyle çalışabilmek için alındı ve -80 °C’de muhafaza edildi.



Şekil 9. Araştırmacılar tarafından dokuların alınması ve muhafazaya edilmesi

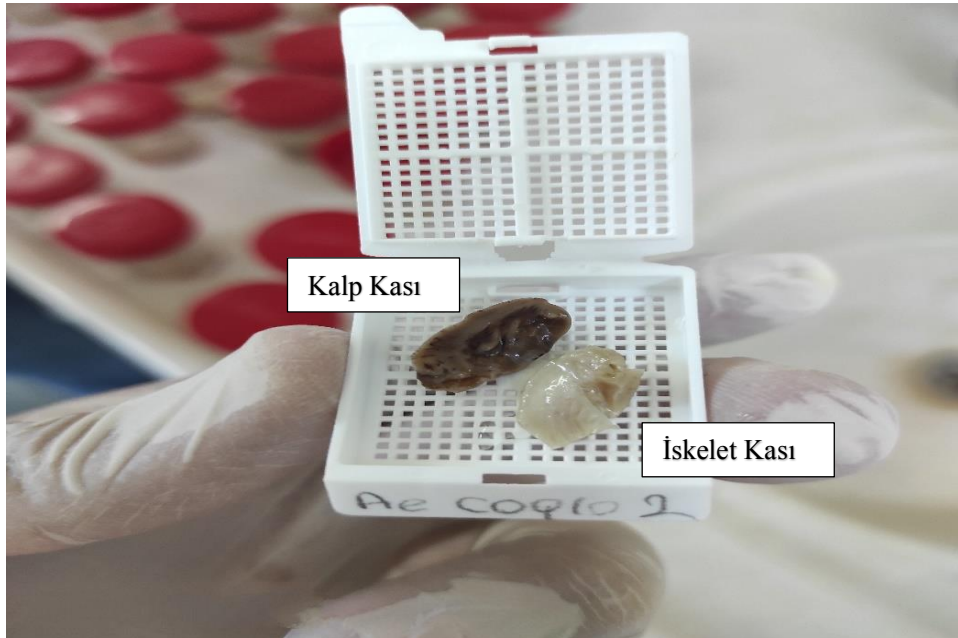
3.8. Serumda ve Kalp ile İskelet Kası Tümstatin Seviyelerinin Belirlenmesi

Serumda ve kalp ile iskelet kası tümstatin düzeyleri iki farklı yöntem olan immünohistokimyasal ve ELİSA yöntemi kullanılarak belirlendi. İmmünohistokimya tekniği, bir hücre ya da dokuda özel bir antijeni (proteini) ya da hücreyi arama tekniğidir. Teknik iki farklı aşama içerir: Birincisi, Lam hazırlama (örneğin sabitlemesi ve dokunun hazırlanması) ve reaksiyon ile ilgili aşamalar (antijenin geri kazanılması ve antikörlerle ilgili muameleler); ikincisi, yorumlama ve analiz kısımlarıdır (113). ELİSA yöntemi ise elde edilen serumda ve kalp ile iskelet kası homojenat örneklerinde tümstatin ölçümleri uygun ticari marka sıçan tümstatin/COL4A3 (Sunred Biological Technology Co., Ltd., Shanghai, CHINA) ELİSA kitleri kullanılarak yapıldı.

3.9. Histolojik Çalışmalar

3.9.1. Doku Takibi ve Kesitlerin Alınması

Tüm sıçanlardan alınan iskelet ve kalp kası dokuları formaldehitte tespit edildi ve akabinde histolojik takip serilerinden geçirildi. Histolojik takip yürütme prosedürü Tablo 3'te verildi. Daha sonra alınan iskelet ve kalp kası dokuları parafin bloklara gömüldü ve bu parafin bloklardan mikrotom (Leica, RM2125, Wetzlar, Almanya) ile 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler immünohistokimya metodu ile boyandı. Boyanan preparatlar araştırma mikroskopunda incelendi ve fotoğraflandı.



Şekil 10. Araştırmacılar tarafından formaldehitten çıkarılarak kaset içerisine alınmış kalp ve iskelet kası dokularının dereceli alkol serisine geçiş öncesi



Şekil 11. Araştırmacılar tarafından kalp ve iskelet kası dokularının parafin bloklara gömülmesi

Tablo 4. Histolojik takip serileri (Demir, 2001)

Sıra	İşlem	İşlem Süresi
1	% 70'lik alkol	2 saat
2	% 80'lik alkol	1.5 saat
3	% 96'lık alkol I	30 dakika
4	% 96'lık alkol II	30 dakika
5	% 100'lük alkol I	30 dakika
6	% 100'lük alkol II	30 dakika
7	Alkol+ksilol	15 dakika
8	Ksilol I	15 dakika
9	Ksilol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin+ksilol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin+sert parafin	1.5 saat
13	Sert parafin	3 saat
14	Gömme	

3.9.2. İmmünohistokimyasal Boyama Metodu

Çalışmada yer alan kalp ve iskelet kas dokularının immünohistokimyasal analizler için immünperoksidaz yöntemi uygulandı. İmmünohistokimyasal boyama işlemi için polilizinli lamlara parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığındaki kesitler alındı. Bu kesitler deparafinize edildi ve dereceli alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) 15 dakika süre ile kaynatıldı. Dokular oda ısısında 20 dakika bekletildi ve soğuyan dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 15 dakika boyunca yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için dokular hidrojen peroksid blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block, TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). Daha sonra dokulara spesifik olmayan bağlanmaları engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandı. Bu işlemler tamamlandıktan sonra dokular 1/200 oranında sulandırılan primer antikor (tümstatin) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi.

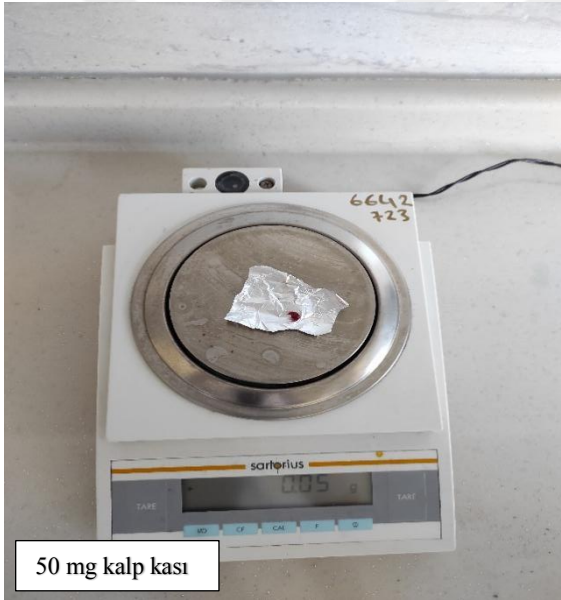
Dokular, PBS ile 15 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse/rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, 34 USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Sekonder antikor uygulanmasından sonra dokular tekrar PBS ile 15 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra dokular tekrar PBS ile yıkandı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate+AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatıldı ve ışık mikroskopunda görüntü sinyali alınır alınmaz dokular PBS ile yıkamaya alındı. Dokuların zıt boyaması Mayer's hematoksilen ile yapıldı. Zıt boyama işlemi tamamlandıktan sonra dokular PBS ve distile sudan geçirildi. Daha sonra boyama işlemi tamamlanan dokular uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295).

Yapılan immünohistokimyasal boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1:<%25, 0.4:%26-50, 0.6:%51-75, 0.9:%76-100) ve şiddeti (0:yok, +0.5: çok az, +1:az, +2: orta, +3:şiddetli) esas alınarak histoskor (yaygınlık x şiddet) yapıldı.

3.10. Biyokimyasal Çalışmalar

3.10.1. Doku Homojenizatlarının Hazırlanması ve Saklanması

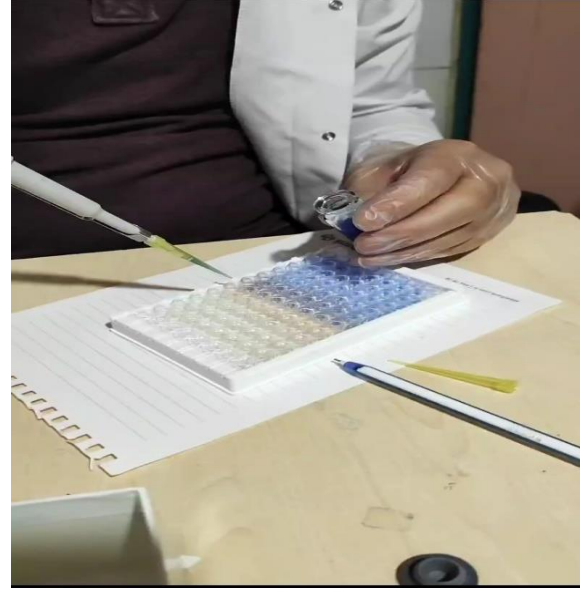
Toplam 42 adet sıçandan alınan iskelet ve kalp kası dokuları 50 mg olacak şekilde tartıldı. Dokularda bulunan kan ve artıkları ortamdan uzaklaştırmak için fosfat tampon solüsyonu ile yıkandı ve ependorf tüplerin içerisine yerleştirildi. Her bir 50 mg doku örneği için 450 µl PBS hazırlandı ve 3.2 mm çaplı 4 tane doku homojenizatör boncuğu (500 gr) ile mikrosantrifüj tüpüne konuldu. Mikrosantrifüj tüplerinin ağzları kapatıldı ve homojenizatörün (Bullet Blender, USA) içerisine yerleştirildi. Dokular homojenizatörde 5 dakika 8 şiddetinde homojenize edildi. Elde edilen süpernatant tabaka başka bir ependorf tüpe aktarıldı. Ardından 4000 RPM'de +4 °C'lik soğutmalı santrifüjde (Backman Coulter, Allegra® X-30 model) tekrar homojenize edildi. İşlemden sonra elde edilen süpernatantlar ELISA çalışmalarında kullanılmak için yeni tüplere aktarıldı.



Şekil 12. Araştırmacı tarafından kalp kası dokusunu tartma işleminden sonra homojenizatör boncuklarıyla birlikte homojenizatör yuvasına yerleştirilmesi



Şekil 13. Homojenize olmuş kalp kası



Şekil 14. Örnek ekme işlemi

3.10.2. Serum ve Doku Homojenatlarında Tümstatin Tayini

Aprotinin içerikli EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve çalışılincaya kadar -80 °C'de bekletildi. Plazma ve doku homojenat örneklerinde tümstatin düzeyleri ELISA yöntemi ile kit prosedürüne göre çalışıldı.

3.10.3. Lipit Profilinin Belirlenmesi

Araştırmada LDL, VLDL, trigliserid ve kolesterol seviyelerini belirlemek için alınan kan örnekleri Nüve marka santifüj cihazında 4000 rpm'de 5 dakika santifüj edildi ve analiz yapılacak güne kadar -80 santigrat derecede saklandı. Elde edilen serum örnekleri Backman Coulter marka otoanalizöründe çalışıldı.

3.10.4. Tümstatin / COL4A3

Elde edilen örneklerde tümstatin düzeyleri, (Rat Tümstatin/COL4A3); Katalog no: 201- 11-7251 Sunred Biological Technology Co., Ltd., Shanghai, CHINA), ELISA yöntemiyle kit kataloğunda belirtilen çalışma prosedürlerine uygun olarak çalışıldı. Sıçan tümstatin ELISA kitinin ölçüm aralığı: 1-16 ng/mL sensitivitesi 0.078 ng/mL, Intra-Assay: CV yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, USA), absorbans okumalarında Chromate, Microplate Reader P4300 cihazları (Awareness Technology Instruments, USA) kullanıldı. Sonuçları yazdırmada panosonik yazıcı kullanıldı. Test sonuçları ng/mL olarak belirtildi.

3.11. Verilerin İstatistik Analizleri

Araştırmada, verilerin normal dağılımlarını sınamak için normallik analizleri (Shapiro wilk, histogram, q-q plot, dal yaprak grafiği, basıklık ve diklik) yapıldı ve verilerin normal dağılım gösterdiği belirlendi. Gruplar arası karşılaştırmalar için One Way ANOVA testi, gruplar arasında ortaya çıkan farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için ise Post-Hoc testlerinden Tukey testi, tekrarlı ölçümler için ise Repeated Measures ANOVA testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyleri tüm testler için $p < 0.05$ olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

Araştırmada bu bölümünde sıçan canlı ağırlıkları, serum lipit profili ve tümstatin seviyeleri, kalp ve iskelet kası homojenatlarında tümstatin seviyeleri ve histolojik bulgulara yer verildi.

Araştırmadaki gruplar: Kontrol (K), aerobik egzersiz (AE), anaerobik egzersiz (AnE), aerobik egzersiz CoQ10 (AECoQ10), anaerobik egzersiz CoQ10 (AnECoQ10), koenzim Q10 (CoQ10) şeklinde ifade edildi.

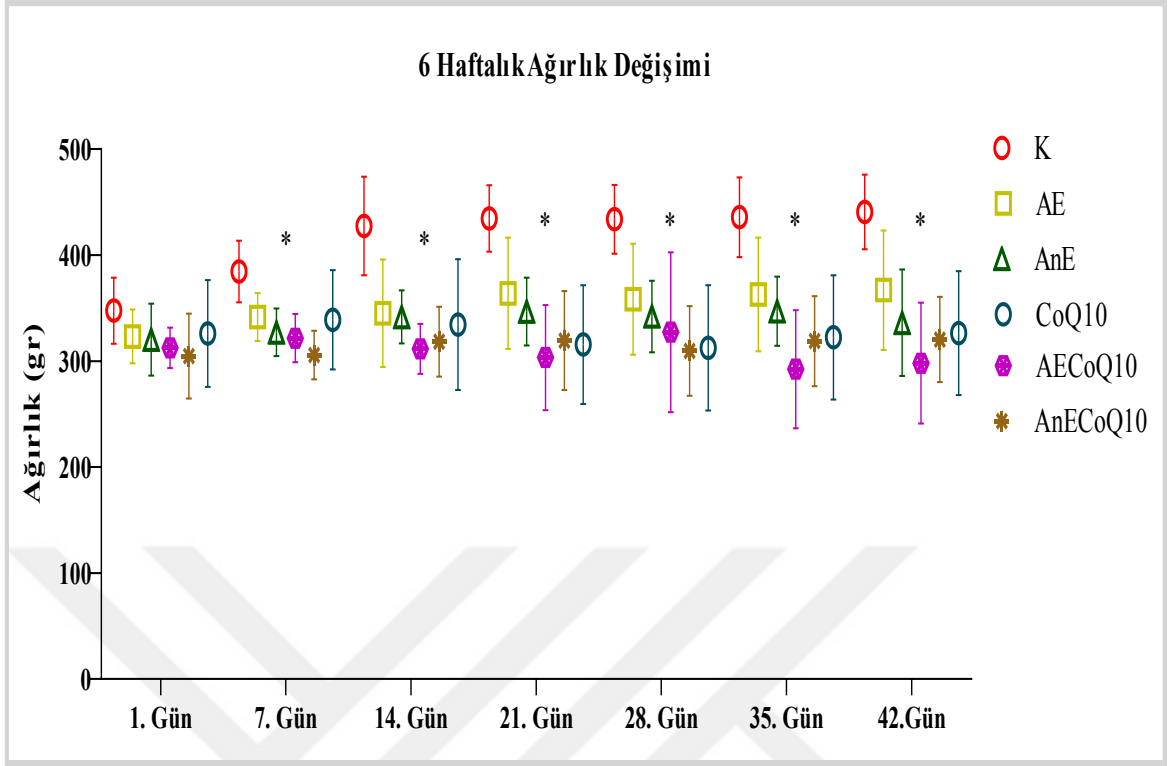
4.1. Canlı Ağırlık Bulguları

şekil 15'teki sıçan grup ortalama skorları 6 haftalık ağırlık değişim farklarını göstermektedir. Yapılan ölçümlere göre 1. gün K grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi ($F=1.222$, $p>0.05$). Diğer günlerde ise (sırasıyla 7., 21., 28., 35., 42.) K ve diğer gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edildi. Bu fark kontrol grubu ile AE, AnE, CoQ10, AECoQ10 ve AnECoQ10 grupları arasındadır ($p<0.05$). Yani kontrol grubu (Ort. 414.88) en çok ortalama puanı almış ve diğer gruplara göre ağırlığı en çok artan grup oldu.

Bir diğer fark ise AE ile AECoQ10 ve AnECoQ10 grupları arasındadır. Yani AE grup (Ort. 351.75) AECoQ10 (Ort. 309.57) ve AnECoQ10 (Ort. 313.89) gruplarına göre daha fazla ağırlık kazandı.

AE, AnE ve CoQ10 grupları arasında ise anlamlı fark yoktur ($p>0.05$).

