DÜZCE ÜNİVERSİTESİ | LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

APİLARNİL TAKVİYESİNİN AKUT EGZERSİZ YAPTIRILAN RATLARDA KAS HASARI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

CEMRE BAŞOL

DOKTORA TEZİ

DOĞAL BİTKİSEL VE KOZMETİK ÜRÜNLER ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. MERAL KEKEÇOĞLU

DÜZCE, 2024

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ | LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

APİLARNİL TAKVİYESİNİN AKUT EGZERSİZ YAPTIRILAN RATLARDA KAS HASARI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

CEMRE BAŞOL

DOKTORA TEZİ

DOĞAL BİTKİSEL VE KOZMETİK ÜRÜNLER ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. MERAL KEKEÇOĞLU

DÜZCE, 2024

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

APİLARNİL TAKVİYESİNİN AKUT EGZERSİZ YAPTIRILAN RATLARDA KAS HASARI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Cemre BAŞOL tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Doğal, Bitkisel ve Kozmetik Ürünler Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Meral KEKEÇOĞLU

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Meral KEKEÇOĞLU
Düzce Üniversitesi _____

Prof. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN
Düzce Üniversitesi _____

Prof. Dr. Hüseyin ŞAHİN
Giresun Üniversitesi _____

Prof. Dr. Haydar GÖKSU
Düzce Üniversitesi _____

Prof. Dr. Seyhan YURDUGÜL
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi _____

Tez Savunma Tarihi: 12/06/2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

12/06/2024

Cemre BAŞOL

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim ve bu tezin hazırlanması süresince gösterdiği sabır, rehberlik ve her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Doç. Dr. Meral KEKEÇOĞLU'na en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca değerli katkılarını esirgemeyen TUBİTAK 2244 proje yürütücüsü Prof. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN'a şükranlarımı sunarım.

Tez izleme komitemde yer alan, desteğini her daim hissettiğim Prof. Dr. Hüseyin ŞAHİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Histolojik incelemelerde değerli görüşlerini benimle paylaşan Doç. Dr. Sinem Kantarcıoğlu Coşkun'a çok teşekkür ederim.

Maddi ve manevi her türlü desteği veren, hayallerimi gerçekleştirirken bana güvenen, her ne olursa olsun hep yanımda olan, sevgisini ve desteğini hissettiğim sevgili eşim Emre BAŞOL, annem Nadide HÜNDÜR ve kardeşim Ege TOSUN'a sonsuz teşekkür ederim.

En zor zamanlarda yanımda olan ve yardımlarını hep hissettiğim Fatmanur BOSTAN ve Sümeyye ZARF TOKAN'a çok teşekkür ederim.

Son olarak, doktora eğitimim süresince TUBİTAK BİDEB 2244 Sanayi Doktorası Projesi kapsamında burs aldığım TUBİTAK'a teşekkür ederim. Bu tez çalışması, Düzce Üniversitesi 2023.05.01.1396 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir.

Haziran, 2024 **Cemre BAŞOL**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ.....İX
ÇİZELGE LİSTESİ.....Xİ
KISALTMALAR.....Xİİ
SİMGELER.....Xİİİ
ÖZET.....XİV
ABSTRACT.....XV
EXTENDED ABSTRACT.....XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER..... 4
2.1. EGZERSİZ..... 4
2.1.1. Akut Egzersiz..... 5
2.1.2. Egzersizde Kullanılan Enerji Sistemleri 5
2.1.2.1. Aerobik Glikoliz Sistemi 5
2.1.2.2. ATP-Fosfokreatin Sistemi..... 6
2.1.2.3. Glikojen-Laktik Asit Sistemi 7
2.2. İSKELET KASI..... 8
2.2.1. İskelet Kası Morfolojisi..... 9
2.2.2. İskelet Kası Kasılma Mekanizması..... 10
2.2.3. İskelet Kası Hasarı Onarım Mekanizması..... 11
2.2.4. İskelet Kası Hasarı ve Egzersiz..... 13
2.2.5. Egzersizde İskelet Kası Hasarına Karşı Protein Takviyesi..... 16
2.2.5.1. Whey Proteini 16
2.3. SERBEST RADİKALLER 17
2.3.1. Serbest Radikallerin Oluşumu..... 17
2.3.2. Serbest Oksijen Radikalleri 18
2.3.2.1. Süperoksit Anyon Radikali 19
2.3.2.2. Hidrojen Peroksit 19
2.3.2.3. Hidroksil Radikali 19
2.4. ANTİOKSİDANLAR 20
2.4.1. Eksojen Antioksidanlar 20
2.4.2. Endojen Antioksidanlar..... 21

2.4.2.1. Enzimatik Antioksidanlar 22
2.4.2.1.1. Süperoksit Dismutaz 22
2.4.2.1.2. Katalaz 22
2.4.2.1.3. Glutatyon Peroksidaz ve Glutatyon Redüktaz 22
2.4.2.1.4. Glutatyon S-transferaz 23
2.4.2.2. Nonenzimatik Antioksidanlar 23
2.4.2.2.1. Redükte Glutatyon 24
2.4.3. Egzersizde Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi 24
2.5. ARI ÜRÜNLERİ 25
2.5.1. Arı Ürünlerinin İskelet Kas Sistemi Üzerindeki Etkileri 26
2.5.2. Apilarnil 29
2.5.3. Apilarnilin İskelet Kas Sistemi Üzerindeki Etkileri 31
3. MATERYAL VE YÖNTEM 33
3.1. MATERYAL 33
3.1.1. Cihazlar 33
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar 33
3.1.3. Deney Hayvanları 34
3.2. YÖNTEM 35
3.2.1. Araştırmanın Tipi 35
3.2.2. Apilarnil Üretimi 35
3.2.3. Apilarnilin Besin İçeriği Analizi 35
3.2.4. Deney Hayvanlarının Bakım Koşulları 36
3.2.5. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması 36
3.2.6. Deney Hayvanlarının Egzersiz Protokolü 37
3.2.7. Apilarnil ile Whey Proteini Çözeltisinin Hazırlanması ve Uygulanması 38
3.2.8. Ötenazi ve Dokuların Alınması 40
3.2.9. Biyokimyasal Analizler 42
3.2.9.1. Malondialdehit Aktivite Tayini 43
3.2.9.2. Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutatyon Aktivite Tayini 44
3.2.9.3. Kreatin Kinaz ve Laktat Dehidrojenaz Aktivite Tayini 45
3.2.9.4. Sirtuin1 Aktivite Tayini 46
3.2.9.5. İnterlökin-6 ve İnterlökin-10 Aktivite Tayini 47
3.2.10. Histolojik Analizler 47
3.2.11. İstatistiksel Analiz 48

4. BULGULAR 50
4.1. APİLARNİL İLE WHEY PROTEİNİ BESİN İÇERİKLERİ 50
4.2. SIÇANLARIN VÜCUT AĞIRLIĞI 51
4.3. SIÇANLARIN GASTROKNEMİUS VE BİSEPS KAS DOKUSU AĞIRLIKLARI 51
4.4. BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI 53
4.4.1. Grupların Serum MDA Aktivitesi Sonuçları 53
4.4.2. Grupların Serum SOD, CAT ve GSH Aktivitesi Sonuçları 55
4.4.3. Grupların Serum CK ve LDH Aktivitesi Sonuçları 61
4.4.4. Grupların Serum SIRT1 Aktivitesi Sonuçları 65
4.4.5. Grupların Serum IL-6 ve IL-10 Aktivitesi Sonuçları 67
4.5. HİSTOLOJİK ANALİZ SONUÇLARI 71
4.5.1. Gastroknemius Kas Dokusu 71
4.5.2. Biseps Kas Dokusu 74
5. TARTIŞMA 77
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 88
7. KAYNAKLAR 89
8. EKLER 110
8.1. EK 1: ETİK KURUL BELGESİ 110
ÖZGEÇMİŞ

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2. 1. Egzersiz türleri. 4
Şekil 2. 2. Aerobik enerji sistemi. 6
Şekil 2. 3. Anaerobik enerji sistemi. 8
Şekil 2. 4. İskelet kası morfolojisi [43]. 10
Şekil 2. 5. Kas kasılma mekanizması. 11
Şekil 2. 6. İskelet kası hasarı ve onarım süreci. 12
Şekil 2. 7. Arı ürünleri. 26
Şekil 2. 8. Apilarnil. 30
Şekil 3. 1. Sıçanların gruplandırılması. 37
Şekil 3. 2. Koşu egzersizlerinde kullanılan sıçanlar için özel tasarlanmış eğimli koşu bandı. 38
Şekil 3. 3. Belirlenen dozda apilarnil ve whey proteini çözeltisini hazırlama işlemi. 38
Şekil 3. 4. Apilarnilin sıçanlara oraj gavaj yoluyla uygulanması. 39
Şekil 3. 5. Whey proteininin sıçanlara oraj gavaj yoluyla uygulanması. 39
Şekil 3. 6. Anestezi sonrası sıçanlardan intrakardiyak olarak kan alımı uygulaması. 40
Şekil 3. 7. Alınan kan örneklerinin santrifüj uygulaması ile plazma haline getirilmesi, a) santrifüj cihazı, b) santrifüj işlemi sonrası kan serum örnekleri. 41
Şekil 3. 8. Gastroknemius ve biseps kas dokularının formaldehit solüsyonuna alınması, a,1) Gastroknemius kas dokusu, a,2) Biseps kas dokusu, b) Formaldehit solüsyonu içinde sabitlenmiş kas dokuları. 41
Şekil 3. 9. ELISA kiti prosedürü ile hazırlanmış örneklerin mikroplate okuyucuda ölçümü 43
Şekil 3. 10. MDA için standart eğrisi ve denklemi. 44
Şekil 3. 11. SOD, CAT ve GSH için standart eğrisi ve denklemi. 44
Şekil 3. 11. (devamı) SOD, CAT ve GSH için standart eğrisi ve denklemi. 45
Şekil 3. 12. CK ve LDH için standart eğrisi ve denklemi. 46
Şekil 3. 13. SIRT1 için standart eğrisi ve denklemi. 46
Şekil 3. 14. IL-6 ve IL-10 için standart eğrisi ve denklemi. 47
Şekil 4. 1. Sıçanların deney sonundaki gastroknemius kas dokusu ağırlıkları. 52
Şekil 4. 2. Sıçanların deney sonundaki biseps kas dokusu ağırlıkları. 53
Şekil 4. 3. MDA aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri. 55
Şekil 4. 4. SOD aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri 57
Şekil 4. 5. CAT aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri. 59
Şekil 4. 6. GSH aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri. 61
Şekil 4. 7. CK aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri. 63

Şekil 4. 8. LDH aktivitesi ölçüm değerleri 65
Şekil 4. 9. SIRT1 aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri. 67
Şekil 4. 10. IL-6 aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri. 69
Şekil 4. 11. IL-10 aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri. 70
Şekil 4. 12. Tüm grupların gastroknemius kas dokusunda gözlenen histolojik değişimler. 73
Şekil 4. 12. (devamı) Tüm grupların gastroknemius kas dokusunda gözlenen histolojik değişimler..... 73
Şekil 4. 13. Tüm grupların biseps kas dokusunda gözlenen histolojik değişimler. 76
Şekil 4. 13. (devamı) Tüm grupların biseps kas dokusunda gözlenen histolojik değişimler. 76

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 2. 1. Eksojen antioksidanların sınıflandırılması. 20
Çizelge 2. 1. (devamı) Eksojen antioksidanların sınıflandırılması. 21
Çizelge 2. 2. Endojen antioksidanların sınıflandırılması. 21
Çizelge 3. 1. Standartların hazırlanması. 42
Çizelge 4. 1. Apilarnilin fizikokimyasal bileşenleri. 50
Çizelge 4. 2. Apilarnilin besin içerikleri. 50
Çizelge 4. 3. İzole whey proteininin besin içerikleri. 50
Çizelge 4. 4. Deney öncesi ve deney sonrası sıçanların ağırlıkları arasındaki farkın önem düzeyi. 51
Çizelge 4. 5. Grupların MDA aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri. 53
Çizelge 4. 6. MDA aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri. 54
Çizelge 4. 7. Grupların SOD aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri. 55
Çizelge 4. 8. SOD aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri. 56
Çizelge 4. 9. Grupların CAT aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri. 57
Çizelge 4. 10. CAT aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri. 58
Çizelge 4. 11. Grupların GSH aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri. 59
Çizelge 4. 12. GSH aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri. 60
Çizelge 4. 13. Grupların CK aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri. 61
Çizelge 4. 14. CK aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri. 62
Çizelge 4. 15. Grupların LDH aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri. 63
Çizelge 4. 16. LDH aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri. 64
Çizelge 4. 17. Grupların SIRT1 aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri. 65
Çizelge 4. 18. SIRT1 aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri. 66
Çizelge 4. 19. Grupların IL-6 aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri. 67
Çizelge 4. 20. IL-6 aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri. 68
Çizelge 4. 21. Grupların IL-10 aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri. 69
Çizelge 4. 22. IL-10 aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri. 70
Çizelge 4. 23. Grupların gastroknemius kaslarındaki H-skorlarının ortalama değerleri. 71
Çizelge 4. 24. Grupların biseps kaslarındaki H-skorlarının ortalama değerleri. 74
Çizelge 5. 1. Biyokimyasal parametrelerde gruplar arası farklılık. 84