Şekil 15. 6 haftalık ağırlık değişimini göstermektedir (n=7)



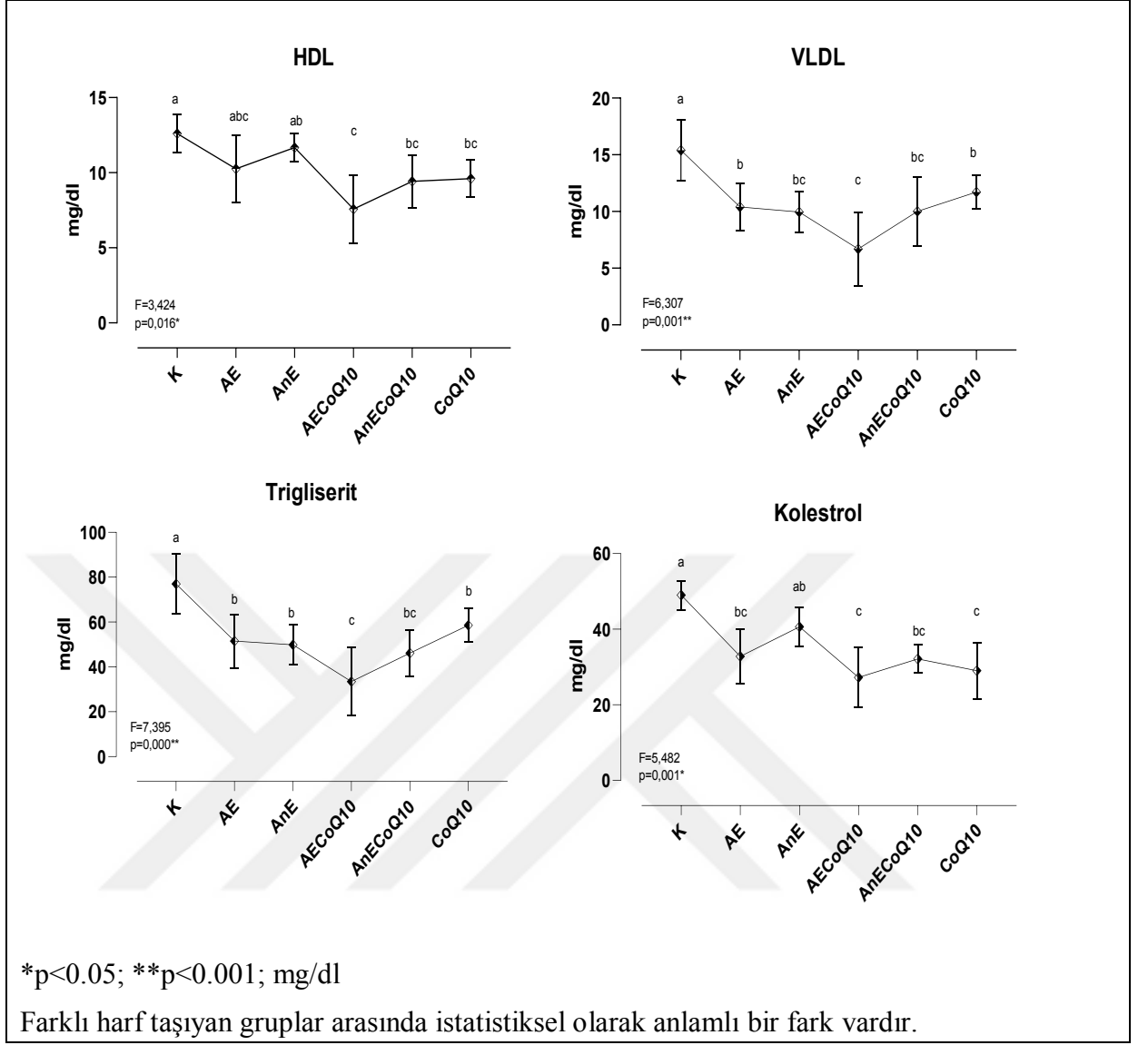
*p<0.05

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 5. Kan Serum Lipit Düzeyleri (n=7)

Kan Lipitleri	Gruplar	Ortalama	F	P
HDL	K	12.60 ± 1.26	3.424	0.01*
	AE	10.26 ± 2.45		
	AnE	11.68 ± 0.95		
	CoQ10	9.60 ± 1.24		
	AECoQ10	7.57 ± 4.51		
	AnECoQ10	9.43 ± 1.76		
VLDL	K	15.40 ± 2.68	6,307	0.01*
	AE	10.40 ± 2.05		
	AnE	9.96 ± 1.79		
	CoQ10	11.72 ± 1.47		
	AECoQ10	6.70 ± 4.05		
	AnECoQ10	10.00 ± 3.03		
Trigliserit	K	77.00 ± 13.40	7,395	0.00*
	AE	51.50 ± 11.91		
	AnE	49.83 ± 8.99		
	CoQ10	58.60 ± 7.36		
	AECoQ10	33.50 ± 20.27		
	AnECoQ10	46.16 ± 10.30		
Kolesterol	K	49.00 ± 3.84	5,482	0.01*
	AE	32.83 ± 9.26		
	AnE	40.66 ± 5.16		
	CoQ10	29.00 ± 11.51		
	AECoQ10	27.25 ± 13.91		
	AnECoQ10	32.16 ± 3.71		

*p<0.05



Şekil 16. Kan serum lipit düzeylerini göstermektedir (n=7)

Yukarıdaki tabloya göre serum HDL düzeylerinde gruplar arası anlamlı fark vardır (F=3.424, P=0.01). Bu fark AECoQ10 ile K ve AnE grupları arasındadır. Yani AECoQ10 serum HDL düzeyi diğer iki gruba göre en düşük seviyededir. Bir diğer fark ise K grubu ile diğer gruplar (AE ve AnE hariç) arasındadır. Yani K grubu serum HDL düzeyleri diğer gruplar göre (AE ve AnE hariç) en yüksek seviyededir.

Serum VLDL seviyelerine bakıldığında ise gruplar arasında anlamlı bir fark vardır (F=6.307, P=0.01). Bu fark AECoQ10 ile diğer gruplar (AnE ve AnECoQ10 hariç) arasındadır. Yani AECoQ10 serum VLDL seviyeleri K, AE ve CoQ10 gruplarına göre en düşük düzeydedir. Bir diğer fark ise K grubu ile diğer gruplar arasındadır. Yani kontrol serum VLDL seviyesi diğer gruplara göre en yüksek düzeye sahiptir.

Serum trigliserit (TG) seviyelerine bakıldığında gruplar arası anlamlı fark vardır (F=7.395, P=0.00). Bu fark AECoQ10 ile diğer gruplar (AnECoQ10 hariç) arasındadır. Yani AECoQ10 TG seviyesi diğer gruplara göre en düşük düzeydedir. Bir diğer fark ise K ve diğer gruplar arasındadır. Yani K serum TG seviyesi diğer gruplara göre en yüksek düzeydedir.

Serum kolesterol seviyelerine bakıldığında gruplar arası anlamlı fark vardır (F=5.482, P=0.01). Bu fark AnE ile AECoQ10 ve CoQ10 grupları arasındadır. Yani AECoQ10 ve CoQ10 grupları AnE grubuna göre daha düşük düzeyde serum kolesterol seviyesine sahiptir. Bir diğer fark ise K ile diğer gruplar arasındadır (anaerobik egzersiz hariç). Yani kontrol serum kolesterol seviyesi diğer gruplara göre en yüksek düzeydedir.

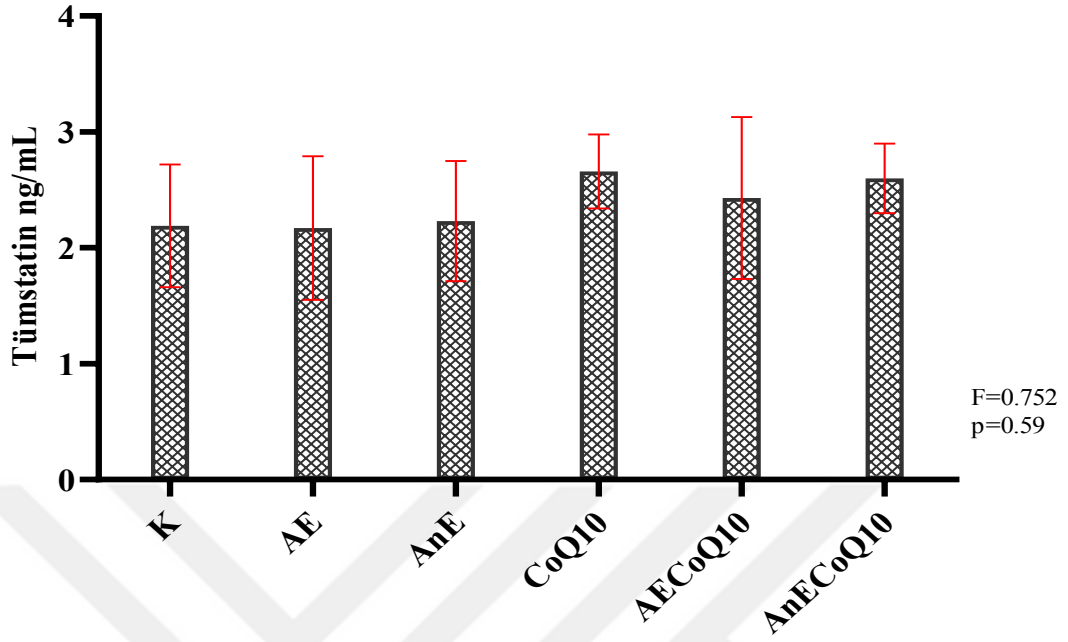
Tablo 6. Kan serum tümstatin ortalamalarını göstermektedir (n=7)

Gruplar	Ort±Ss	F	P
Kontrol	2.19±0.53		
Aerobik Egzersiz	2.17±0.62		
Anaerobik Egzersiz	2.23±0.52		
CoQ10	2.66±0.32	0.752	0.59
Aerobik Egzersiz + CoQ10	2.43±0.70		
Anaerobik Egzersiz + CoQ10	2.60±0.01		

p>0.05

Yukarıdaki tabloya göre kontrol ile diğer gruplar arasında kan serum tümstatin ekspresyonlanma düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktur (F=0.752, P=0.59).

Kan Serum Örnekleri



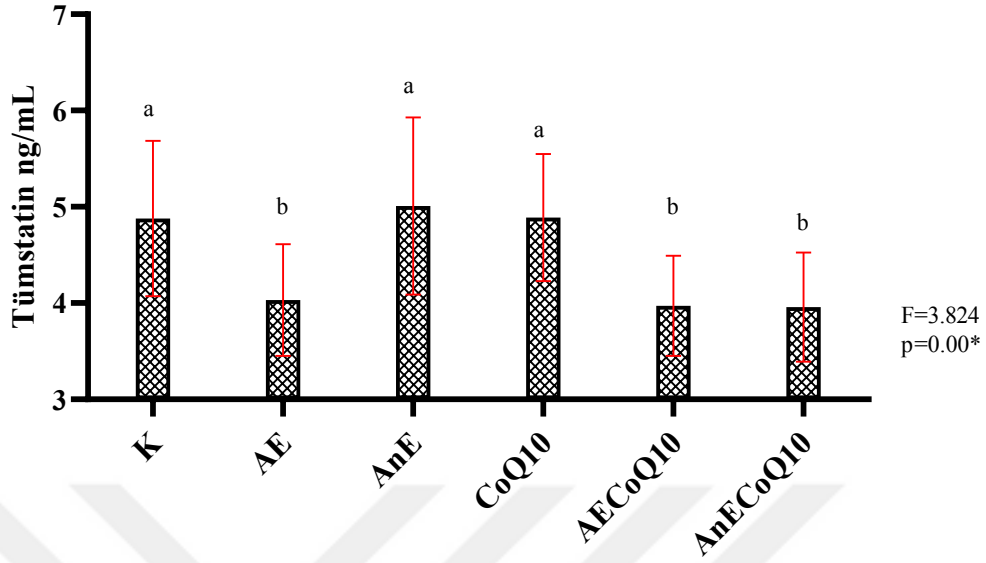
Tablo 7. Kalp kası homojenatlarında tümsatin düzeylerini göstermektedir (n=7)

Gruplar	Ort±Ss	F	P
Kontrol	4.88±0.81 ^a		
Aerobik Egzersiz	4.03±0.58 ^b		
Anaerobik Egzersiz	5.01±0.92 ^a		
CoQ10	4.89±0.66 ^a	3.824	0.00*
Aerobik Egzersiz + CoQ10	3.97±0.52 ^b		
Anaerobik Egzersiz + CoQ10	3.96±0.57 ^b		

*p<0.05; farklı harf taşıyan gruplar arasında anlamlı farklılık vardır.

Yukarıdaki tabloya göre kalp kası tümsatin ekspresyonlanma seviyelerinde grupları arası anlamlı bir fark vardır (F=3.824, P=0.00).

Kalp Kası Homojenat Örnekleri



*Farklı harf taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0.05$).

Farklılığın belirlenmesi için uygulanan Post Hoc testlerine göre fark kontrol ile AE, AECQ10 ve AnECQ10 grupları arasındaydı. Bu durum kontrol grubu kalp kasındaki tümstatin ekspresyon seviyesinin AE, AECQ10 ve AnECQ10 gruplarına göre daha yüksek seviyede olduğunu göstermekteydi.

Bir diğer fark ise AnE ve CoQ10 grupları ile AE, AECQ10 ve AnECQ10 grupları arasındaydı ($F=3.824$, $P=0.00$). Dolayısıyla AnE ve CoQ10 gruplarındaki kalp kası tümstatin ekspresyon seviyesi AE, AECQ10 ve AnE CoQ10 gruplarına göre daha yüksekti.

Tablo 8. İskelet kası homojenatlarında tümstatin düzeylerini göstermektedir (n=7)

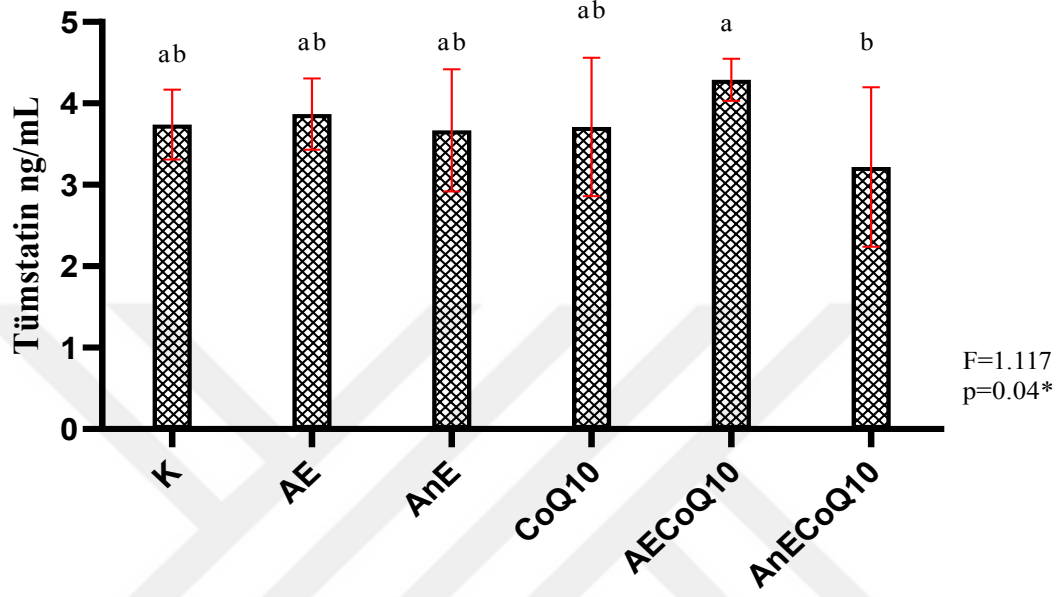
Gruplar	Ort±Ss	F	P
Kontrol	3.74±0.43 ^{ab}	1.117	0.04*
Aerobik Egzersiz	3.87±0.44 ^{ab}		
Anaerobik Egzersiz	3.67±0.75 ^{ab}		
CoQ10	3.71±0.85 ^{ab}		
Aerobik Egzersiz + CoQ10	4.29±0.26 ^a		
Anaerobik Egzersiz + CoQ10	3.22±0.98 ^b		

* $p < 0.05$; farklı harf taşıyan gruplar arasında anlamlı farklılık vardır.

Tablo 8'e göre gruplar arası iskelet kası tümstatin ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir fark vardır ($F=1.117$, $P=0.04$). Bu AECQ10 ile AnECQ10 grupları

arasındaydı. AECoQ10 grubundaki iskelet kası tümstatin ekspresyon seviyesi AnECoQ10 grubuna göre daha yüksekti.

İskelet Kası Homojenat Örnekleri

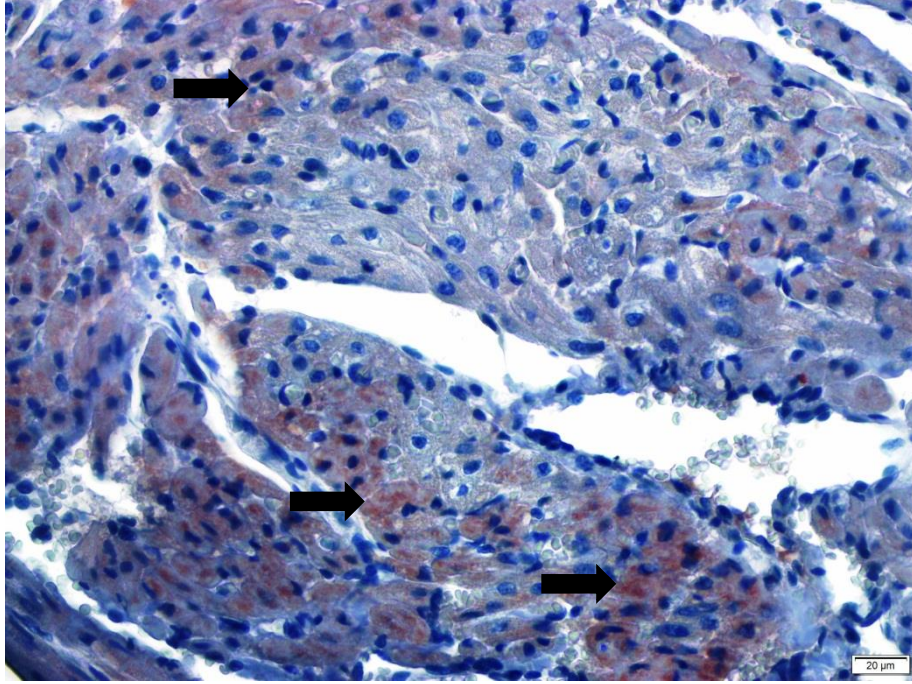


*Farklı harf taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p<0.05).