KISALTMALAR

ADP	Adenozin difosfat
AMPK	AMP ile aktive olan protein kinaz
ANOVA	Analysis of Variance
ATP	Adenozin trifosfat
Asetil CoA	Asetil Koenzim A
BCAA	Dallı zincirli amino asit
CAT	Katalaz
CK	Kreatin kinaz
CP	Kreatin fosfat
DÜDAM	Düzce üniversitesi deney hayvanları uygulama ve araştırma merkezi
ELISA	Enzim bağlantılı immünosorbent testi
ETS	Elektron taşıma sistemi
GLUT4	Glukoz taşıyıcı tip 4
GPx	Glutatyon peroksidaz
GR	Glutatyon redüktaz
GSH	Redükte glutatyon
GSSG	Okside glutatyon
GST	Glutatyon S-transferaz
H_2O_2	Hidrojen peroksit
H&E	Hematoksilen-eozin
H-skoru	Histolojik hasar skorlaması
IL-6	İnterlökin-6
IL-10	İnterlökin-10
LDH	Laktat dehidrojenaz
MDA	Malondialdehit
NAD^+	Nikotinamid adenin dinükleotid
Nf-Kß	Nükleer faktör kappa beta
NO	Nitrik oksit
$O_2^- \cdot$	Süperoksit anyon radikali
OH•	Hidroksil radikali
$ONOO^-$	Peroksinitrit
PGC-1α	Peroksizom proliferatör-aktive reseptör γ-koaktivatör 1α
ROS	Reaktif oksijen türleri
SIRT1	Sirtuin-1
SIRT3	Sirtuin-3
SOD	Süperoksit dismutaz
TNF-α	Tümör nekrozis faktör-α
VO_{2max}	Maksimum oksijen kapasitesi

SİMGELER

^{o}C	Santigrad derece
CO_2	Karbondioksit
dk	Dakika
e^-	Elektron
g	Gram
H^+	Hidrojen
kg	Kilogram
l	Litre
m	Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mmol	Milimol
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
ng	Nanogram
nmol	Nanomol
H_2O	Su
pg	Pikogram
P_i	İnorganik fosfor
u	Ünite

ÖZET

APİLARNİL TAKVİYESİNİN AKUT EGZERSİZ YAPTIRILAN RATLARDA KAS HASARI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Cemre BAŞOL

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Doğal, Bitkisel ve Kozmetik Ürünler Anabilim Dalı
Doktora Tezi
Tez danışmanı: Doç. Dr. Meral KEKEÇOĞLU

Haziran 2024, 110 sayfa

Erkek arı larvası (Apilarnil) sağlık, gıda, kozmetik alanlarında kullanılan, sahip olduğu yüksek besin değeri ile gıda takviyesi ve ilaç olarak tasarlanabilme potansiyeli bulunan geleneksel ve tamamlayıcı tıpta yer edinmiş bir doğal üründür. Erkek arıların 3-7 günlük larva hali olan apilarnilin immün sistemi koruyucu ve antioksidatif kapasiteyi artırıcı etkisiyle terapötik bir ajan olabileceği bilinmektedir. Ayrıca zengin protein ve amino asit içeriği sayesinde, akut egzersizde oluşan kas hasarını ve oksidatif stresi azaltmasıyla sporculara özel besin takviyesi için güçlü bir adaydır. Tezin amacı, akut egzersizle tetiklenen kas dokusundaki hasarın ve bu hasara apilarnilin etkisinin biyokimyasal ve histolojik analizler ile değerlendirilmesi, inflamasyon ve oksidatif stres ile ilişkisinin araştırılmasıdır. Çalışmada erkek Sprague Dawley sıçanlar; kontrol (K), apilarnil (A), whey (W), egzersiz (E), egzersiz+whey (EW) ve egzersiz+apilarnil (EA) gruplarına (n=6/grup) ayrılmıştır. Egzersiz gruplarına 2 hafta alıştırma sonrası akut koşu egzersizi yaptırılıp, egzersizden yarım saat sonra apilarnil (0.8 g/kg) ve whey proteini (2 g/kg) uygulanmıştır. Kan serumlarından yapılan biyokimyasal analizlerde A ve W grupları, kontrole göre katalaz (CAT) ve glutatyon (GSH) aktiviteleri üzerinden artış göstermiştir. Bunun yanı sıra akut egzersiz uygulanan gruba göre EA grubu CAT ve GSH aktivitesi bakımından, EW grubu ise CAT aktivitesi bakımından antioksidan kapasiteyi artırmıştır. Süperoksit dismutaz (SOD) ve sirtuin 1 (SIRT1) aktiviteleri için anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). E grubunda kontrole göre kreatin kinaz (CK) ve laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesi artmıştır. EW ve EA gruplarında ise bu parametrelerde azalma gözlenmiştir. Bu veriler, kas hasarı oluşum ve onarım mekanizmasının SIRT1 proteinlerinin aktivasyonuyla ilişkili olmadığını düşündürmektedir. İnterlökin-6 (IL-6) ve interlökin-10 (IL-10) parametreleri açısından E grubunda kontrole kıyasla fark belirlenmemiş, akut egzersiz inflamasyona anlamlı düzeyde sebep olmamıştır. Histolojik incelemelerde miyonekroz, ödem ve immatür kas lifi oluşumu açısından gruplar arası fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Kas kuvveti ve performansı üzerine apilarnil ile ilgili sinyal yolakları ve etki mekanizmalarının aydınlatılması için daha ayrıntılı ve daha uzun süreli bir çalışma planı tasarlanması gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: Apilarnil, Egzersiz, Gıda takviyesi, Kas hasarı, Oksidatif stres

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF APILARNIL SUPPLEMENT ON MUSCLE DAMAGE IN RATS EXPOSED TO ACUTE EXERCISE

Cemre BAŞOL
Graduate school, Department of Natural, Herbal and Cosmetic Products
Ph.D. Thesis
Supervisor: Assoc. Prof. Meral KEKEÇOĞLU

June 2024, 110 pages

Drone brood larva (Apilarnil) is a natural product used in the fields of health, food and cosmetics, and has a place in traditional and complementary medicine, with its high nutritional value and the potential to be designed as a food supplement and medicine. It is known that apilarnil, which is the 3-7 day old larval state of male bees, can be a therapeutic agent with its immune protective and antioxidative capacity increasing effect. In addition, thanks to its rich protein and amino acid content, it is a strong candidate for a special nutritional supplement for athletes, as it reduces muscle damage and oxidative stress that occurs during acute exercise. The aim of the thesis is to evaluate the damage to muscle tissue triggered by acute exercise and the effect of apilarnil on this damage with biochemical and histological analyzes and to investigate its relationship with inflammation and oxidative stress. In the study, male Sprague Dawley rats; they were divided into control (C), apilarnil (A), whey (W), exercise (E), exercise+whey (EW) and exercise+apilarnil (EA) groups (n=6/group). The exercise groups were given acclimation for 2 weeks and then acute running exercise, apilarnil (0.8 g/kg) and whey protein (2 g/kg) were administered half an hour after the exercise. In biochemical analysis of blood serum, groups A and W showed an increase in catalase (CAT) and glutathione (GSH) activities compared to the control. In addition, compared to the acute exercise group, the EA group increased antioxidant capacity in terms of CAT and GSH activity, and the EW group increased antioxidant capacity in terms of CAT activity. No significant difference was found for superoxide dismutase (SOD) and sirtuin 1 (SIRT1) activities. Kreatin kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) activity increased in group E compared to the control. A decrease in these parameters was observed in the EW and EA groups. These data suggest that the mechanism of muscle damage formation and repair is not related to the activation of SIRT1 proteins. There was no difference in interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) parameters in group E compared to the control, and acute exercise did not cause inflammation at a significant level. In histological examinations, no difference was detected between the groups in terms of myonecrosis, edema and immature muscle fiber formation. A more detailed and longer-term study plan needs to be designed to elucidate the signaling pathways and effect mechanisms of apilarnil on muscle strength and performance.

Key words: Apilarnil, Exercise, Food supplement, Muscle damage, Oxidative stress

EXTENDED ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF APILARNIL SUPPLEMENT ON MUSCLE DAMAGE IN RATS EXPOSED TO ACUTE EXERCISE

Cemre BAŞOL
Graduate school, Natural, Herbal and Cosmetic Products Department
Ph.D. Thesis
Supervisor: Assoc. Prof. Meral KEKEÇOĞLU

June 2024, 110 pages

1. INTRODUCTION

Drone larvae (Apilarnil) is a potential bee product whose importance has increased in recent years, that is used in the field of health as medicine, cosmetics, food supplement and has gained importance especially in traditional and complementary medicine. Apilarnil is the 3-7 days old larval state of male bees, which has a viscous structure, before moving on to the pupa period. Apilarnil is obtained by lyophilization after collecting male bee larvae. While lyophilized drone larvae is in the form of a cream-colored powder, raw or homogenized drone larvae have a creamy consistency and a sticky structure. The content of apilarnil is water (65-75%), ash (1-2%), protein (7.23-15.4%), carbohydrates (6.92-12.2%), fatty acids and lipids (3.5-8.38%), minerals (0.5-1.8%). It also contains testosterone, progesterone, estradiol and prolactin hormones and their amounts are found to be 14.80 ng/g, 14.40 ng/g, 4.12 ng/g, 1.2 ng/g, respectively. Apilarnil is a natural product that stands out among bee products with its high hormone content, can be used in male reproductive diseases and increases testosterone levels. Studies are proven that drone larvae have a protective effect on the immune system and can be a therapeutic agent against many diseases. In addition, it reduces cholesterol levels, stimulates the immune system, increases antioxidant activity and improves cognitive functions.

Androgens and the hormone testosterone have an anabolic effect on skeletal muscle and bone. It increases calcium binding to bones, accelerates protein anabolism and contributes to muscle and skeletal growth. Known to be a good source of amino acids and to have high androgenic activity, apilarnil is a strong candidate for a special nutritional supplement for athletes, as it reduces skeletal muscle damage and oxidative stress that may occur during intense exercise. In limited studies, it has been stated that apilarnil causes an increase in muscle mass and prevents muscle breakdown induced by intense exercise. This effect is related to the fact that it contains almost all amino acids and its

high protein content. Apilarnil provides the desired performance by eliminating amino acid deficiency. In addition, because of having rich antioxidant content, it is possible for it to stimulate oxidative processes with an effect that enhances exercise performance and regulate the oxidative stress balance that is disrupted during exercise. In this way, it increases muscle glycogen consumption and exhibits energizing properties.

However, although research on the composition of apilarnil is progressing, there is a lack of evidence on their effects *in vivo*. Therefore, the aim of this study was to clarify the effects of apilarnil as an alternative protein source on exercise-induced muscle tissue damage and to understand its *in vivo* activity through histological analysis, as well as to determine its effects on oxidant/antioxidant balance.

2. MATERIAL AND METHODS

A total of thirty-six male Sprague-Dawley type rats (8-10 weeks old, weight between 250-400 g) were used in all experiments. During the experiment, the rats in a laboratory environment with a 12/12 hour light/dark cycle, temperature of 23°C and humidity of 60±5%, and were fed with standard pellet feed and tap water ad libitum. Male rats which were divided into six groups in equal numbers: (1) control group (C, n=6), (2) apilarnil group (A, n=6) fed on apilarnil, (3) whey group (W, n=6) fed on whey protein, (4) exercise group applied acute exercise, (5) exercise+whey group (EW, n=6) applied acute exercise and fed on whey protein, (6) exercise+apilarnil group (EA, n=6) applied acute exercise and fed on apilarnil. The rats were accustomed to treadmill exercise for 2 weeks before the acute exercise protocol. In the first week, exercise groups were given practice runs 3 days/week, 10 min/day, 15 m/min and 0% slope. In the second week, the exercise groups had training runs 3 days/week, 15 min/day, 20 m/min and 0% slope. 48 hours after the exercise protocol, acute exercise was applied to the rats in 3 phases. In the first phase, the rats were run for 5 minutes at a speed of 15 m/min with a 0% slope. In the second phase, the rats were forced to run for 10 minutes at a speed of 20 m/min with a 0% slope. In the last phase, the acute exercise protocol was completed by running for 60 minutes at 25 m/min with a 5% slope.

Powder apilarnil (0.8 g/kg b.w.) and isolated whey protein (2 g/kg b.w.) were prepared by dissolving it in distilled water. Freshly prepared apilarnil and whey protein were administered to groups A and EA by oral gastric gavage during the exercise program, half an hour after each exercise training. Following acute exercise, oral gavages, and weight

measurements, all rats were anesthetized with a combination of ketamine (90 mg/kg b.w.) and xylazine (10 mg/kg b.w.). Blood samples from the heart and gastrocnemius and biceps muscle tissues of rats were taken. Blood samples were centrifuged at 4000 rpm for 15 minutes and then serum was separated. Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), sirtuin-1 (SIRT1), interleukin-6 (IL-6), and interleukin- 10 (IL-10) activities were determined by spectrophotometric colorimetric method using a commercial kit.

For the histological analysis, gastrocnemius and biceps muscle tissue samples taken after the rats were euthanized were cleaned of connective tissues and weighed. It was then fixed in 10% formaldehyde solution for one day. Transverse and longitudinal 4μm sections were taken from the tissues, and tissue tracking, blocking, and staining procedures were applied. The tissues were embedded in paraffin and the preparations were stained with Hematoxylin-eosin (HE). After the staining process, the preparations were examined with a light microscope (Olympus BX53) and scored using the semiquantitative method. Histological damage scoring (H-score); was applied as 0=normal, 1=mild, 2=moderate, 3=severe.

Graphs were drawn in GraphPad Prism program. SPSS 27.0 was used for statistical calculations. Results were expressed as means ± SD. One-way ANOVA test was used to compare multiple groups. Distinctions were considered significant when $P<0,05$.

3. RESULTS AND DISCUSSION

In the current study, the increase in MDA activity in the E group compared to the control showed that the applied acute exercise model caused oxidative stress. although the acute exercise model increased oxidative stress, it did not alter the activities of SOD, CAT and GSH, which are important enzymes in the antioxidant defense mechanism. In addition, although there was a slight increase in IL-6 and IL-10 between the groups in acute exercise and to the control, no significant difference was detected ($p>0.05$). Taken together the findings to date, it is clear that antioxidant activity is inversely proportional to exercise intensity. It can be thought that our exercise model is not at an intensity or duration that will trigger inflammation and reduce antioxidant capacity. Despite there was a decrease in MDA concentrations in the EA group against the increase in MDA with acute exercise, this decrease was not found to be significant ($p>0.05$). In addition, the fact

that W and EW groups have the highest MDA concentration shows that whey protein has a higher tendency to increase lipid peroxidation through free radicals than apilarnil. The findings of this study, CAT and GSH activities were found to be significantly higher in the EA group, and only CAT activity was found to be significantly higher in the EW group versus the E group ($p<0.05$). CAT and GSH activate in cases where SOD is insufficient and hydrogen peroxide increases, creating an enzymatic antioxidant defense system and trying to maintain cellular balance to suppress MDA, which increases in acute exercise. Also, exercise-independent groups A and W had significantly higher CAT and GSH activities than the control. Supporting this result, previous studies have proven that apilarnil and whey protein exhibit antioxidant properties through GSH and CAT. In our findings confirmed that apilarnil is a product that can be used as a natural antioxidant supplement, and that it has an antioxidative role that mediates the scavenging of hydrogen peroxide.