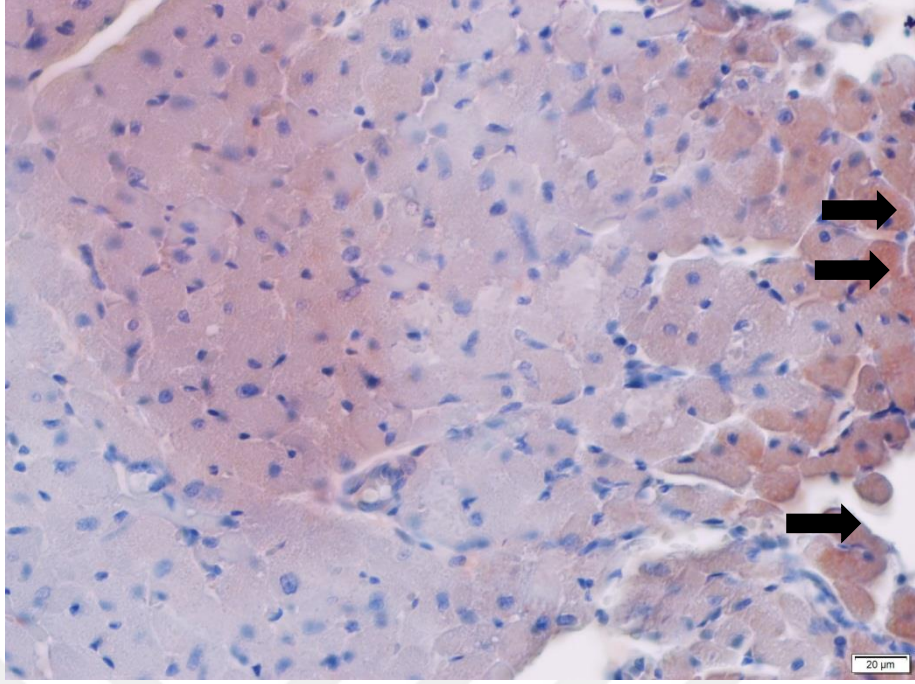
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.3.1. Kalp Kası Dokusuna Ait Bulgular

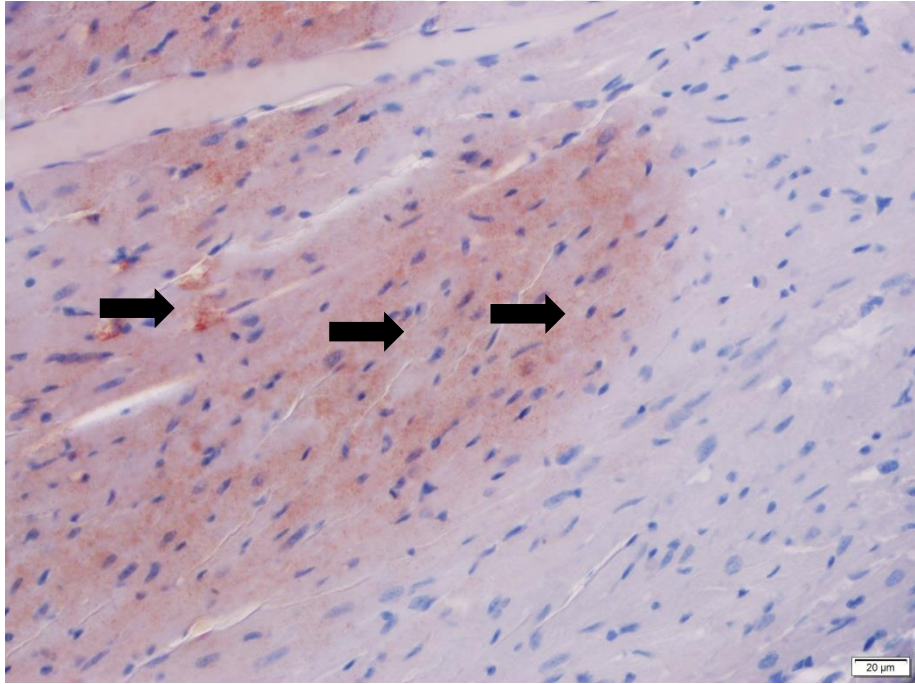
Kalp kası dokusuna ait immünohistokimyasal bulgular incelendiğinde tümstatin pozitifliğine kalp kası hücrelerinde rastlanmıştır. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında kontrol grubu ve CoQ10 grubundaki tümstatin pozitifliği birbirine yakın olduğu ve bu iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi. K grubu ile anaerobik egzersiz grubu birbiri ile karşılaştırıldığında anaerobik egzersiz grubundaki tümstatin pozitifliğinin K grubundan yüksek olduğu görüldü. AE, AECoQ10 ve AnaECoQ10 grupları K grubu ile kıyaslandığında tümstatin pozitifliğinin kontrol grubunda daha yüksek olduğu görüldü. AE, AECoQ10 ve AnaECoQ10 grupları kendi aralarında kıyaslandığında tümstatin pozitifliğinin bu üç grupta birbirlerine yakın olduğu ve aralarında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi.



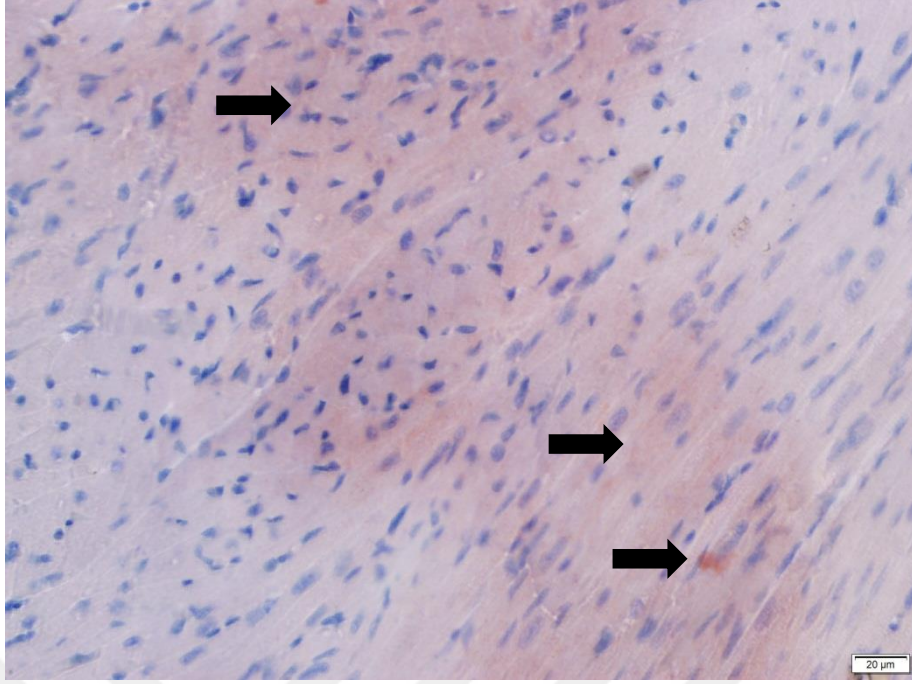
Şekil 17. AE grubuna ait kalp kası dokusu. Kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



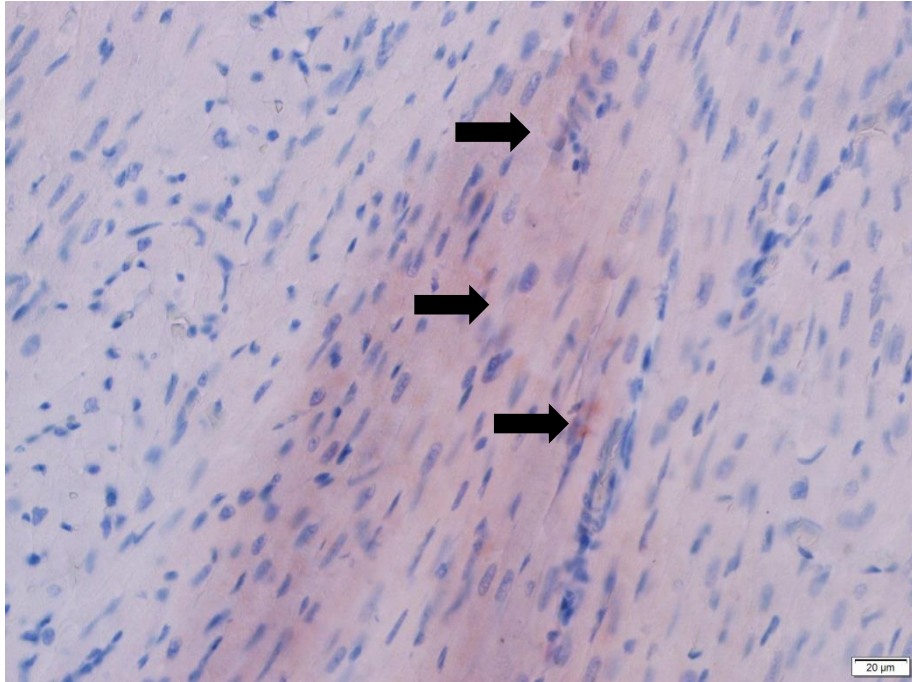
Şekil 18. CoQ10 grubuna ait kalp kası dokusu. Kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



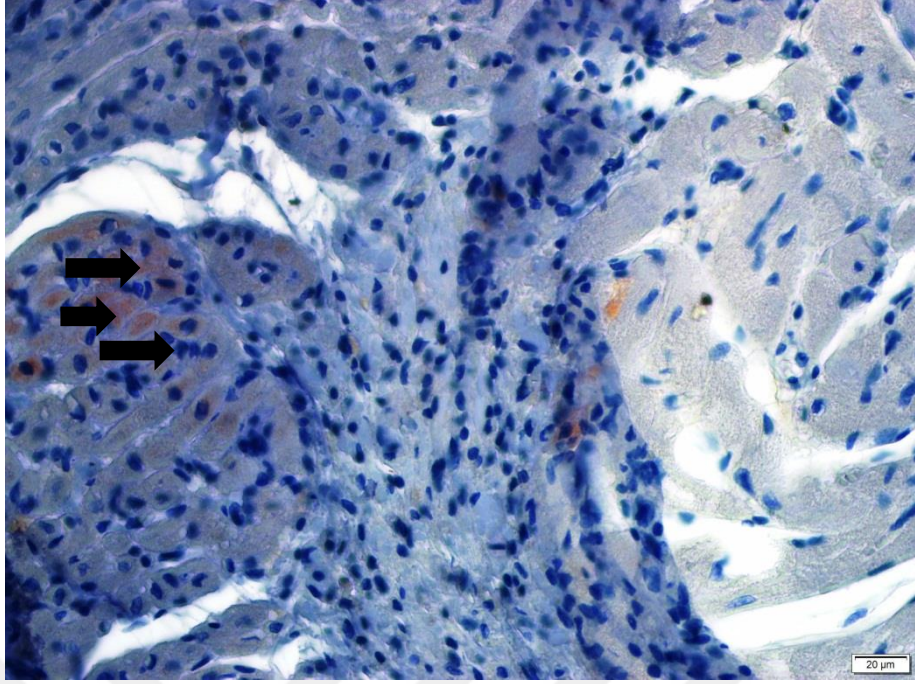
Şekil 19. K grubuna ait kalp kası dokusu. Kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



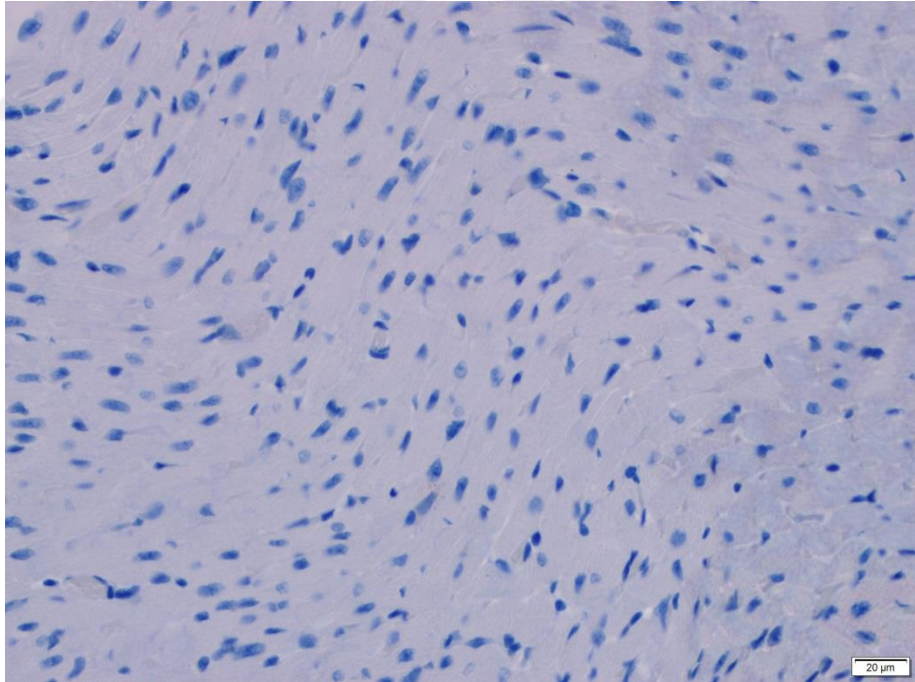
Şekil 20. AnaE grubuna ait kalp kası dokusu. Kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi (Siyah ok).



Şekil 21. AECQ10 grubuna ait kalp kası dokusu. Kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi (Siyah ok).



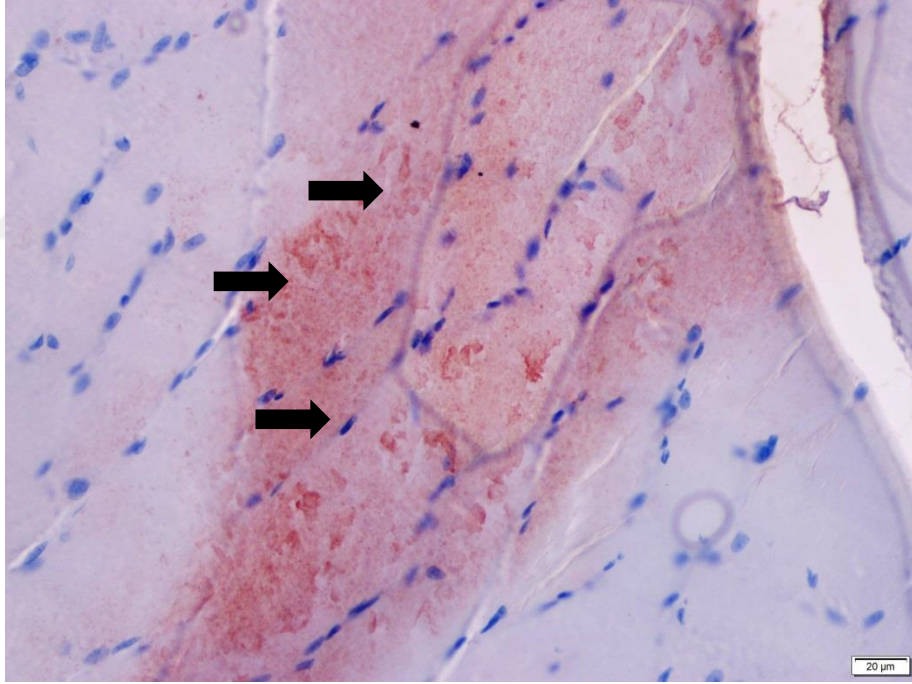
Şekil 22. AnaECoQ10 grubuna ait kalp kası dokusu. Kalp kası hücrelerindeki tümstatin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



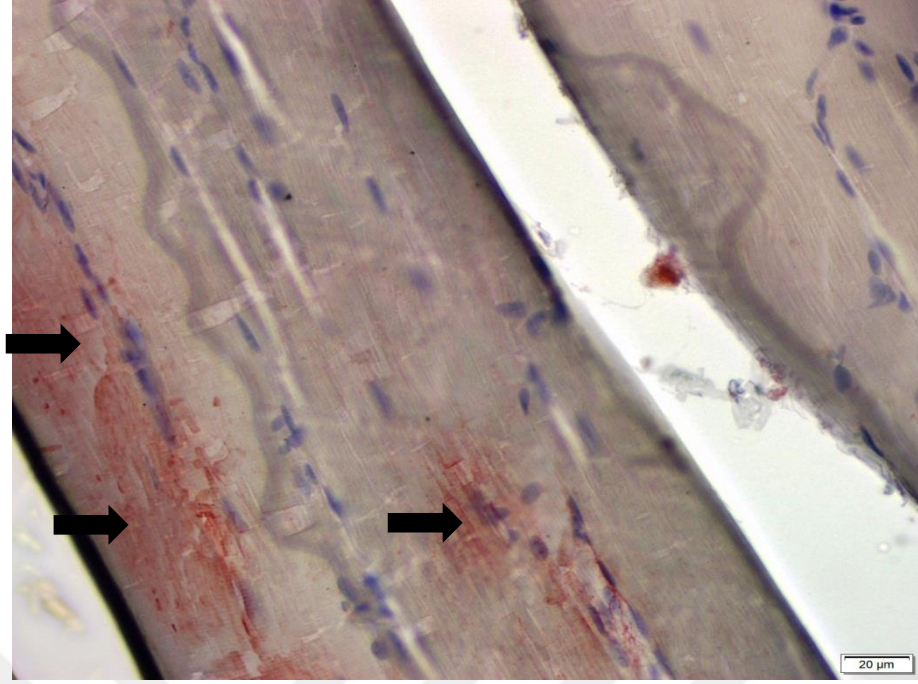
Şekil 23. Negatif kontrol (Kalp kası dokusu).