In the current study, serum CK ($p<0.01$) and LDH ($p<0.05$) activities were found to be significantly higher in group E compared to the control. This finding shows that the acute exercise protocol applied causes muscle damage in rats. These observations were supportive to previous studies utilizing similar protocols to induce muscle damage. A significant decrease in CK and LDH activities was detected in the EA ($p<0.01$ for CK; $p<0.05$ for GSH) and EW ($p<0.001$ for CK; $p<0.01$ for GSH) groups compared to the E group. In addition, as a result of muscle tissue weight measurement, it was determined that the gastrocnemius muscle tissue weights of group A were significantly different compared to the control ($p<0.05$). There was not found statistical difference between SIRT1 protein activities between groups ($p>0.05$). The reason for this result, which is contradictory to the literature, may be related to the difference in dosage and feeding time. Muscle damage repair was not determined to have an effect on the SIRT1 signaling pathway during this time. Additionally, in spite of there was a mild increase in activities of IL-6 and IL-10 in E group compared to the control, no significant difference was detected ($p>0.05$).

In the semiquantitative analysis performed in the current study, no inflammation was detected in either muscle group. Based on this finding, which is compatible with biochemical results, it is thought that the intensity and duration of acute exercise applied are insufficient for the formation of inflammation in muscle tissues. On the other hand, myonecrosis, edema and perifascicular fat accumulation were observed in both muscle

groups of all groups. But there is no difference between groups significantly. When the damage status in skeletal muscles is examined, it has been determined that the gastrocnemius muscle has a more degenerative appearance than the biceps muscle. Contrary to the statistically significant results obtained regarding muscle damage and repair in biochemical analyses, the lack of difference between groups in histological analyzes may be associated with the exercise model applied in the study, feeding time and doses of protein supplements, and the fact that the rat species are more durable than humans. The acute exercise procedure and two-week period applied in this study showed a cellular effect in rats, but did not show the same effect on a tissue basis.

4. CONCLUSION AND OUTLOOK

In conclusion; our study demonstrated that apilarnil contributes positively to the level of antioxidants produced by the body and helps suppress the ROS. It determined that muscle damage resulting from intense acute exercise is reduced by apilarnil. The preventive effect of apilarnil against muscle damage caused by exercise occurs through antioxidative systems. Our findings support the idea that apilarnil is beneficial for skeletal muscle repair and body composition in acute exercise and the hypothesis of this study.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda düzenli egzersizin sağlığa olan yararlarının yanı sıra, alışılmadık ve şiddetli egzersiz türlerinde kas hasarı, inflamasyon veya birtakım oksidan etkiler gözlendiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Yorucu egzersiz ve tekrarlayan kas kasılmaları, reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikmesine neden olur [1]. Uyarılan aşırı ROS üretimi, antioksidan savunma sisteminin bozulmasına, oksidatif strese ve ilgili doku hasarına yol açabilir. Ayrıca bu durum kas kuvvetini, enerji üretimini ve kas liflerinin kasılması ile uyarılan adaptif tepkileri etkiler [2].

İskelet kası, toplam vücut kütlesinin yaklaşık %40'ını oluşturur. İskelet kası, kuvvet ve hareket üretme işlevinin yanı sıra sitokinleri ve transkripsiyon faktörlerini kan dolaşımına salgılar. Böylece diğer organların işlevini düzenleyen bir endokrin sistemi elemanı olarak rol alır. Ayrıca iskelet kasının, organizmanın metabolik homeostazının korunmasında önemli bir işlevi vardır. Lipid katabolizmasının ana enerji tüketicisi olmasının yanı sıra, insülinle uyarılan glukoz alım mekanizması ile ilişkilidir [3]. Egzersizin yarattığı yoğun kontraktil aktivite, kas liflerindeki fizyolojik ortamı değiştirerek daha yüksek ROS üretimine yatkın hale getirir. Kas liflerinde artan oksijen tüketimi, egzersiz sırasında hücre içi oksijen gerilimini düşürür ve artan ROS daha da tetiklenir [4].

Peynir altı suyu proteini (whey proteini), sütte bulunan 2 temel protein tipinden biridir. Geçmiş zamanlarda whey proteini peynir yapım işleminin yararsız bir yan ürünü olarak bilinmesine rağmen, daha sonra yapılan çalışmalar ile whey proteinin yüksek kalitede protein içeren değerli bir ürün olduğu saptanmıştır. Günümüzde whey proteini, egzersiz yapan sporcularda protein takviyeleri arasında kullanılan en yaygın ürün olarak yerini almıştır. Whey proteini, egzersiz sonrası kullanımda amino asit stoklarını güçlendirerek kas onarımını hızlandırır ve glutatyonu artırarak bağışıklığı kuvvetlendirir [5].

Erkek arı larvası (Apilarnil), erkek arıların pupa dönemine geçmeden önceki, viskoz yapıda olan 3-7 günlük larva halidir [6]. Apilarnil, arı ürünleri arasında yüksek hormon içeriği ile öne çıkan, erkek üreme hastalıklarında kullanılabilen, testosteron seviyesini artıran doğal bir üründür. Yapılan çalışmalarda apilarnilin immün sistemi koruyucu etkisinin olduğu ve birçok hastalığa karşı terapötik bir ajan olabileceği kanıtlanmıştır. Ayrıca çok sayıda amino asit içeren yapısından ve zengin besin içeriğinden dolayı,

yüksek biyolojik aktivite sergilemektedir. Apilarnilin yüksek protein içeriği ile akut egzersizde performansı ve enerjiyi artırdığı bilinmektedir [7]. Yapılan çalışmalarda arı larvalarının Sirtuin 1 (SIRT1) proteinlerinin ekspresyonunu hızlandırdığı ve peroksizom proliferatör-aktive reseptör γ-koaktivatör 1α (PGC-1α) sinyal yolağını up-regüle ederek iskelet kasında egzersizle uyarılan mitokondriyal biyogenezi düzenlediği kanıtlanmıştır [8]. Fiziksel egzersizden sonra aktive olan SIRT1 proteinleri, PGC-1α'yı deasetile eder [9]. Bunun yanı sıra SIRT1 proteinleri, AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK)'ı aktive eder ve bu AMPK aktivasyonu üzerinden egzersize bağlı adaptif yanıtta rol oynayarak oksidatif stresi ve inflamasyonu engeller [10].

Yapılan sınırlı çalışmalardan yola çıkılarak, apilarnilin hem yüksek protein içeriği hem de zengin antioksidan içeriğine sahip doğal bir ürün olması sebebiyle egzersiz performansını artırıcı bir etki ile oksidatif süreçleri uyarması, böylece egzersiz sırasında bozulan oksidatif stres dengesini düzenlemesi mümkündür [7], [11]. Apilarnil hem oksidatif stresi engelleyerek hem de antioksidanları artırarak güçlü bir bağışıklık yanıt sağlar. Ayrıca yüksek protein ve amino asit içeriği sayesinde egzersizden sonra alımı ile kas kütlesinin artması ve iskelet kası hasarı onarımının gerçekleşmesi beklenmektedir. Literatür göz önüne alındığında, apilarnilin whey proteini ile benzer aminoasit profiline sahip olduğu bilinmektedir. Whey proteininde ve apilarnilde sistein aminoasidi benzer oranlarda mevcut olup, whey proteininin antioksidatif mekanizma üzerindeki etkileri sistein aminoasidi üzerinden oluşmaktadır [12]. Bunun yanı sıra whey proteini, yağsız kas kütlesini ve sporda performansı artırmada etkili bir içerik olan dallı zincirli amino asit (BCAA; lösin, izolösin ve valin) açısından zengindir. Apilarnilin de bu aminoasitler açısından zengin olduğu kanıtlanmıştır [13]. Bu bağlamda mevcut çalışmada, apilarnil ve whey proteininin besin içeriklerinin yakın olması dolayısıyla, akut egzersizin yol açtığı kas hasarına ve oksidatif strese karşı etkilerinin benzer olması beklenmektedir.

Bu tez kapsamında apilarnilin iskelet kası üzerindeki etkilerinin, yorucu ve akut egzersiz sonucu ortaya çıkabilecek kas hasarı ve oksidatif stresi azaltabileceği, antioksidan aktiviteyi ve bağışıklığı artırabileceği öngörülmektedir. Bu sebeple bu çalışmada erkek sıçanlarda oluşturduğumuz akut egzersiz modelinde, biseps ve gastroknemius kas dokularında oluşabilecek hasarın ve bu hasara karşı whey proteini ile apilarnilin etkilerinin histolojik analizler ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bunun yanı sıra oluşan kas dokularındaki hasarın, besin içerikleri de göz önüne alınarak SIRT1 proteini ve AMPK-SIRT1-PGC-1α sinyal yolağı ile ilişkisinin araştırılması, oksidatif stres

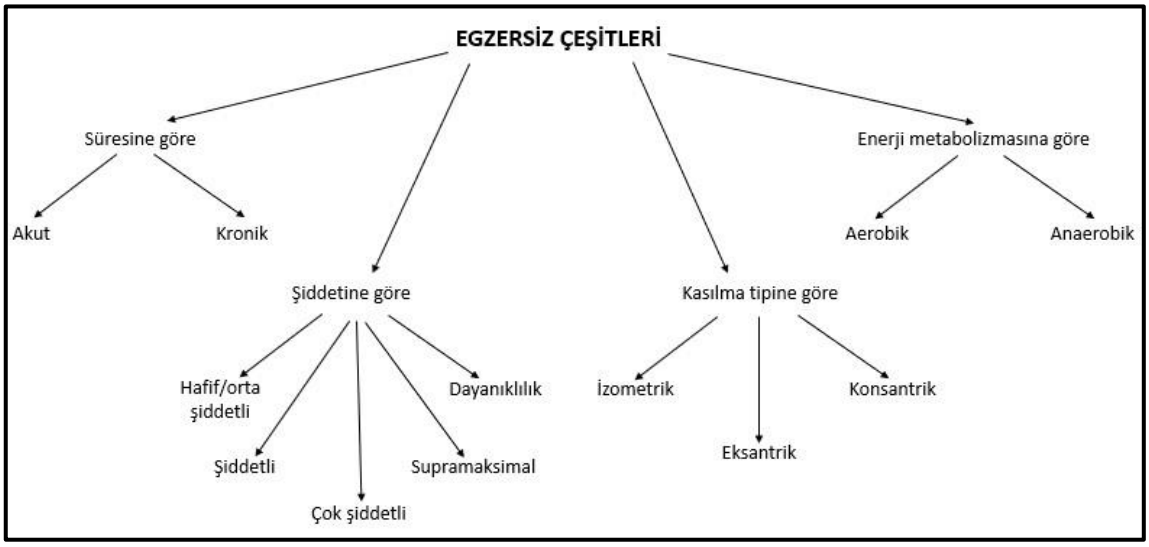
(malondialdehitin (MDA)) ve antioksidan aktivitenin (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon (GSH)) incelenmesi, kas hasarı parametrelerinin (laktat dehidrojenaz (LDH), kreatin-kinaz (CK)) belirlenmesi, inflamatuar sitokinlerin (interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-10 (IL-10)) ölçülmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. EGZERSİZ

Fiziksel aktivite, iskelet kasları tarafından meydana getirilen ve enerji tüketimi ile sonuçlanan hem sağlık hem de fiziksel ve psikolojik durum için faydalı olan bedensel bir harekettir. Egzersiz, fiziksel aktivitenin daha planlı ve programlı olarak gerçekleştirildiği, fiziksel durum bileşenlerinin değiştirilmesini veya iyi halin korunmasını kapsayan tekrarlayıcı vücut hareketleridir [14]. Egzersiz sağlığı geliştirme, esneklik, kas kuvveti, vücut kompozisyonunu iyileştirme, ruh halini koruma, kilo verme ve boyun, bel, omuz ağrısı gibi kas ve iskelet sistemi rahatsızlıklarını azaltma gibi hedeflerinin yanı sıra kardiyovasküler sistem hastalıkları başta olmak üzere birçok hastalığa karşı koruma sağlar [15], [16]. Düzenli fiziksel aktivite; kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, kanser, hipertansiyon, obezite, depresyon, osteoporoz gibi bazı kronik hastalıkların önlenmesinde ve prematüre ölümlerin primer ve sekonder önlemlerinin alınmasında etkilidir [17].

Egzersizin esas belirleyicileri kullanılan enerji metabolizması, şiddeti ve süresidir. Bu değişkenlere göre egzersiz sırasında kullanılan enerji metabolizması ve harcanan enerji miktarı, vücut sistemini farklı şekilde etkiler [18]. Egzersiz kullanılan enerji metabolizmasına göre aerobik ve anaerobik, süresine göre akut ve kronik, şiddetine göre dayanıklılık, hafif/orta şiddetli, şiddetli, çok şiddetli ve supramaksimal, kasılma tipine göre ise izometrik, eksantrik ve konsantrik olarak sınıflandırılır (Şekil 2.1).



Şekil 2. 1. Egzersiz türleri.

2.1.1. Akut Egzersiz

Akut egzersiz, kısa sürede tek bir fiziksel aktivite seansı olarak tanımlanan egzersiz türüdür. Süresi ve şiddeti farklılık gösterebilen bir egzersiz çeşididir [19]. Düşük, orta ve yüksek yoğunluklu aerobik egzersize ilişkin genel bir kriterin olmaması nedeniyle, birçok hayvan deneyi çalışmalarında ve klinik çalışmalarda bir dizi akut egzersiz protokolleri uygulanmıştır. Akut egzersiz yüksek şiddette yapıldığı takdirde kas dokusunda ve membranlarda, lipit peroksidasyonu ile serbest radikal oluşumuna yol açar [20], [21]. Şiddetli ve akut bir egzersizin uzun sürmesi halinde protein karbohidrat ve yağ dengesi bozulur. Karaciğer glikojenleri ve kas proteinleri yıkılır, kastan yağ mobilizasyonu artar. Akut egzersizin şiddeti ve süresi arttıkça dokulardaki oksijen dağılımı bozulur. Oksijen dengesizliği ile metabolik yakıt depolarının azalması sonucu kas doku hasarı meydana gelir [22]. Kas kasılmasının uyarılması kasın besin ve oksijen ihtiyacını, dolayısıyla oksijen tüketimini artırarak kan akışında bir yükselme sağlar. Aynı zamanda kalp hızı ve kalp debisinde doğrusal bir artış sağlar. Egzersiz esnasında kardiyak debideki artış, kas kasılmasının damarlar üzerindeki sıkıştırıcı etkisinin bir sonucudur [23].