4.3.2. İskelet Kası Dokusuna Ait Bulgular

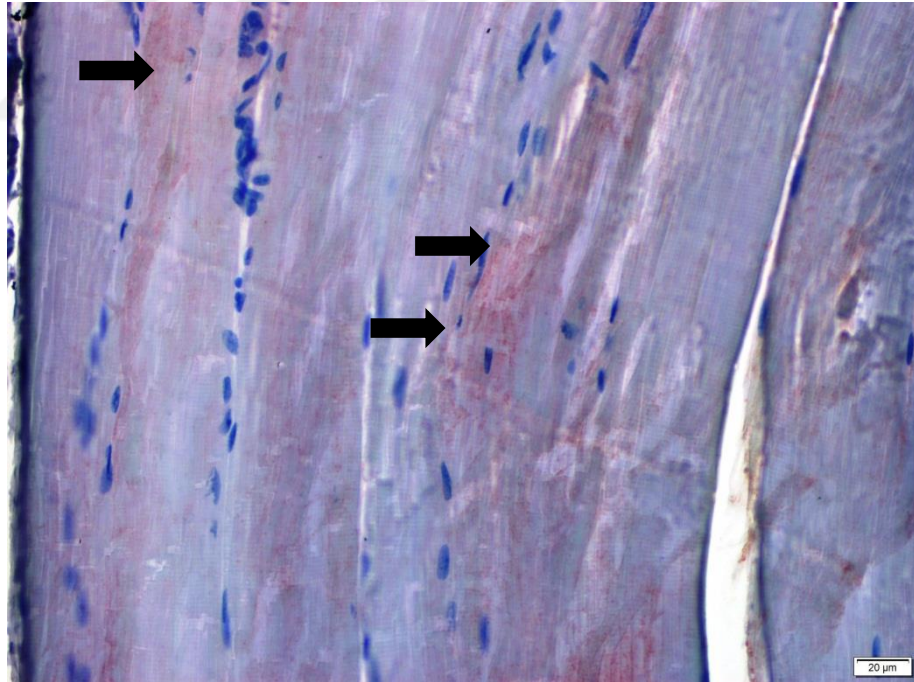
İskelet kası dokusuna ait immünohistokimyasal bulgular incelendiğinde tümstatin pozitifliğine iskelet kası hücreleri ve bantlarda (A Bandı ve I Bandı) rastlanmıştır. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında K grubu, CoQ10 grubu, AE grubu ve AnaE grubundaki tümstatin pozitifliğinin birbirine yakın olduğu ve aralarında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi. AECoQ10 grubu ile K grubu birbiri ile karşılaştırıldığında, AECoQ10 grubundaki tümstatin pozitifliğinin K grubundan yüksek olduğu görüldü. AnaECoQ10 grubu ile K grubu birbiri ile karşılaştırıldığında, AnaECoQ10 grubundaki tümstatin pozitifliğinin K grubundan düşük olduğu görüldü. Elde edilen bulgulara göre en yüksek tümstatin pozitifliğinin AECoQ10 grubunda, en düşük tümstatin pozitifliğinin ise AnaECoQ10 grubunda olduğu gözlemlendi.



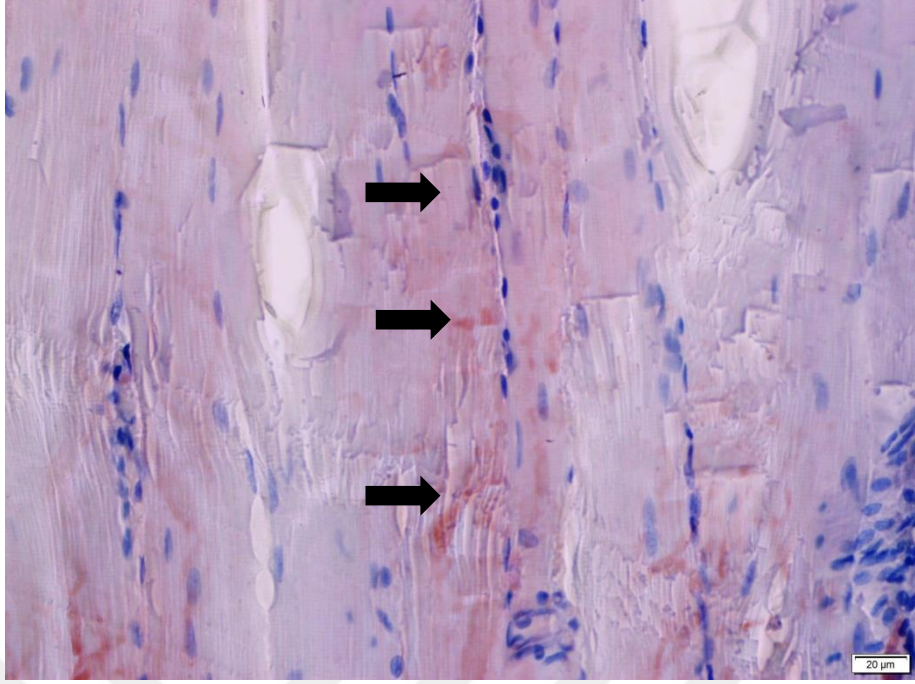
Şekil 24. AECoQ10 grubuna ait iskelet kası dokusu. İskelet kasındaki tümstatin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



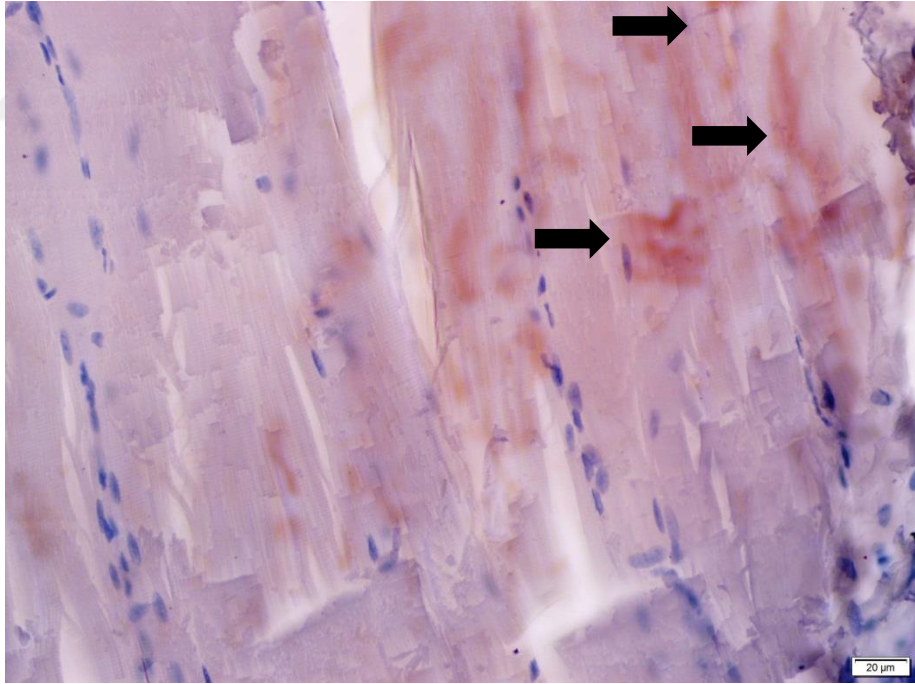
Şekil 25. AE grubuna ait iskelet kası dokusu. İskelet kasındaki tümstatin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



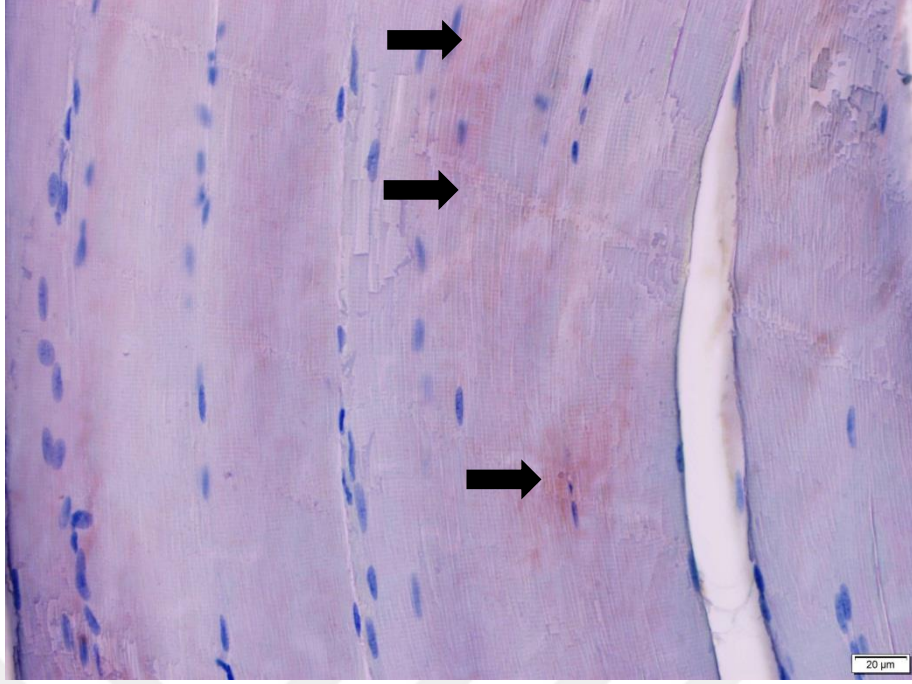
Şekil 26. K grubuna ait iskelet kası dokusu. İskelet kasındaki tümstatin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



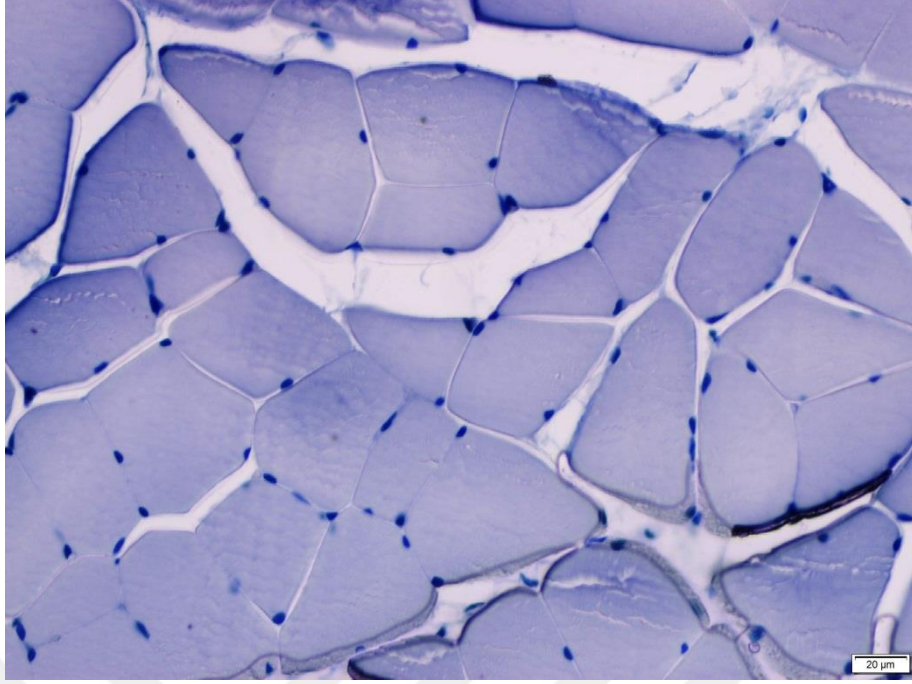
Şekil 27. CoQ10 grubuna ait iskelet kası dokusu. İskelet kasındaki tümstatin immünreaktivitesi (Siyah ok).



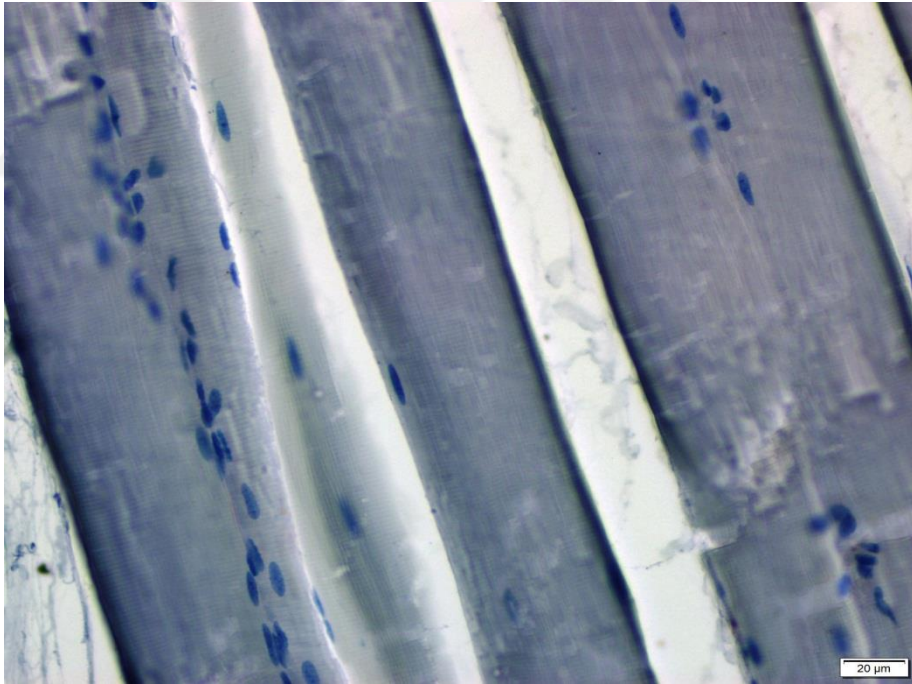
Şekil 28. AnaE grubuna ait iskelet kası dokusu. İskelet kasındaki tümstatin immünreaktivitesi (Siyah ok).



Şekil 29. AnaECoQ10 grubuna ait iskelet kası dokusu. İskelet kasındaki tümstatin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



Şekil 30. Negatif kontrol (İskelet kası dokusu-Enine kesit).



Şekil 31. Negatif kontrol (İskelet kası dokusu-Boyuna kesit).

5. TARTIŞMA

Tez çalışmasının bu bölümünde, farklı egzersiz protokolleri uygulanan sıçanların canlı ağırlıkları, serum lipit profilleri, tümstatin seviyeleri, kalp ve iskelet kas dokusu homojenatlarında tümstatin düzeyleri ve bu değerler üzerine CoQ10 takviyesinin etkisi, histolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak araştırıldı.

Araştırmada, sıçanların altı hafta boyunca her hafta başı (pazartesi) egzersiz uygulamasından önce canlı ağırlıkları takip edildi. Birinci gün kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi ancak diğer hafta başlarında (7, 21, 28, 35, 42.) K grubundaki sıçanlar ile diğer gruplardaki sıçanlar arasında anlamlı bir fark görüldü. Ortaya çıkan bu farklılıkta kontrol grubundaki sıçanların AE, AnE, AnECoQ10, AECQ10 ve CoQ10 gruplarındaki sıçanlara göre en fazla canlı ağırlık değerine ulaştığı izlendi. Canlı ağırlık konusundaki bir diğer önemli fark ise AE grubu ile AECQ10 ve AnECoQ10 grupları arasında olduğu ve AECQ10 ile AnECoQ10 gruplarındaki canlı ağırlığın sadece AE yapan gruba göre daha fazla azaldığı görüldü. Ayrıca canlı ağırlık kaybı konusunda AECQ10 (Ort. 309.57) ve AnECoQ10 (Ort. 313.89) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen AECQ10 grubundaki sıçanların AnECoQ10 grubundaki sıçanlara göre ağırlık kaybının daha fazla olması dikkat çekiciydi. Son olarak gruplar arasında en düşük düzeyde ortalama puanı alıp en fazla ağırlık kaybına uğrayan grubun AECQ10 olduğu tespit edildi. Dolayısıyla çalışmanın 42. gününde gruplar arasında kıyaslanan ağırlık azalışı düşük yoğunluklu egzersiz grubunun yüksek yoğunluklu egzersiz grubuna göre daha fazla gerçekleştiği görüldü. Ayrıca her iki egzersiz yoğunluk modeline takviye edilen CoQ10'in tüm vücut ağırlık kaybındaki düzeye baktığımızda ağırlık kayıplarının hem AECQ10 hemde AnECoQ10 gruplarında en fazla olduğu tespit edildi. Sadece CoQ10 takviyesi alan gruptaki sıçanların tüm vücut ağırlık düzeylerinde ise majör bir değişim olmadığı ve bu gruptaki sıçanların başlangıç ağırlıklarını koruduğu gözlemlendi.

Araştırmada, gruplar arası HDL düzeylerinde anlamlı fark olduğu izlendi. AECQ10, CoQ10 ve AnECoQ10 gruplarındaki HDL seviyesi K grubuna göre daha düşük düzeydeydi. Bir diğer fark ise AECQ10 ve AnE grupları arasındaydı ve AECQ10 grubundaki sıçanların HDL düzeyleri daha düşük seviyedeydi. Ayrıca AECQ10 grubundaki HDL düzeyinin diğer gruplara göre en düşük düzeyde olduğu tespit edildi.

Kronik bir egzersiz uygulaması sonunda serum HDL seviyelerinin K grubu ile kıyaslandığında diğer tüm gruplarda daha düşük düzeyde olması ve AECQ10 grubunda ise HDL düzeyin en düşük değere sahip olması VLDL düzeylerinde meydana gelen düşüş ile ilişkili olabilir. Çünkü VLDL düzeyleri K grubunda en yüksek düzeyde iken AECQ10 grubunda en düşük düzeydeydi. Dolayısıyla kronik bir egzersiz periyoduna bağlı olarak VLDL düzeylerindeki düşüş HDL düzeyinde de bir düşüşü tetiklemiş olabileceğini düşünmekteyiz.