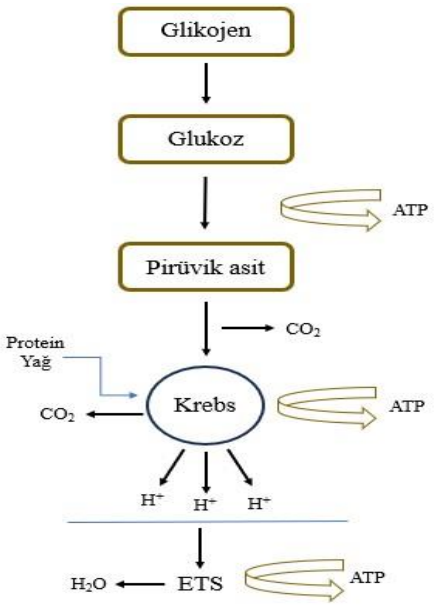
2.1.2. Egzersizde Kullanılan Enerji Sistemleri

Temelde oksijeni akciğerlerden hücrelere taşımak ve karbondioksiti uzaklaştırmak kardiyovasküler sistemin birincil görevidir. Anaerobik ve aerobik metabolizmaların her ikisi de ATP (Adenozin trifosfat)'yi yeniden sentezlemeye hizmet etse de farklı enerji aktarım mekanizmalarını kullanır. Her biri ayrı hücresel bölmelerde ve genellikle farklı oranlarda yer alır [24]. Aerobik enerji sistemi dinlenme halinde kullanılan uzun süreli enerji sistemidir. Hazır enerji olarak kullanılan ATP-fosfokreatin sistemi ve kısa süreli enerji olarak nitelendirebileceğimiz glikojen-laktik asit sistemi, anaerobik enerji sisteminin farklı yolaklarla oluşmuş mekanizmalarıdır.

2.1.2.1. Aerobik Glikoliz Sistemi

Aerobik enerji metabolizması, oksijenli ortamda karbohidrat ve yağların karbondioksite kadar parçalanmasıyla organizma için gerekli olan enerjinin elde edilmesini sağlar. Dinlenme halinde ve egzersiz sırasında vücudun ihtiyacı olan enerji aerobik metabolizma ile sağlanır. Aerobik sistemde ilk reaksiyon, glikoliz adı verilen glukozun pirüvik aside çevrilmesidir. Pirüvik asit yeterli oksijen varlığında Asetil koenzim A (Asetil CoA)'ya dönüştürülür ve Krebs döngüsüne girerek nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) üretimi sağlanır. NADH, mitokondriyal ATP-sentaz tarafından büyük miktarda ATP

üretimi amacıyla iç mitokondriyal zar boyunca bir proton gradyanı oluşturmak için solunum zinciri kompleksleri tarafından kullanılır. Açığa çıkan protonlar son elektron taşıma sistemi (ETS) elemanı olan oksijene gelen elektronlarla (e^-) birleşir ve su oluşur. ETS'de oksidatif fosforilasyon ile ATP oluşumu sağlanır [25], [26] (Şekil 2.2). Aerobik glikolizde, başta karbohidrat ve yağ olmak üzere protein de kaynak olarak kullanılarak 1 mol glikojenden 39 mol ATP üretilir [27]. Oksijen ile enerji üretilen bu sistemde anaerobik metabolizmaya kıyasla ATP yavaş fakat daha çok miktarda üretilir.



Şekil 2. 2. Aerobik enerji sistemi.

Aerobik sistem dayanıklılık egzersizlerinde ve uzun süre devam eden egzersizlerde kullanılmaktadır. Aerobik egzersiz, enerjinin büyük çoğunluğunun aerobik enerji metabolizması yolu ile sağlandığı, vücuda daha fazla oksijen veren nispeten hafif/orta yoğunlukta ve uzun süreli egzersizlerdir. Bu yüzden aerobik egzersizlerin kalitesi ve düzeyi maksimum oksijen kapasitesi (VO_{2max}) ile yakından ilişkilidir [28]. VO_{2max}, vücudun maksimum enerjiyi üretebilme ve kullanabilme beceresidir. Egzersiz sırasında kas hücrelerinin oksijen ihtiyacı artar ve oksijen ile üretilen enerji kas hücrelerine aktarılır. Uzun süreli aerobik egzersizde kas hücrelerinin ihtiyacı olan yeterli oksijen sağlanır [25].

2.1.2.2. ATP-Fosfokreatin Sistemi

Tüm vücut hücrelerinde enerji oluşumu ATP molekülü aracılığıyla sağlanır. Kas hücrelerinde 3 mol ATP depolanabilir ve bu miktar 4-5 saniye egzersiz için üretilen

enerjiyi karşılamada yeterlidir. Antrenman esnasında ATP çok hızlı bir şekilde kullanılır ve çok hızlı şekilde üretilmesi gerekir. Egzersiz tipine, şiddetine ve süresine bağlı olarak enerji oluşumu için ek ATP sentezine ihtiyaç duyulur ve bu üretim devamlı olarak yenilenir [29].

$$\mathrm{ATP} \xrightarrow[\overrightarrow{H_2O}]{\text{miyozin ATP}_{az}} \mathrm{ADP} + P_i + \text{enerji} + \text{ısı} \quad (2.1)$$

$$\mathrm{ADP} + \mathrm{CP} \rightarrow \mathrm{ATP} + \mathrm{C} \quad (2.2)$$

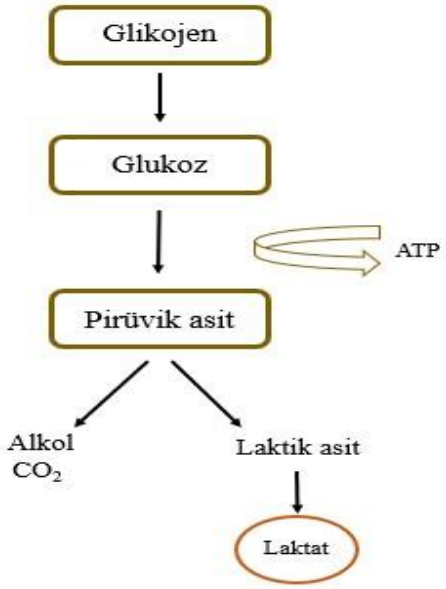
ATP-fosfokreatin sistemi, kısa süreli ve yoğun egzersizler sırasında hemen devreye giren enerji sistemidir. Magnezyum ve kalsiyum iyonlarının varlığında miyozin başı ATPaz özelliği göstererek ATP'nin adenozin difosfat (ADP)'a yıkılmasını sağlar [30]. 1 mol ATP'den yaklaşık 12 kcal enerji açığa çıkar. Bu enerji birbirlerine karşı duran aktin ve miyozin filamanları arasında bir bağlantı kurulmasını, birbiri üzerinde kaymasını ve kas kontraksiyonu oluşmasını sağlar. Kreatin fosfat (fosfokreatin; CP), ATP gibi kaslarda depo edilir ve parçalandığında büyük miktarda enerji çıkar. Ortaya çıkan bu enerji ADP molekülleri ile ATP oluşturmak üzere birleşir [31]. Antrenmanla beraber kasta kreatin fosfat depoları ve kasılmada gerekli olan iyonlar artar. Egzersiz şiddeti ne kadar artarsa o kadar hızlı ATP tüketimi gerçekleşir.