Araştırmada, gruplar arası TG düzeylerinde anlamlı fark olduğu izlendi. K grubu TG seviyesi diğer tüm gruplara göre en yüksek düzeydeyken AECQ10 grubu TG düzeyi ise diğer tüm gruplara göre (AnECQ10 hariç) en düşük seviyedeydi. K grubuna kıyasla diğer AE ve AnE gruplarında düşen TG seviyesi için egzersizin önemli bir uyarıcı olduğu tespit edildi. Ayrıca K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ve diğer tüm gruplara göre ise daha düşük puan ortalaması almış olan AECQ10 ve AnECQ10 gruplarındaki TG seviyesinde düşüş dikkat çekicidir. Araştırmada sunulan TG seviyesindeki bu düşüşün egzersiz uygulamalarına ek olarak uygulanan CoQ10 takviyesi ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz.

Araştırmada, gruplar arası kolesterol düzeylerinde anlamlı fark olduğu tespit edildi. K kolesterol düzeyi diğer tüm gruplara göre (AnE hariç) en yüksek düzeye sahip olduğu görüldü. Ayrıca AECQ10 ve CoQ10 gruplarındaki kolesterol düzeyleri, AnE grubundaki sıçan kolesterol düzeylerine göre daha düşük seviyedeydi.

Egzersiz ve CoQ10 takviyesi ile ilişkili olarak yapılan çalışmalarda, CoQ10 destekli gruplarda egzersiz sonrası FFA (serbest yağ asitleri) düzeylerinde anlamlı artışlar olduğunu, dolayısıyla meydana gelen artışın lipoliz nedeniyle olabileceğini ve bu durumun ise CoQ10 takviyesi verilen gruplardaki düşük serum TG seviyeleri ile açıklanabileceği bildirmişlerdir (114). Çünkü egzersiz serbest yağ asitlerine hidrolize olan ve sonra dolaşıma salınarak kasların çalışması için yakıt sağlayan triaçilgliserol kullanımını arttıracakı vurgulanmıştır (115). Bir önceki çalışmada CoQ10 takviyesinin, akut ve kronik olarak egzersiz yapan sıçanlarda serum kolesterol ve trigliserit konsantrasyonlarını azalttığı bildirilmiştir (116). Daha önce yapılan bir çalışmada ise CoQ10'nin oksidatif stresi azalttığına, endotelial metabolizmaya katıldığına, bunun sonucunda trigliseritlerin lipolizinde ve FFA'nın varlığında bir artışa neden olduğuna inanılmaktadır (117).

Sonuç olarak HDL düzeyindeki düşüşün VLDL düzeyindeki düşüşe paralel olarak azaldığı izlendi. Ayrıca VLDL seviyeleri K grubuyla kıyaslandığında AE uygulamalarına ek olarak CoQ10 takviyesi yapılan grupta (AECQ10) VLDL düzeyinde yaklaşık olarak üç kat daha fazla düşüş görüldü. Dolayısıyla VLDL seviyesindeki iyileşmelere AE ile birlikte CoQ10 takviyesinin terapötik bir etki gösterdiğini düşünmekteyiz. Bu anlamda yüksek TG seviyesini kontrol altına almak veya TG seviyesini düşürmek için egzersizin önemli bir araç olduğunu ifade edebiliriz. Buna ek olarak TG seviyesindeki düşüşten maksimum verim elde edebilmek için egzersiz-CoQ10 bileşimi daha kârlı bir kazanç sunabilir. Bu kombinasyonda en kazançlı grup ise AE ve CoQ10 bileşiminin olduğu dikkat çekmiştir. Bu nedenle AE uygulamalarına ek olarak takviye şeklinde CoQ10 verilmesinin hem TG seviyesini kontrol altına alma hem de TG seviyesini düşürme konusunda daha önemli ve daha etkili bir yöntem olacağı kanaatindeyiz.

Araştırmada, kan serum tümstatin ekspresyonlanma seviyelerinde gruplar arası anlamlı fark tespit edilmedi. Ancak grup ortalamalarını baktığımızda en düşük ortalama AE grubunda görülürken en yüksek ortalama ise CoQ10 grubunda olduğu görüldü.

Araştırmada, kalp kası tümstatin ekspresyonlanma seviyelerinde gruplar arası anlamlı fark tespit edildi. Bu fark K grubu ile AE, AECQ10 ve AnECQ10 grupları arasında olduğu ve K grubundaki sıçanların tümstatin ekspresyonlanma düzeyinin diğer üç gruptaki sıçanlara göre daha yüksek düzeyde olduğu görüldü.

Bir diğer fark ise AnE ve CoQ10 grupları ile AE, AECQ10 ve AnECQ10 grupları arasındaydı. AnE ile CoQ10 gruplarındaki kalp kası tümstatin ekspresyon seviyesi AE, AECQ10 ve AnECQ10 gruplarına göre daha yüksek düzeyde olduğu tespit edildi. Dolayısıyla anjiyogenez regülasyonunda bir inhibitör olarak çalışan tümstatinin AE, AECQ10 ve AnECQ10 gruplarındaki kalp kası tümstatin ekspresyon seviyesinin diğer gruplara göre (K, CoQ10, AnE) düşük seviyede olması bu gruplardaki kalp kasının uyumsal kılcal büyüme hassasiyeti açısından (anjiyogenez; filizlenme ve bölünme) daha istekli olduğunu gösterdi.

Kalp kası, oksijenli kanı ve besinleri çeşitli organlara taşımak ve oksijen açısından yoksunlaşmış kanı akciğerlerde yeniden oksijenlenmek üzere sağ ventriküle yönlendirmek için kapalı bir kan damar sisteminin merkezinde bulunan kaslı yapıya sahip olan bir pompadır (118). Kalp kası, kardiyomiyositlerin hem hiperplazisi hem de hipertrofinin bir sonucu olarak gelişim esnasında geniş ölçüde büyüme ile

sonuçlanır. Yetişkin bir bireyin kalp kası boyutu sabit kalmasına rağmen, kalp kası ihtiyaç duyulan kardiyak debiyi sürdürebilmek için iş yükündeki kronik artışa cevap olarak adaptif büyüme kapasitesini korumak zorundadır. Kalp kasındaki fizyolojik hipertrofi ise egzersize bağlı olarak ortaya çıkan iş yükü tarafından indüklenir (119). Kalp kasının sağlıklı büyümesinde ve homeostazında, kardiyomiyosit büyümesinde, kardiyomiyositlere yeterli oksijen ve besin tedarikini sağlamak ve koroner damar sistemini genişletmek için anjiyogenez oluşumu gereklidir. Fizyolojik hipertrofi sürecindeki kalp kası, kardiyomiyosit boyutundaki orantılı artışlarla birlikte indüklenen anjiyogenezin uyumlanmasına bağlı olarak oksijen kaynağını korur. Ancak patolojik bir durumda artan kardiyomiyositlerin boyutu, hipoksi ve yetersiz kardiyak perfüzyonun bir sonucu olarak vaskülariteye karşılık gelen bir artışla eşleşmediği zaman kardiyomiyositlerin hipertrofi esnasında oksijen tedarikinde aksamalar yaşayacağı (120) ve aşırı yüklenmeye bağlı kardiyak hipertrofi esnasında anjiyogenezin baskılanması erken kalp yetmezliği gelişimine neden olacağı bildirilmiştir (121-123). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, kardiyomiyosit büyümesi ve anjiyogenez arasındaki uyumsuzluğun, adaptiften patolojik hipertrofiye geçişi ve akabinde kalp yetmezliğine giden süreci tetikleyeceği vurgulanmıştır (118). Aksi durumda ise, yani anjiyogenezin uyarılması, basınç-aşırı yük (örneğin: egzersiz) gibi durumlarda meydana gelen kardiyomiyosit hipertrofisine uyumsal kılcal büyümenin eşlik edeceği ve kalp yetmezliği gelişimini baskılayacağı bildirilmiştir (124). Yakın zamanda yapılan çalışmalarda ise, egzersize bağlı oluşan doku hipoksisi göçe eğimli hücrelerde oluşan vasküler filizlenmenin biçimlenmesini ve dolayısıyla anjiyogenezi teşvik edeceği ifadelerine (125) ek olarak egzersizin pro-anjiyogenik faktörlerin (VEGF ve MMP-9 gibi) ekspresyonunu arttırdığı ve anti-anjiyogenik faktörlerin zayıflamasını (tümstasin gibi) uyararak kardiyak anjiyogenezi iyileştirdiği ifade edilmiştir(126). Yaşa bağlı kalp hastalıklarının farmakolojik bir tedavi olmadan egzersiz reçetesi ile giderilebileceği düşünülen Pourheydar ve ark., sürdürmüş oldukları sekiz haftalık deneysel bir çalışmada (genç, yaşlı ve yaşlı + egzersiz grup) egzersizin, yaşlı + egzersiz (YE) grubundaki sıçanların yaşlı (Y) sıçanlara göre miyokardiyal doku hasarını azalttığını bildirmiştir. Ayrıca Y sıçan miyokardındaki anjiyogenez filizlenmesinin genç (G) sıçanlara göre önemli düzeyde azaldığını, sekiz haftalık egzersizin YE kalp kasındaki anjiyogenez oluşumunun ise Y grubuna göre dikkate değer düzeyde arttığı ve YE grubundaki anjiyogenez seviyesinin G sıçanlar ile benzer düzeyde olduğuna dikkat çekmiştir (127).

Araştırmada, kalp kası tümstatin düzeylerinin en düşük düzeyde seyrettiği grupların AE, AECoQ10 ve AnECoQ10 gruplarında olduğunu daha önce belirtmiş ve diğer gruplara göre (K, AnE, CoQ10) anjiyogenez uyarılmasının daha fazla gerçekleşebileceğini ifade etmiştik. Özellikle AE, AECoQ10 ve AnECoQ10 gruplarındaki egzersiz ve egzersize ek olarak CoQ10 takviyesinin göçe meyilli hücrelerde oluşan vasküler filizlenmenin biçimlenmesine uygun ortam oluşturarak anjiyogenezi uyaracağını düşünmekteyiz. Çünkü kardiyomiyositlerin büyümesi; yeterli oksijen döngüsü, kalp kası büyümesi, homeostaz ve besin kaynağının korunmasına bağlıdır. Dolayısıyla AE, AECoQ10 ve AnECoQ10 uygulamalarına bağlı olarak ortaya çıkan aşırı yük, basınç ve uyarılmalara cevap verebilmek için koroner damar sisteminin genişlemesine olan ihtiyaç artmaktadır. Araştırmada bu artan ihtiyaçlar (oksijen ve besin) için uyumsal süreçleri başlatarak yeni geçiş güzergâhlarına AE, AECoQ10 ve AnECoQ10 gruplarının daha iyimser geri bildirimler verdiği tespit edildi.

ECM'nin aşırı yük, basınç ve uyarılmalara (egzersiz gibi) bağlı olarak yeniden şekillenmesi MMP-9'u aktiveleştirir. Aktifleşen MMP-9, ECM bileşenlerinin bölünme ürünlerinin salınımını artırır. Dolayısıyla aşırı yük, basınç ve uyarılmalara maruz kalmış hipertrofik miyokartta anjiyogenez inhibitörlerinin (tümstatin) yukarı doğru regülasyonu kalp kasındaki hipertrofik irileşme ile paralel ilerleyen uyumsal kılcal büyümeyi engelleyerek kalp krizi ile sonuçlanabilecek sürece yol açabileceği bildirilmiştir. Nikolova ve ark., deney hayvanlarında hipertrofik miyokarttaki bu olumsuz kasılma durumunu iyileştirmek için MMP-9 fragmanını bloklamış ve ECM'nin tümstatin ve diğer anjiyogenez inhibitörlerinin aşağı doğru regülasyon gösterdiğini ve kılcal büyümeyi uyardığını ifade etmiştir (128). Çünkü MMP-9 aktivasyonu miyokardiyal kasılma performansının bozulması ile doğrudan ilişkili olduğu ve MMP-9'un engellenmesine bağlı olarak sol ventrikülün yeniden şekillenmesindeki sürecin kolaylaşacağı bildirilmiştir (129).

Araştırmada AE, AECoQ10 ve AnECoQ10 gruplarındaki kalp kası tümstatin ekspresyon seviyelerinin diğer gruplara göre düşük seviyede olması, özellikle egzersiz + CoQ10 takviyesi verilen gruplarındaki tümstatin salınım seviyesinin en düşük ortalamaya sahip olması egzersiz ile birlikte takviye olarak verilen CoQ10'nin kalp kası kasılma fonksiyonlarında veya kalp kasındaki hipertrofik irileşme sürecinde önemli bir koruyucu etkiye sahip olacağını ve ayrıca kalp krizi risklerine karşı miyokardın daha hoşgörülü bir tavır sergileyeceğini düşünmekteyiz. Bu temelde aşırı yük, basınç ve uyarılmalara

(egzersize) maruz kalmış bir kalp kasındaki anjiyogenez inhibitörlerinin ve uyarıcılarının dengesini sağlayarak onları yönünü uygun yöne çevirmek kılcal büyüme denetimi açısından kritik bir öneme sahiptir. Özellikle egzersizin kalp kası üzerinde oluşturmuş olduğu stresi düşündüğümüzde uyumsal kılcal büyümenin kalp kasındaki kasılma fonksiyonlarını iyileştirerek miyokardı koruyacağını ifade edebiliriz. Ayrıca egzersize maruz kalmış ve ECM'ye bağlanmış kardiyomiyositlerin, hipertrofik şekillenmenin bir sonucu olarak boyutları ve dolayısıyla metabolik talepleri artar. Yeniden şekillenmedeki boyut ve metabolik talep artışı yeni kılcal damar varlığında bir ivmelenme ile sonuçlanacaktır. Bu ivmelenmedeki amaç miyokarttaki kasılma fonksiyonlarına destek olabilme çabasıdır. AE, AECQ10 ve AnECQ10 gruplarındaki tümstatin düzeyinin diğer gruplara göre anlamlı düzeyde düşük olması bu gruplarda anjiyogenez için daha ılıman bir iklim olduğunu ve buna bağlı olarak miyokardın kasılma fonksiyonlarının desteklenmesinde adaptif kılcal büyümenin diğer gruplara göre (K, AnE, CoQ10) daha iyi bir düzeyde seyrettiğini söyleyebiliriz. Son olarak AnE grubun diğer tüm gruplara göre kalp kası tümstatin ekspresyon seviyesinin en yüksek seviyede olması, ECM'i parçalamak için MMP-9'un gönülsüz davranacağını düşünmekteyiz. Buna bağlı olarak bu gruptaki sıçanların anjiyogenez inhibitörlerinden tümstatin düzeyinin yüksek olması kalp kası kasılma sistematiğini arkalayacak veya egzersiz stresine maruz kalmış kalp kasındaki hipertrofik büyümeyi destekleyecek kılcal damar büyüme uyarılardan yoksun kalacağını ifade edebiliriz. Bu yoksunluğu ortadan kaldırmak için özellikle kalp kası açısından, anaerobik egzersizlerden önce aerobik egzersizler ile kalp kası uyumsal kılcal büyüme desteklenmeli veya anaerobik egzersizlerle birlikte CoQ10 takviyesi kombine edilerek kalp kasındaki kasılma fonksiyonları için daha iyi refah ortamı oluşturulması gerektiğine inanmaktayız. Bu bakış açısı hem kalp kası sağlığının korunmasına hem de daha iyi performans çıktısına kıymetli bir alt yapı oluşturacaktır. Ayrıca sağlıklı hipertrofik miyokart ve sağlıklı miyokart kasılma fonksiyonları için egzersiz şiddetinin ve CoQ10 takviyesinin oluşturacağı etkilerin göz ardı edilmemesi gerektiğini vurgulamak isteriz.

Sonuç olarak AE, AECQ10 ve AnECQ10 gibi uygulama modellerinin adaptif patolojik hipertrofiye geçiş ve kalp yetmezliğine giden süreci önleyerek yaşa bağlı kalp hastalıklarına karşı güçlü bir savunma hattı oluşturacağına inanmaktayız. Ayrıca bu grup modellerindeki miyokardın anjiyogenez arzusu göçe meyilli hücrelerde vasküler filizlenmeyi uyararak egzersiz bağlı adaptif kılcal büyümeyi destekleyecektir. Oluşan yeni kılcal damarlar kardiyomiyositlere yeterli oksijen ve besin taşıyacak ve bunun

sonucunda miyokardın kasılma fonksiyonlarını iyileştirecektir. Kasılma fonksiyonları iyileşmiş olan bir miyokartta kardiyak debi kapasitesi gelişecektir. Bu gelişim kalp kasının egzersiz süresine ve şiddetine bağlı ortaya çıkan farklı stres durumlarında miyokartta daha güçlü cevaplar bulacak ve dolayısıyla miyokart daha fazla güç çıktısı sunacaktır. Miyokartta ortaya çıkan bu verimsel çıktı performansı pozitif yönde etkileyecektir. Bu durumda sedanter bireyler ve egzersize yeni başlayanlar açısından bakacak olursak AnE temelli yüksek yoğunluklu interval antrenman (HIIT) uygulamalarının sağlıklı bir kalp kası hikâyesi oluşturmayacağını ifade edebiliriz. Ayrıca tüm bireyler için (sedanter, egzersize yeni başlayanlar ve performans sporcuları) aerobik egzersiz temelli başlangıçlara ek olarak AnE veya AnE temelli HIIT uygulamaları ile birlikte CoQ10 takviyesi yapması kalp kası adaptif kılcal damar gelişimini uygun yöne çevirerek kardiyak debiyi uyumlu bir hâle getirecektir.

Araştırmada, iskelet kası homojenat tümstatin ekspresyonlanma düzeylerinde gruplar arası anlamlı fark tespit edildi. Bu farkın AECoQ10 grubu ile AnECoQ10 grupları arasında olduğu ve AECoQ10 grubundaki sıçanların tümstatin ekspresyonlanma düzeyinin AnECoQ10 grubundaki sıçanlara göre daha yüksek düzeyde olduğu görüldü. Ayrıca diğer gruplar arasında anlamlı bir fark olmamasına rağmen gruplardaki puan ortalamalarının birbirinden bağımsız ve en yüksek puan ortalamasına sahip olan grupların ise sırasıyla AECoQ10, AE, K, CoQ10, AnE ve AnECoQ10 şeklinde olduğunu tespit edildi.

İskelet kası, hareket kabiliyeti sağlayan ve tüm vücut metabolik homeostazının korunması için kritik olan plastik bir organdır (130, 131). Egzersize maruz kalan bu plastik organ egzersize cevap verebilmek için oksijen ve besin alımını ciddi oranda arttırma eğilimindedir (132, 133). Bu eğilim ile birlikte aktif kas liflerini çevreleyen damarlardan kan akışı saniyeler içinde artar (134-136). Devamında oksijen, glikoz ve diğer besinler kan damar ağı vasıtasıyla kasa iletilir. Dolayısıyla tekrarlanan egzersiz nöbetlerine cevap olarak mevcut kılcal damarlardan yeni kılcal damar oluşumu olarak ifade edilen anjiyogenez oluşum süreci başlar (137, 138). Yirminci yüzyılın başlarında Krogh; oksijen difüzyonu, besin alımı ve/veya toksik atık ürünlerin ortadan kaldırılması için yüzey alanını artırarak kan-doku değişim yeteneğinin geliştirilmesi vaskülaritedeki yoğunluk artışına bağlı olduğunu ifade etmiştir (139). Bu ifade daha fazla anjiyogenez yoğunluğu daha fazla değiş tokuş anlamına denk gelmektedir.

Araştırmada, yüksek yoğunluklu ve uzun süreli (20 dk boyunca 25m/dk/) bir egzersize bağlı olarak AnECoQ10 grubundaki sıçanların tümstatin seviyelerinin diğer gruplara göre en düşük seviyede olması bu gruptaki sıçan iskelet kasında anjiyogenezin yukarı doğru regüle olmasına zemin oluşturmaktadır. Çünkü yüksek yoğunluklu ve uzun süreli egzersize bağlı olarak oksijen ve besin talebinin artması, daha hızlı oksijen difüzyon ihtiyacı ve kan-doku arasındaki moleküler değişim hızı kapiler yoğunluktaki artışa bağlıdır. Dolayısıyla anjiyogenez regülasyonunda önemli bir inhibitör olarak çalışan tümstatinin AnECoQ10 gruplarındaki iskelet kası ekspresyon seviyesinin diğer gruplara (AECQ10, AE, K, CoQ10, AnE) göre en düşük ortalamaya sahip olmasını, egzersiz şiddeti ve CoQ10 takviyesine verilmiş bir cevap olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca kasın egzersiz şiddetine ve CoQ10 takviyesine göstermiş olduğu bu reaksiyona bağlı olarak iskelet kasında anjiyogenez oluşumun da gayretli bir havanın olduğunu söyleyebiliriz.

Literatürde egzersiz şiddeti ve anjiyogenez arasındaki ilişki açısından kısıtlı bilgiler olması bizi AE ve AnE grupları arasında bir değerlendirme yapmaya yönlendirmiştir. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen AnE grubundaki tümstatin düzeyinin aşağı doğru regüle olması yüksek şiddetli bir egzersizde anjiyogenez mekanizmalarının harekete geçme arzusunu göstermektedir. Ayrıca AE ve AnE egzersiz uygulamalarına ek olarak CoQ10 takviyesi tümstatin salınım düzeyini önemli oranda etkiledi. Özellikle AnECoQ10 grubundaki tümstatin salınım düzeyi aşağı doğru regüle oldu. Bu bakımdan AnECoQ10 grubu iskelet kası anjiyogenez regülasyon mekanizmasındaki moleküler hareketliliğin daha dinamik bir tavır sergilediğini ifade edebiliriz. Dolayısıyla bu gruptaki sıçanların iskelet kaslarında anjiyogeneze karşı gösterilen adaptif yanıt konusunda daha hassas olduklarını düşünmekteyiz. AnECoQ10 grubundaki bu hassasiyetin temel nedenini ise şöyle açıklayabiliriz: Yüksek yoğunluklu ve uzun süreli (20 dk boyunca 25m/dk) bir egzersize bağlı olarak hipoksik ortam şartları, oksijen ve besin taleplerinin artması, oksijen difüzyonu ve atıkların ortamdan uzaklaştırılması, özetle; metabolik homestaz için damar yüzey alanındaki genişleme gerekliliğine bağlı olarak tümstatinin göstermiş olduğu iyimser tavır anjiyogenezin bu grupta yukarı doğru tetiklenmesine rehberlik etmiştir.

AECQ10 grubundaki puan ortalamalarının diğer gruplara göre en yüksek düzeyde olmasındaki etkenin ise CoQ10 olduğunu ve bu takviyenin sıçan mitokondri solunum fonksiyonlarında yaratmış olduğu ekstra aerobik ortam ile ilişkili olduğunu

düşünmekteyiz. Bu kapsamda CoQ10'nin özellikle ATP üretim sistematüğinde ortaya çıkan iş yükünü hafifletici etkisi itibariyle tümstatin düzeyini diğer gruplara göre yukarı regüle ederek anjiyogenezi inhibe ettiğini söyleyebiliriz.

Daha önce yapılan deneysel çalışmalarda, zorunlu koşu bandı egzersizi yapan fare iskelet kası anjiyogenezinde önemli bir artışın meydana gelmesi için en az 6 hafta geçmesi gerektiği ancak gönüllü olarak tekerlek koşusu yapan farelerin çalışmaya başladıktan sadece 5-7 gün sonra iskelet kası kapiler yoğunluğunda bir artışın olacağı ifade edilmiştir (92). Yine maksimal eforları (egzersiz yoğunluğunun) %50'nin üzerinde olan ve koşu bandında koşmak zorunda bırakılan farelerde meydana gelen kas kılcallanmasındaki değişimin gözlemlenebilmesi için ise 6 hafta veya daha uzun bir sürenin geçmesi gerektiği, yüksek hacimli (uzun süreli) ve düşük yoğunluklu (şiddetli) egzersiz programları düşük hacimli (kısa süreli) ve yüksek yoğunluklu (şiddetli) egzersiz programlarına göre anjiyogenez oluşum sürecinin tetiklenmesinde daha hızlı bir uyum oluşmasına imkan vereceği bildirilmiştir (93-95). 8 haftalık orta yoğunlukta arttırımlı koşu bandı egzersizinden sonra ise sıçan iskelet kasındaki VEGF mRNA ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (140).

Yakın zamanda yapılan deneysel çalışmalarda da düşük yoğunluklu ve yüksek hacimli (uzun süreli) egzersiz modelleri daha güçlü anjiyogenik uyarın üretebilir düşüncesine benzer bir görüşün devam ettiğini ifade edebiliriz (96). Bu görüşlerdeki çıkış noktası egzersizin, anjiyogenezin yukarı regülasyonu da dâhil olmak üzere bir dizi adaptasyonu indüklediği gerçeğine dayandırılmaktadır (141). Öte yandan Das ve ark., yapmış oldukları gözlemlerde kılcal damar yoğunluğundaki artışın farelerde koşma performansını geliştirdiğini ifade ederek egzersiz-anjiyogenez ilişkisine farklı bir bakış açısı sunmuştur (142). Gorski ve De Bock ise kas vaskülarizasyonundaki artışın temelde egzersize karşı verilen erken adaptif bir cevap olduğunu ve kan damarlarındaki bu yoğunluk artışının egzersiz performansını arttırarak metabolik sisteme tümüyle tesir edip sistemik bir etki yaratacağını vurgulamıştır (143). Chen ve ark., iskelet kasının egzersize verdiği yanıtındaki moleküler değişiklikleri ve düzenleyici mekanizmaları ortaya çıkarmaya çalıştıkları farklı bir araştırmada ise 11 genç ve sağlıklı erkeğin vastus lateralis kasından 22 biyopsi örneği almış ve VEGFA, COL4A1 (*tümstatin*) ve COL4A2'nin HIIT'e yanıt olarak iskelet kasında yukarı doğru regüle olduğunu ileri sürmüştür. Dolayısıyla HIIT egzersizlerinin iskelet kasındaki anjiyogenez mekanizmaları üzerinde düzenleyici etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (144). Yine yüksek yoğunluklu egzersizde,

mitokondriyal biyogenez, anjiyogenezin yukarı regülasyonu ve ayrıca kas lifi tipi transformasyonu gibi bir dizi iskelet kası adaptasyonuna yol açtığı ifade edilmiştir (145). Buna ek olarak yorucu egzersizin mitokondriyal biyogenez ve anjiyogenez nedeniyle artan dayanıklılıktan hipertrofi temelli artan kas gücüne kadar iskelet kası adaptasyonlarını indüklemek için güçlü bir uyarıcı olduğu vurgulanmıştır (146).

Dolayısıyla egzersiz ve anjiyogenez temelli yapılan çalışmalarda, iskelet kasının egzersize vermiş olduğu adaptif yanıtlarından birinin anjiyogenez regülasyonundaki moleküler hareketlilik olduğunu ve egzersiz şiddetinin anjiyogenezin uyarılması konusundaki etkisi farklı çalışmalarda, farklı zamanlarda farklı sonuçlar şeklinde karşımıza çıkmıştır. Özellikle geçmiş yıllarda yüksek hacimli (uzun süreli) ve düşük yoğunluklu (şiddetli) yani aerobik egzersizlere cevap olarak iskelet kasındaki kapiler adaptasyonun daha fazla gerçekleştiği ifade edilmişti. Bunun aksine son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise özellikle HIIT gibi düşük hacimli (kısa süreli) ve yüksek yoğunluklu (şiddetli) yani anaerobik egzersizlerin anjiyogenez üzerinde düzenleyici etkilere sahip olduğu vurgulanmıştı. Bu kapsamı ile egzersiz süresi ve egzersiz şiddetinin anjiyogenez ve anjiyogenez mekanizmaları üzerinde regüle edici bir etkisinin olduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca egzersiz süresi ve şiddeti özelindeki bir diğer önemli nokta ise Porporato ve arkadaşlarının (147) “*laktat birikimi anjiyogenezi uyarır*” şeklindeki ifadesidir. Araştırmadaki laktik asit (LA) birikiminin alt yapısını destekleyen protokole bağlı kalarak (AnE ve AnECoQ10 grupları için) uygulamış olduğumuz egzersiz protokolü LA'nın tümstatin düzeyini aşağı doğru regüle ederek anjiyogenez mekaniğinde sistemik bir etki yarattığı kanaatindeyiz. Dolayısıyla anaerobik gruplardaki egzersiz uygulamaları bağlı olarak artan LA seviyesi anjiyogenez oluşumunu yukarı doğru regüle etmiştir.

Anjiyogenik faktörlerin yanıtlarını inceleyen direnç egzersizi temelli deneysel başka bir araştırmada, 10 sağlıklı erkeğe diz ekstansörleri ile 50 maksimal eksantrik kas hareketi yaptırılmıştır. Eksantrik egzersizden önce ve 6, 48, 120 saat sonra vastus letaralis kasından kas biyopsisi alınmış ve bir anjiyopoietin reseptörü olan Tie-2'nin, Ang-1 ve Ang-2'nin egzersizden sonra 6. saatte alınan ölçümde yukarı doğru bir regülasyon gösterdiği ve geçici bir süre sonra aşağı doğru bir regülasyona döndüğü ifade edilmiş. Benzer bir ifade anjiyogenezle ilişkili olan VEGF, VEGF-2 ve HIF (Hipoksi İndüklene Faktör) faktörleri içinde kullanılmıştır. Çalışmanın sonunda ise anjiyogenik faktörlerin eksantrik egzersize vermiş oldukları yanıtın akut düzeyde olduğunu ifade edilmiştir

(148). Bu kapsamda anjiyogenik faktörlerin regülasyonu ve bu regülasyona bağlı olarak anjiyogenez denetimi özellikle sporcular için büyük bir öneme sahiptir. Çünkü anjiyogenez sporcu iskelet kası dokusundaki kasılma-gevşeme fonksiyonlarında hayati bir rol oynayan yeni kılcal damar oluşumunun fizyolojik sürecidir. Dolayısıyla proanjiyogenik ve anti-anjiyogenik bir denge olarak “anjiyogenik anahtarın” görevindeki aksaklık iskelet kasının fonksiyonel çalışması için gerekli kaynakların azalması ile sonuçlanacak ve bu da sporcudaki verim çıktısını olumsuz etkileyerek performans düşüşlerine neden olacaktır (149).

Literatüre; egzersiz, anjiyogenez ve hastalık anahtar kelimeleri odağında bakacak olursak kapilarizasyonun kas insülin duyarlılığı, kas kütlesi bakımı, onarımı, muhafazası ve egzersize cevap olarak göstermiş olduğu tolerans açısından önemli olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca iskelet kası kapilarizasyonunun kronik hastalıklarda ve sağlıklı yağlanma sürecinde azalacağı ancak egzersiz uygulamaları ile iskelet kası kapiller sayısında artışların olacağı vurgulanmıştır (150). Yine alt ekstremitelerde bozulmuş kan akışı tarafından karakterize edilmiş periferik arter hastalığı (PAD) yürümeye bağlı olarak oluşan ağrı (klodikasyon) ve egzersiz intoleransına neden olacağı ve iskelet kasının egzersiz konusundaki göstermiş olduğu bu tahammülsüzlüğün iskelet kası kapiller yoğunluğundaki azalma ve kasa sunulan oksijen miktarındaki aksamalardan kaynaklanacağı bilinen bir gerçekliktir. Yapılan deneysel çalışmalarda kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında PAD hastalarındaki iskelet kası kapiller yoğunluğun daha az olduğu (151, 152) PAD hastalarındaki egzersize toleransı ile kapiller yoğunluk arasında pozitif ilişkiye (153, 151) ek olarak PAD hastalarındaki klodikasyon başlama zamanı ile kapiller yoğunluk arasında pozitif bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir (151). Duscha ve ark., gastroknemius kası biyopsisi ve anaerobik eşiği değerlendirmek için tredmilde kardiyopulmoner egzersiz testini uyguladığı 37 PAD hastasında iskelet kası kapiller yoğunluğu, VO₂ peak ve anaerobik eşiğin kontrol grubuna göre azaldığını ifade ederek PAD grubunun egzersize göstermiş olduğu tahammülsüzlüğün oksidatif metabolizmaya ve sınırlı düzeyde iskelet kası kılcal yoğunluğuna bağlı olduğunu bildirmiştir. Bu durumun kılcal damar yoğunluğu, anaerobik eşik ve klodikasyon septomları arasındaki ilişkiden kaynaklandığını vurgulamıştır (154).

Sonuç olarak, egzersiz iskelet kası kapiller adaptasyon sürecini düzenleyen VEGF, MMP-9 ve tümstatin gibi denetçilerin moleküler salınım düzeylerini etkileyerek anjiyogenez oluşumunda önemli bir uyarıcıdır. AE (orta şiddetli egzersiz) veya AnE

(yüksek şiddetli egzersiz) gruplarındaki tümstatin düzeyleri arasında önemli farklılığın olmadığı ancak CoQ10 takviyesine bağlı olarak tümstatin ekspresyon düzeyi AECQ10 grubunda yukarı, AnECQ10 grubunda ise aşağı doğru bir tavır sergileyerek anjiyogenez oluşumunu regüle etmiştir. Dolayısıyla AnECQ10 grubundaki sıçan iskelet kası diğer gruplara göre daha erken adaptif kılcal uyum göstermiştir. Ayrıca AnECQ10 kombinasyonu ile birlikte iskelet kası kapilarizasyon sayısındaki artış iskelet kasının egzersize olan toleransını, mitokondriyal solunum fonksiyonlarını, performans veya verim çıktısını geliştirerek PDA gibi alt ekstremitte hastalıklarının iyileştirilmesine katkı sunabilir.

Çalışma, 8 haftalık wistar albino ırk erkek sıçan, aerobik ve anaerobik treadmill egzersiz uygulamaları, serum, iskelet kası ve kalp kası dokuları, 0.5 ml/gün/kg CoQ10 takviyesi ile sınırlandırılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada elde edilen sonuçlara göre;

1. Tüm vücut ağırlık kaybı açısından yüksek yoğunluktaki egzersizlerin düşük yoğunluktaki egzersizlere göre daha iyi sonuçlar verdiği ancak hem düşük yoğunluktaki egzersizlerden hem de yüksek yoğunluktaki egzersizlerden maksimum verim almak için CoQ10 takviyesinin daha etkili ve daha iyi bir tercih olduğu görüldü. Ayrıca sadece CoQ10 takviyesinin bile tüm vücut ağırlığını kontrol etme konusundaki yeteneğini de vurgulanabilir.
2. VLDL, TG ve kolesterol seviyelerinde terapötik bir etki ortaya çıkarmak ve daha iyi bir reçete ile maksimum verim alabilmek için AE uygulamalarına ek olarak CoQ10 takviyesi diğer seçeneklere göre 2 kat daha etkili olacağını ifade edebiliriz.
3. AE uygulamalarına ek olarak CoQ10 takviyesi ile ortaya çıkan lipit profilindeki iyileşmelere bağlı olarak kardiyovasküler risk belirteçleri konusunda terapötik bir etki gösterebilir.
4. Özellikle son zamanlarda yapılan spor müsabakalarında, müsabaka esnasında ortaya çıkan miyokart enfarktüsü olumsuz durumlar dikkatimizi çekmiştir. Bu nedenle hem düşük hem de yüksek yoğunluktaki egzersiz uygulamalarına maruz kalan sporcuların takviye şeklinde tüketileceği CoQ10'in; miyokartın hipertrofik geçiş sürecinde adaptif kılcal damar gelişimi için, kardiyomiyositlerin oksijen, besin ve diğer talepleri için, miyokart kasılma fonksiyonları için, miyokartta verimsel performans çıktısını iyileştirmek için ve kalp yetmezliği ile ilişkili süreçleri baskılayarak sağlıklı bir kalp kası hikâyesi oluşturmak için tümstatin salınımını etkileyerek anjiyogenez oluşumu konusunda önemli bir takviye olduğunu düşünülmektedir.
5. İskelet kası kasılma fonksiyonları için oksijen, besin ve diğer taleplerin karşılanması önemlidir. Daha önce iskelet kasının kapiler adaptasyona vermiş olduğu yanıtın 6 haftadan önce olmayacağını sadece akut bir etki ile görülebileceği ifade edilmişti. Bu ifade, araştırmadaki düşük yoğunluktaki egzersiz (AE) gruplarıyla eşleşmektedir ancak yeni bir gelişme olarak AnE ve özellikle AnECoQ10 grubundaki tümstatin salınımının aşağı doğru harekete

geçmesi dikkat çekicidir. Dolayısıyla AnE egzersizlerin (AE'leden farklı olarak) temelde tümstatin salınımını 6 hafta gibi bir sürede aşağı doğru hareket ettirebileceğini ifade edebiliriz ancak vurgulamak istediğimiz nokta şudur: AnE uygulamalarına ek olarak yapılan CoQ10 takviyesi tümstatin salınımını 6 hafta gibi bir sürede önemli düzeyde düşürerek anjiyogenez oluşumunu diğer gruplara göre önemli düzeyde uyarılmış ve AnECoQ10 grubundaki sıçan iskelet kaslarındaki kapiler cevap daha erken gerçekleşmiştir. Bu durumun egzersize bağlı ortaya çıkan taleplerin karşılanması ve performans çıktısını destekleyecek kas kasılma fonksiyonları için önemli bir ferah ortamı oluşturmaktadır.

6. Daha sonra yapılacak çalışmalarda egzersiz uygulamalarına kuvvet egzersizleri eklemek veya farklı bir dozda CoQ10 takviye etmek; egzersiz, tümstatin ve anjiyogenez ilişkisine farklı bir bakış açısı kazandıracakı düşünülmektedir.
7. Araştırmaya başlamadan önce yapılan incelemelerde tümstatin ile ilgili çalışmaların kanser-tümör odaklı çalışmalar etrafında şekillendiği ve tümstatin ekspresyon seviyesinin anjiyogenez regülasyonunda önemli olduğunu vurgulayan bilim insanları; eğer bu mekanik sistemi, yani tümstatin salınımını ve dolayısıyla anjiyogenez kontrol edersek aslında kanserli tümör büyümesini kontrol edebiliriz şeklinde bir algının ortaya çıkmasına rehberlik etmişlerdir. Bu nedenle araştırmamız, egzersiz yoğunluğu (şiddeti) ve CoQ10 takviyesinin tümstatin salınım düzeyini etkilediği ve dolayısıyla anjiyogenez regüle edebileceği gerçeğinden yola çıkarak daha sonra yapılacak kanser-tümör çalışmaları için yeni bir model olarak kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. Soya H, Mukai A, Deocaris CC, Ohiwa N, Chang H, Nishijima T, Fujikawa T, Togashi K, Saito T. Threshold-like pattern of neuronal activation in the hypothalamus during treadmill running: establishment of a minimum running stress (MRS) rat model. *Neurosci Res* 2007, 58(4): 341-8.
2. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987, 235(4787): 442-7.
3. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997, 386(6626): 671-4.
4. Gavin TP, Wagner PD. Effect of short-term exercise training on angiogenic growth factor gene responses in rats. *J Appl Physiol* 2001, 90(4): 1219-26.
5. Pescatello LS, Thompson WR, Gordon NF. A preview of ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. *ACSM's Health Fitness Journal* 2009, 13(4): 23-6.
6. Şenocak E. Tip 2 Diyabetli Hastalarda Farklı Şiddetteki Gözetimli Egzersiz Programlarının Egzersiz Kapasitesi ve Kognitif Fonksiyon Üzerine Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon ABD. Yüksek Lisans tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, 2019.
7. Kurtman N. Evre 1-3 Meme Kanseri Hastalarına Uygulanan Aerobik Egzersizlerin Yaşam Kalitesi ve Umut Düzeyine Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Niğde: Niğde Ömer Halis Demir Üniversitesi, 2019.
8. Akcan F. Farklı Şiddetlerde Uygulanan Aerobik ve Anaerobik Egzersizlerin Sporcu ve Sedanterlerde Serum İrisin Seviyesine Akut Etkisinin İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Doktora tezi, Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi, 2018.
9. Frontera WR, Slovik DM, Dawson DM. Exercise in rehabilitation medicine. *Human Kinetics* 2006, 13-23.
10. Hsu CL, Best JR, Davis JC, Nagamatsu LS, Wang S, Boyd LA, Hsiung GR, Voss MW, Eng JJ, Liu-Ambrose Teresa. Aerobic exercise promotes executive functions and impacts functional neural activity among older adults with vascular cognitive impairment. *Br J Sports Med* 2018, 52(3): 184-91.
11. Güleröglü F. Anaerobik Egzersiz Sonrası Oluşan Yorgunluğun Sporcuların Zihinsel Dayanıklılık Düzeylerine Akut Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü,

- Beden Eğitimi ve Spor Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Kahramanmaraş: Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, 2017.
12. Bencke J, Damsgaard R, Saekmose A, Jorgensen P, Jorgensen K, Klausen K. Anaerobic power and muscle strength characteristics of 11 years old elite and non- elite boys and girls from gymnastics, team handball, tennis and swimming. *Scand J Med Sci Sports* 2002, 12(3): 171-8.
 13. Karatan OV. Yetişkin Bireylerde Aerobik Egzersiz Programının Kan Lipitleri ve Vücut Kompozisyonu Üzerine Etkileri. Sosyal Bilimler Enstitüsü, Rekreasyon Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Muğla: Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi 2016, 2012.
 14. Kowaltowski AJ, Anıbal EV. Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stres. *Free Rad Biol Med* 1999, 26(3-4): 463-71.
 15. Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, Ahmad AS, Islam F. Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. *Behav Brain Res* 2006, 171(1): 9-16.
 16. Overvad K., Diamant B., Holm L., Hølmer G., Mortensen S., Stender S. Coenzyme Q 10 in health and disease. *Eur J Clin Nutr* 1999, 53(10), 764-70.
 17. Stocker R, 2007, "Coenzyme Q10." Reviewed, Linus Pauling Institute Micronutrient Research for Optimum Health, <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/othernuts/coq10/>, Son Erişim Tarihi: 5 Eylül 2009.
 18. Wolf DE, Hoffman CH, Trenner NR, Arison BH, Shunk CH, Linn BO, McPherson JF, Folkers K. Coenzyme QI Structure studies on the coenzyme Q group. *J Am Chem Soc* 1958, 80(17):47-52.
 19. Nohl H, Andrey VK, Stainek K, Gille L. The multiple functions of coenzyme Q. *Bioorganic Chemistry* 2001, 29(1): 1-13.
 20. Schulz C, Obermüller-Jevic UC, Hasselwander O, Bernhardt J, Biesalski HK. Comparison of the relative bioavailability of different coenzyme Q10 formulations with a novel solubilizate (Solu™ Q10). *Int J Food Sci Nutr* 2006, 57(7-8): 546-55.
 21. Hatanaka J, Kimura Y, Lai-Fu Z, Onoue S, Yamada S. Physicochemical and pharmacokinetic characterization of water-soluble Coenzyme Q(10) formulations. *Int J Pharm* 2008, 363(1-2): 112-7.

22. Crane F,. "The coenzyme Q group (ubiquinones)." Progress in the chemistry of fats and other lipids. 1964, 7: 267-89.
23. Bhagavan HN, Chopra RK, Craft NE, Chitchumroonchokchai C, Failla ML. Assesment of coenzyme Q10 absorbtion using in vitro digestion-Caco-2 cell model. *Int J Pharm* 2007, 333: 112-17.
24. Mancini A, Marinis D, Calabro F, Sciuto R, Oradei A, Lippa S, Sandric S, Littarru GP, Barbarino A. Evaluation of metabolic status in amiodarone- induced thyroid disorders: plasma coenzyme Q10 determination. *J Endocrinol Invest* 1989, 12(8): 511-6.
25. Turunen M, Olsson J, Dallner G. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochim Biophys Acta Akta* 2004, 1660(1-2) : 171-99.
26. Acosta MJ, Fonseca LV, Desbats MA, Cerqua C, Zordan R, Trevisson E, Salviati L. Coenzyme Q biosynthesis in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2016, 1857(8): 1079-85.
27. Alcazar-Fabra, M, Navas P, Brea-Calvo G. Coenzyme Q biosynthesis and its role in the respiratory chain structure. *Biochim Biophys Acta* 2016, 1857(8): 1073-8.
28. Crane FL. Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr* 2001, 20(6): 591-8.
29. Greenberg S, Frishman WH. Coenzyme Q10: a new drug for cardiovascular disease. *J Clinical Pharmacol* 1990, 30(7): 596-608.
30. Gürkan AS, Dündar OB. Coenzyme Q10. *Ankara Ecz Fak Derg* 2005, 34 (2): 129-54.
31. Purchas RW, Busboom JR, Wilkinson BHP. Changes in the forms of iron and in concentrations of taurine, carnosine, coenzyme Q10, and creatine in beef longissimus muscle with cooking and simulated stomach and düodenal digestion. *Meat Science* 2006,74(3):443-9.
32. ERNA, 2008, <http://www.erna.org/userfiles/coq10.pdf>, Son Erişim Tarihi: 10.09.2022 (The European Responsible Nutrition Alliance), "Coenzyme Q10".
33. Kontush A, Reich A, Baum K, Spranger T, Finckh B, Kohlschutter A, Beisiegel U. Plasma ubiquinol is decreased in patients with hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 1997, 129(1): 119-26.
34. Altekin E. HMG CoA Redüktaz İnhibitörlerinin Plazma Ubikinon, ATP Düzeyi ve Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Tıp Fakültesi,

- Biyokimya Ana Bilim Dalı. Uzmanlık tezi, İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 1999.
35. Åberg F, Appelkvist EL, Dallner G, Ernster L. Distribution and redox state of ubiquinones in rat and human tissues. *Arch Biochem Biophys* 1992, 295(2): 230-4.
 36. Sohal RS, Forster MJ. Coenzyme Q, oxidative stress and aging. *Mitochondrion* 2007, 7(Suppl): 103-11.
 37. Mataix J, Manas M, Quiles J, Battino M, Cassinello M, Lopez-Frias M, Huertas JR. Coenzyme Q content depends upon oxidative stress and dietary fat unsaturation. *Mol Aspects Medicine* 1997, 18(Suppl): 129-35.
 38. Goldfarb AH. Antioxidants: role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* 1993, 25(2): 232-6.
 39. Jackson MJ, Khassaf M, Vasilaki A, Ardle MC. Vitamine E and oxidative stress of exercise. *Ann N Y Acad Sci* 2004, 1031:158-68.
 40. Davies KJ, Qumtaniha AT, Brooks GA, Packer L. Free Radicals and Tissue Damage Produced by Exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 1982, 107(4): 1198-205.
 41. Van Klaveren RJ, Nemery B. Role of reactive oxygen species in occupational and environmental obstructive pulmonary diseases. *Curr Opin Pulm Med* 1999, 5(2): 118-23.
 42. Ernster L. Lipid peroxidation in biological membranes: mechanisms and implications. In: Yagi K (ed). *Active Oxygens, Lipid Peroxides and Antioxidants*, 1sted. Boca Raton, CRC Press, FL. 1993: 1-38.
 43. Kaikkonen J, Tuomainen TP, Nyssonen K, Salonen J. Coenzyme Q10: absorption, antioxidative properties, determinants and plasma levels. *Free Radic Res* 2002, 36(4):389-97.
 44. Toyama K, Sugiyama S, Oka H, Gwasaki Y, Sumida H, Tanaka T, Tayama S, Jinnouchi H, Matsui K, Ogawa H. Rosuvastatin combined with regular exercise preserves coenzyme Q10 levels associated with a significant increase in high-density lipoprotein cholesterol in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2011, 217 (1):158-64.
 45. Challem J. *User's guide to nutritional supplements: become an expert on what nutritional supplements can do for your health*. 1sted. North Bergen, Basic health publications inc. 2003: 79-80.

46. Mizuno K, Tanaka M, Nozaki S, Mizuma H, Ataka S, Tahara T, Sugino T, Shirai T, Kajimoto Y, Kuratsune H, Kajimoto O, Watanabe Y. Antifatigue effects of coenzyme Q10 during physical fatigue. *Nutrition* 2008, 24(4): 293-9.
47. Cooke M, Iosia M, Buford T, Shelmadine B, Hudson G, Kerksick C, Rasmussen C, Greenwood M, Leutholtz B, Willoughby D, Kreider R. Effects of acute and 14-day coenzyme Q10 supplementation on exercise performance in both trained and untrained individuals. *J Int Soc Sports Nutr* 2008, 5: 8.
48. Tauler P, Ferrer MD, Sureda A, Pujol P, Drobic F, Tur JA, Pons A. Supplementation with an antioxidant cocktail containing coenzyme Q prevents plasma oxidative damage induced by soccer. *Eur J Appl Physiol* 2008, 104(5): 777-85.
49. Gökbel H, Gül İ, Belviranlı M, Okudan N. The effects of coenzyme Q10 supplementation of performance during repeated bouts of supramaximal exercise in sedentary man. *J Strength Cond Res* 2010, 24(1): 97-102.
50. Günel T, Göksever Çelik H, Diz Küçükaya R, Alkaç İM, Aydın K. İnsan hastalıklarında endotel fonksiyon ve disfonksiyonunun moleküler mekanizmaları. *İKSSTD* 2020, 12(3): 201-16.
51. Bushway ME, Gerber SA, Fenton BM, Miller RK, Lord EM, Murphy SP. Morphological and phenotypic analyses of the human placenta using whole mount immunofluorescence. *Biol Reprod* 2014, 90(5): 110-1.
52. Baergen RN. Manual of benirschke and kaufmann's pathology of the human placenta. Springer: New York, 2005.
53. Benirschke K, Baergen RN. Pathology of the Human Placenta. Springer: New York, 2005.
54. Burton GJ, Jauniaux E. Sonographic, stereological and doppler flow velocimetric assessments of placental maturity. *Br J Obstet Gynaecol* 1995, 102(10): 818-25.
55. Demir R, Kaufmann P, Castelluci M, Erben T, Kotowski A. Fetal vasculogenesis and angiogenesis in human placental villi. *Acta Anat (Basel)* 1989, 136(3): 190-203.
56. Jauniaux E, Burton GJ, Moscoso GJ, Hustin J. Development of the early human placenta: a morphometric study. *Placenta* 1991, 12(3): 269-76.

57. Mayhew TM. Fetoplacental angiogenesis during gestation is biphasic, longitudinal and occurs by proliferation and remodelling of vascular endothelial cells. *Placenta* 2002, 23(10): 742-50.
58. Jirkovska M, Janacek J, Kalab J, Kubinova L. Three-dimensional arrangement of the capillary bed and its relationship to microrheology in the terminal villi of normal term placenta. *Placenta* 2008, 29(10): 892-7.
59. Kaufmann P. Basic morphology of the fetal and maternal circuits in the human placenta. *Contrib Gynecol Obstet* 1985, 13: 5-17.
60. Chen DB, Zheng J. Regulation of placental angiogenesis. *Microcirculation* 2014, 21(1): 15-25.
61. Poole TJ, Finkelstein EB, Cox CM. The role of FGF and VEGF in angioblast induction and migration during vascular development. *Dev Dyn* 2001, 220(1): 1-17.
62. Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, Cross MJ. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cellular Signalling* 2007, 19(10): 2003-12.
63. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2005, 9(2): 267-85.
64. Liekens S, Clercq ED, Neyts J. Angiogenesis: regulators and clinical applications. *Biochem Pharmacol* 2001, 61(3): 253-70.
65. Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases in angiogenesis: A moving target for therapeutic intervention. *J Clin Invest* 1999, 103(9): 1237-41.
66. Rozario T, DeSimone DW. The extracellular matrix in development and morphogenesis: a dynamic view. *Dev Biol* 2010, 341(1): 126-40.
67. Kalluri R. Basement membranes: Structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2003, 3(6): 422-33.
68. Kerbel R, Folkman J. Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nat Rev Cancer* 2002, 2(10): 727-39.
69. Amaral SL, Papanek PE, Greene AS. Angiotensin II and VEGF are involved in angiogenesis induced by short-term exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001, 281(3): H1163-9.
70. Dursun AD, Fıçıcılar H, Baştuğ M, Tekin, D. Kısa dönem antrenmanın iskelet kasında kaveolin ve VEGF ekspresyonu üzerine etkisi. *Spor Bilimleri Dergisi* 2013, 24(1): 11-24.

71. Richardson RS, Wagner H, Mudaliar SRD, Henry R, Noyszewski EA, Wagner PD. Human VEGF gene expression in skeletal muscle: effect of acute normoxic and hypoxic exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999, 277(6): 247-52.
72. Richardson RS, Wagner H, Mudaliar SRD, Saucedo E, Henry R, Wagner PD. Exercise adaptation attenuates VEGF gene expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000, 279(2): 772-8.
73. Breen EC, Johnson EC, Wagner H, Tseng HM, Sung LA, Wagner PD. Angiogenic growth factor mRNA responses in muscle to a single bout of exercise. *J Appl Physiol* 1996, 81(1): 355-61.
74. Andersen P, Henriksson J. Capillary supply of the quadriceps femoris muscle of man: adaptive response to exercise. *J Physiol* 1977, 270(3): 677-90.
75. Suzuki J, Gao M, Batra S, Koyama T. Effects of treadmill training on the arteriolar and venular portions of capillary in soleus muscle of young and middle-aged rats. *Acta Physiol Scand* 1997, 159(2): 113-21.
76. Waters RE, Rotevatn S, Li P, Annex BH, Yan Z. Voluntary running induces fiber type-specific angiogenesis in mouse skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004, 287(5): C1 342-8.
77. Hudlicka O, Brown M, Egginton S. Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiol Rev* 1992, 72(2): 369-417.
78. Hoppeler H, Kayar S. Capillarity and oxidative capacity of muscles. *Physiology* 1988, 3(3): 113-6.
79. Uchida C, Nwadozi E, Hasanee A, Olenich S, Olfert IM, Haas TL. Muscle-derived vascular endothelial growth factor regulates microvascular remodelling in response to increased shear stress in mice. *Acta physiologica* 2015, 214(3):349-60.
80. Dawson JM, Hudlicka O. The effects of long term administration of prazosin on the microcirculation in skeletal muscles. *Cardiovasc Res* 1989, 23(11): 913-20.
81. Andersen P, Saltin B. Maximal perfusion of skeletal muscle in man. *J Physiol* 1985, 366: 233-49.
82. Adair TH. Growth regulation of the vascular system: an emerging role for adenosine. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005, 289(2): 283-96.
83. Baum O, Da Silva-Azevedo L, Willerding G, Wockel A, Planitzer G, Gossrau R, Pries AR, Zakrzewicz A. Endothelial NOS is main mediator for shear stress-

- dependent angiogenesis in skeletal muscle after prazosin administration. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004, 287(5): H2 300-8.
84. Pearce SC, Hudlicka O, Brown MD. Effect of indomethacin on capillary growth and microvasculature in chronically stimulated rat skeletal muscles. *J Physiol* 2000, 526(Pt 2): 435-43.
 85. Degens H, Turek Z, Hoofd LJ, Van't Hof MA, Binkhorst RA. The relationship between capillarisation and fibre types during compensatory hypertrophy of the plantaris muscle in the rat. *J Anat* 1992, 180(Pt 3): 455-63.
 86. Tomanek RJ, Torry RJ. Growth of the coronary vasculature in hypertrophy: mechanisms and model dependence. *Cell Mol Biol Res* 1994, 40(2): 129-36.
 87. Zhou AL, Egginton S, Brown MD, Hudlicka O. Capillary growth in overloaded, hypertrophic adult rat skeletal muscle: an ultrastructural study. *Anatomical Rec* 1998, 252(1): 49-63.
 88. Haas TL, Milkiewicz M, Davis SJ, Zhou AL, Egginton S, Brown MD, Madri JA, Hudlicka O. Matrix metalloproteinase activity is required for activity-induced angiogenesis in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000, 279(4): H1540-7.
 89. Egginton S, Zhou AL, Brown MD, Hudlicka O. Unorthodox angiogenesis in skeletal muscle. *Cardiovasc Res* 2001, 49(3): 634-46.
 90. Egginton S. Invited review: activity-induced angiogenesis. *Pflügers Arch* 2009, 457(5): 963-77.
 91. Egginton S. Physiological factors influencing capillary growth. *Acta Physiol (Oxf)* 2011, 202(3): 225-39.
 92. Olenich J, Kiilerich K, Pilegaard H. PGC-1alpha-mediated adaptations in skeletal muscle. *Pflügers Arch* 2010, 460(1): 153-62.
 93. Cocks M, Shaw CS, Shepherd SO, Fisher JP, Ranasinghe AM, Barker TA, Tipton KD, Wagenmakers AJ. Sprint interval and endurance training are equally effective in increasing muscle microvascular density and eNOS content in sedentary males. *J Physiol* 2013, 591(3): 641-56.
 94. Hoier B, Nordsborg N, Andersen S, Jensen L, Nybo L, Bangsbo J, Hellsten Y. Pro- and anti-angiogenic factors in human skeletal muscle in response to acute exercise and training. *J Physiol* 2012, 590(3): 595-606.

95. Jensen L, Bangsbo J, Hellsten Y. Effect of high intensity training on capillarization and presence of angiogenic factors in human skeletal muscle. *J Physiol* 2004, 557(Pt 2): 571-82.
96. Olfert IM, Baum O, Hellsten Y, Egginton S. Advances and challenges in skeletal muscle angiogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2016, 310(3): H326-36.
97. Folkman J. Endogenous angiogenesis inhibitors. *APMIS* 2004, 112 (7-8): 496-507.
98. Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nat Med* 1995, 1(2): 149-53.
99. Folkman J. Incipient angiogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2000, 92(2): 94-5.
100. Maeshima Y, Colorado PC, Torre A, Holthaus KA, Grunkemeyer JA, Ericksen MB, Hopfer H, Xiao Y, Stillman IE, Kalluri R. Distinct antitumor properties of a type IV collagen domain derived from basement membrane. *J Biol Chem* 2000a, 275(28): 21 340-8.
101. Gioia M, Monaco S, Van Den Steen PE, Sbardella D, Grasso G, Marini S, Overall CM, Opdenakker G, Coletta M. The collagen binding domain of gelatinase A modulates degradation of collagen IV by gelatinase B. *J Mol Biol* 2009, 386(2): 419-34.
102. Sand JM, Larsen L, Hogaboam C, Martinez F, Han M, Larsen MR, Nawrocki A, Zheng Q, Karsdall MA, Leeming DJ. MMP mediated degradation of type IV collagen alpha 1 and alpha 3 chains reflects basement membrane remodeling in experimental and clinical fibrosis - validation of two novel biomarker assays. *PLoS One* 2013, 8(12): 849-34.
103. Hamano Y, Zeisberg M, Sugimoto H, Lively CJ, Maeshima Y, Yang C, Hynes RO, Werb Z, Sudhakar A, Kalluri R. Physiological levels of tumstatin, a fragment of collagen IV alpha3 chain, are generated by MMP-9 proteolysis and suppress angiogenesis via alphaV beta3 integrin. *Cancer Cell* 2003, 3(6): 589-601.
104. Hamano Y, Kalluri R. Tumstatin, the NC1 domain of a3 chain of type IV collagen, is an endogenous inhibitor of pathological angiogenesis and suppresses tumor growth. *Biochem Biophys Res Commun* 2005, 333(2): 292-8.

105. Maeshima Y, Colorado PC, Kalluri R. Two RGD-independent α_3 integrin binding sites on tumstatin regulate distinct anti-tumor properties. *J Biol Chem* 2000b, 275 (31): 23 745-50.
106. Maeshima Y, Manfredi M, Reimer C, Holthaus KA, Hopfer H, Chandamuri BR, Kharbanda S, Kalluri R. Identification of the anti angiogenic site within vascular basement membrane derived tumstatin. *J Biol Chem* 2001a, 276(18): 15 240-8.
107. Maeshima Y, Yerramalla UL, Dhanabal M, Holthaus KA, Barbashov S, Kharbanda S, Reimer C, Manfredi M, Dickerson WM, Kalluri R. Extracellular matrix-derived peptide binds to α_3 integrin and inhibits angiogenesis. *J Biol Chem* 2001b, 276(34): 319 59-68.
108. Petitclerc E, Boutaud A, Prestayko A, Xu J, Sado Y, Ninomiya Y, Sarras Jr MP, Hudson BG, Brooks PC. New functions for Non-collagenous domains of human collagen type IV. Novel integrin ligands inhibiting angiogenesis and tumor growth in vivo. *J Biol Chem* 2000, 275(11): 8051-61.
109. Ravi R, Mookerjee B, Bhujwala ZM, Sutter CH, Artemov D, Zeng Q, Dillehay LE, Madan A, Semenza GL, Bedi A. Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha. *Genes Dev* 2000, 14(1): 34-44.
110. Suhr F. Extracellular matrix, proteases and physical exercise. *Deutsche Zeitschrift fur Sportmedizin* 2019, 70(4): 97-104.
111. Lesmana R, Iwasaki T, Iizuka Y, Amano I, Shimokawa N, Koibuchi N. The change in thyroid hormone signaling by altered training intensity in male rat skeletal muscle. *Endocr J* 2016, 63(8): 727-38.
112. Hidaka T, Fujii K, Funahashi I, Fukutomi N, Hosoe K. Safety assessment of coenzyme Q10 (CoQ10). *Biofactors* 2008, 32(1-4): 199-208.
113. Kautz L, Jung G, Valore EV, Rivella S, Nemeth E, Ganz T. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nature genetics* 2014, 46(7): 678-84.
114. Chen HC, Huang CC, Lin TJ, Hsu MC, Hsu YJ. Ubiquinol supplementation alters exercise induced fatigue by increasing lipid utilization in mice. *Nutrients* 2019, 11(11): 25-50.
115. Mika A, Macaluso F, Barone R, Di Felice V, Sledzinski T. Effect of exercise on fatty acid metabolism and adipokine secretion in adipose tissue. *Front Physiol* 2019, 10:26.

116. Pala R, Beyaz F, Tuzcu M, Er B, Sahin N, Cinar V, Sahin K. The effects of coenzyme Q10 on oxidative stress and heat shock proteins in rats subjected to acute and chronic exercise. *J Exerc Nutrition Biochem* 2018, 22(3): 14-20.
117. Suksomboon N, Poolsup N, Juanak N. Effects of coenzyme Q10 supplementation on metabolic profile in diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Phar Ther* 2015, 40(4): 413-8.
118. Hemanthakumar KA, Kivela R. Angiogenesis and angiocrines regulating heart growth. *Vasc Biol* 2020, 2(1): 93-104.
119. Shimizu I, Minamino T. Physiological and pathological cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 2016, 97: 245-62.
120. Mohammed SF, Hussain S, Mirzoyev SA, Edwards WD, Maleszewski JJ, Redfield MM. Coronary microvascular rarefaction and myocardial fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation* 2015, 131(6): 550-9.
121. Izumiya Y, Shiojima I, Sato K, Sawyer DB, Colucci WS, Walsh K. Vascular endothelial growth factor blockade promotes the transition from compensatory cardiac hypertrophy to failure in response to pressure overload. *Hypertension* 2006, 47(5): 887-93.
122. Sano M, Minamino T, Toko H, Miyauchi H, Orimo M, Qin Y, Akazawa H, Tateo K, Kayama Y, Harada M, Shimizu I, Asaraha T, Hamada H, Tomita S, Molkentin JD, Zou Y, Komuro I. p53-induced inhibition of Hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature* 2007, 446(7134): 444-8.
123. Oka T, Akazawa H, Naito AT, Komuro I. Angiogenesis and cardiac hypertrophy: maintenance of cardiac function and causative roles in heart failure. *Circulation Research* 2014, 114(3): 565-71.
124. Friehs I, Margossian RE, Moran AM, Cao-Danh H, Moses MA, del Nido PJ. Vascular endothelial growth factor delays onset of failure in pressure-overload hypertrophy through matrix metalloproteinase activation and angiogenesis. *Basic Res Cardiol* 2006, 101(3): 204-13.
125. Zhang B, Wang D, Ji TF, Shi L, Yu JL. Overexpression of lncRNA ANRIL up-regulates VEGF expression and promotes angiogenesis of diabetes mellitus combined with cerebral infarction by activating NF- κ B signaling pathway in a rat model. *Oncotarget* 2017, 8(10): 17347-59.

126. Yazdani F, Shahidi F, Karimi P. The effect of 8 weeks of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on cardiac angiogenesis factor in diabetic male rats. *J Physiol Biochem* 2020, 76(2): 291-9.
127. Pourheydar B, Biabanghard A, Azari R, Khalaji N, Chodari L. Exercise improves aging-related decreased angiogenesis through modulating VEGF-A, TSP-1 and p-NF- κ b protein levels in myocardiocytes. *J Cardiovasc Thorac Res* 2020, 12(2): 129-35.
128. Nikolova A, Ablasser K, von Ballmoos MCW, Poutias D, Kaza E, McGowan FX, Moses MA, del Nido PJ, Friehs I. Endogenous angiogenesis inhibitors prevent adaptive capillary growth in left ventricular pressure overload hypertrophy. *Ann Thorac Surg* 2012, 94(5): 1509-17.
129. Ducharme A, Frantz S, Aikawa M, Rabkin E, Lindsey M, Rohde LE, Schoen FJ, Kelly RA, Werb Z, Libby P, Lee RT. Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myocardial infarction. *J Clin Invest* 2000, 106(1): 55-62.
130. DeFronzo RA, Jacot E, Jequier E, Maeder E, Wahren J, Felber JP. The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. *Diabetes* 1981, 30(12): 1000-7.
131. Meyer C, Dostou JM, Welle SL, Gerich JE. Role of human liver, kidney, and skeletal muscle in postprandial glucose homeostasis. *Am J of Physiol Endocrinol Metab* 2002, 282(2): E419-27.
132. Ahlborg G, Felig P, Hagenfeldt L, Hendler R, Wahren J. Substrate turnover during prolonged exercise in man. *J Clin Invest.* 1974, 53(4): 1080-90.
133. Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metabolism* 2013, 17(2): 162-84.
134. Murrant CL, Sarelius IH. Coupling of muscle metabolism and muscle blood flow in capillary units during contraction. *Acta Physiol.* 2000, 168(4): 531-41.
135. Kindig CA, Richardson TE, Poole DC. Skeletal muscle capillary hemodynamics from rest to contractions: implications for oxygen transfer. *J App Physiol.* 2002, 92(6): 2513-20.
136. Clifford PS, Hellsten Y. Vasodilatory mechanisms in contracting skeletal muscle. *J App Physiol.* 2004, 97(1): 393-403.

137. Bloor CM. Angiogenesis during exercise and training. *Angiogenesis* 2005, 8(3): 263-71.
138. Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell* 2011, 146(6): 873-7.
139. Krogh A. The number and distribution of capillaries in muscles with calculations of the oxygen pressure head necessary for supplying the tissue. *J Physiol.* 1919, 52(6):409-15.
140. Shin KO, Bae JY, Woo J, Jang KS, Kim KS, Park JS, Kim IK, Kang S. The effect of exercise on expression of myokine and angiogenesis mRNA in skeletal muscle of high fat diet induced obese rat. *J Exerc Nutr Biochem* 2015, 19(2), 91-8.
141. Kwak SE, Lee JH, Zhang D, Song W. Angiogenesis: Focusing on the effects of exercise in aging and cancer. *J Exerc Nutr Biochem* 2018, 22(3): 21-6.
142. Das A, Huang GX, Bonkowski MS, Longchamp A, Li C, Schultz MB, Kim LJ, Osborne B, Joshi S, Lu Y, Treviño-Villarreal JH, Kang MJ, Hung TT, Lee B, Williams EO, Igarashi M, Mitchell JR, Wu LE, Turner N, Arany Z, Guarente L, Sinclair DA. Impairment of an endothelial NAD⁺-H₂S signaling network is a reversible cause of vascular aging. *Cell* 2018, 173(1): 74-89.
143. Gorski T, De Bock K. Metabolic regulation of exercise-induced angiogenesis. *Vascular Biology* 2019, 1(1): H1-8.
144. Chen L, Bai J, Li Y. miR-29 mediates exercise-induced skeletal muscle angiogenesis by targeting VEGFA, COL4A1 and COL4A2 via the PI3K/Akt signaling pathway. *Mole Med Rep.* 2020, 22(2), 661-70.
145. Li J, Li Y, Atakan MM, Kuang J, Hu Y, Bishop DJ, Yan X. The molecular adaptive responses of skeletal muscle to high-intensity exercise/training and hypoxia. *Antioxidants* 2020, 9(8): 656.
146. Cheng AJ, Jude B, Lanner JT. Intramuscular mechanisms of overtraining. *Redox Biology* 2020, 35: 101-480.
147. Porporato PE, Payen VL, De Saedeleer CJ, Pr at V, Thissen JP, Feron O, Sonveaux P. Lactate stimulates angiogenesis and accelerates the healing of superficial and ischemic wounds in mice. *Angiogenesis* 2012, 15(4): 581-92.
148. Philippou A, Tryfonos A, Theos A, Nezos A, Halapas A, Maridaki M, Koutsilieris M. Expression of tissue remodelling, inflammation and

- angiogenesis-related factors after eccentric exercise in humans. *Mol Biol Rep* 2021, 48(5): 4047-54.
149. Balberova OV, Bykov EV, Shnayder NA, Petrova MM, Gavrilyuk OA, Kaskaeva DS, Soloveva IA, Petrov KV, Mozheyko EY, Medvedev GV, Nasyrova RF. The “Angiogenic Switch” and Functional Resources in Cyclic Sports Athletes. *Int J Mol Sci*. 2021, 22(12): 64-96.
150. Nie Y, Sato Y, Garner RT, Kargl C, Wang C, Kuang S, Gilpin CJ, Gavin TP. Skeletal muscle- derived exosomes regulate endothelial cell functions via reactive oxygen species- activated nuclear factor- κ B signalling. *Exp Physiol* 2019, 104(8): 1262-73.
151. Robbins JL, Jones WS, Duscha BD, Allen JD, Kraus WE, Regensteiner JG, Hiatt WR, Annex BH. Relationship between leg muscle capillary density and peak hyperemic blood flow with endurance capacity in peripheral artery disease. *J Appl Physiol* 2011, 111(1): 81-6.
152. Baum O, Torchetti E, Malik C, Hoier B, Walker B, Walker PJ, Odriozola A, Graber F, Tschhanz SA, Bangsbo J, Hoppeler H, Askew CD, Hellsten Y. Capillary ultrastructure and mitochondrial volume density in skeletal muscle in relation to reduced exercise capacity of patients with intermittent claudication. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2016, 310(10): 943-51. 802-7.
153. Askew CD, Green S, Walker PJ, Kerr GK, Green AA, Williams AD, Febbraio MA. Skeletal muscle phenotype is associated with exercise tolerance in patients with peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 2005, 41(5): 802-07.
154. Duscha BD, Kraus WE, Jones WS, Robbins JL, Piner LW, Huffman KM, Allen JD, Annex BH. Skeletal muscle capillary density is related to anaerobic threshold and claudication in peripheral artery disease. *Vascular Medicine* 2020, 25(5): 411-8.