2.1.2.3. Glikojen-Laktik Asit Sistemi

Kullanılan tek substratın karbohidrat olduğu glikojen-laktik asit veya anaerobik glikoliz sistemi, aerobik mekanizmaya göre daha hızlı ATP eldesi için tasarlanmıştır. Hızlı koşu, yüksek yoğunluklu aralıklı eğitim, ağırlık kaldırma gibi kısa süreli yoğun egzersizlerde kullanılan anaerobik glikoliz sisteminde daha hızlı ATP üretimi olmasına rağmen sınırlı ATP üretimi mevcuttur. Yağdan daha verimli ve daha hızlı aktive olan karbohidrat, anaerobik mekanizmada VO_{2max} eşiğini geçtiğinde ve kasın ihtiyaç duyduğu oksijeni aerobik mekanizma ile karşılayamadığında enerji üretmek için yakıt olarak kullanılır. Yoğun ve kısa süreli egzersiz sırasında kas hücrelerinin artan oksijen ihtiyacı, aktif kaslara giden kan akışı arttığında karşılanır [32].

Egzersiz sırasında aerobik enerji üretiminin yetersiz kaldığı ve anaerobik enerji üretimindeki artışın başladığı nokta anaerobik eşik bölgesi olarak adlandırılır. Egzersize verilen fizyolojik tepkiler açısından anaerobik eşik önemli bir fonksiyonel sınırdır. Bu fizyolojik tepkiler esas olarak iskelet kasının oksidatif kapasitesi ve kişinin VO_{2max}'ı ile ilişkilidir [33], [34].

Bu sistemde, kasta glukoz veya glikojen olarak depo edilen karbohidratlar oksijenin olmadığı ortamda tam olarak parçalanmadan laktik aside dönüşür (Şekil 2.3). Laktik asit yolağı sonucu oluşan laktatın kasta birikmesi kas kasılmasını engeller, glikojen yıkım hızını yavaşlatır ve pH'ı düşürerek yorgunluğa sebep olur [25]. Kanda biriken laktat seviyesi ile anaerobik eşik düzeyi orantılı şekilde artar. Glikojen-laktik asit sisteminin maksimum kapasitede kullanıldığı durumda, bu sistemin yenilenmesini laktik asidin vücuttan uzaklaştırılma hızı belirler.



Şekil 2. 3. Anaerobik enerji sistemi.

2.2. İSKELET KASI

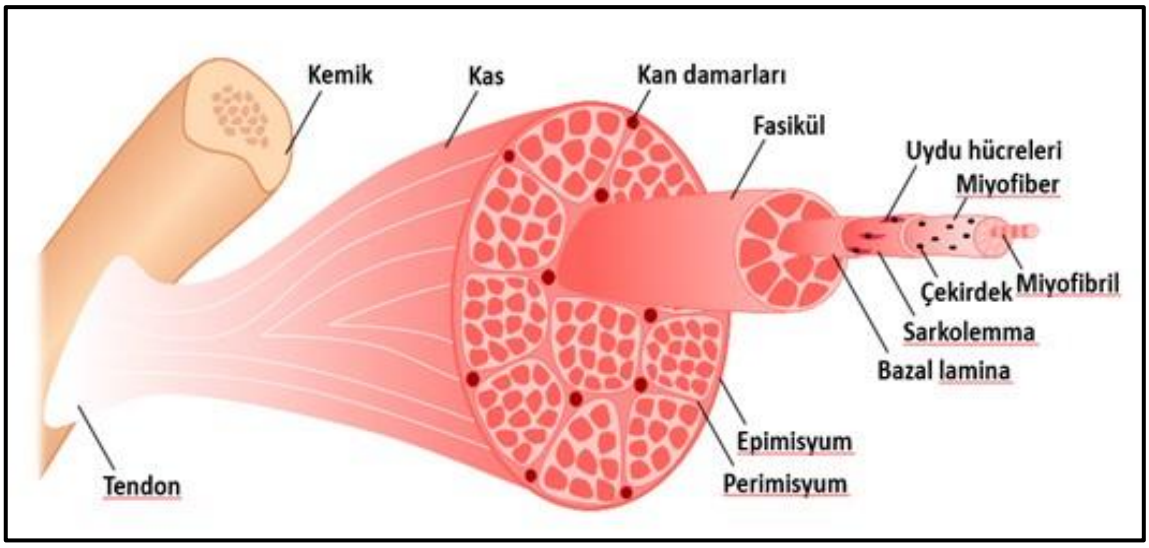
İskelet kas dokusu, vücudun üç kas doku türünden biri olan, somatik sinir sistemi tarafından uyarılarak mekanik aktivasyon gerçekleştiren ve bu sayede vücut hareketini sağlayan ana birimdir [35]. Yetişkin bir bireyin vücudunun yaklaşık %50'sini iskelet kası oluşturur. İskelet kasının birincil işlevi, kimyasal enerjiyi mekanik enerjiye dönüştürmek, böylece kuvvet ve güç üretmektir. İskelet kas sistemi, hareket yeteneğini sağlamanın yanı sıra vücut duruşunun korunması, solunum ve dolaşım gibi yaşamsal işlevlerde görev alır [36]. Aynı zamanda karbohidratlar ve amino asitler gibi temel substratlar için bir depolama alanıdır ve sitokinler ile transkripsiyon faktörlerini kan dolaşımına salgılar. Böylece diğer organların işlevini düzenleyen endokrin sistemi elemanı olarak rol alır. İskelet kası sıcaklık homeostazında da merkezi bir rol oynayarak, vücut ısısı üretir [37].

İnsülinin glukoz taşıyıcı tip 4 (GLUT4)'ün translokasyonunu uyarıp glukoz taşınımını sağlama işlemi %75 iskelet kasında gerçekleşir. İskelet kas sisteminin glukoz taşınımı mekanizması ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [38]. Ayrıca iskelet kasının, metabolik homeostazın korunmasında önemli bir işlevi vardır [39], [40].

2.2.1. İskelet Kası Morfolojisi

Kas lifleri, 10-100 µm çapında olup, 80 cm'ye kadar uzayabilen çok çekirdekli kas hücreleridir. Bol damarlı ve sinirli bir yapıya sahip olan iskelet kası, demetler halinde ve zarla sarılmış olarak bulunur. Her kas lifi çok sayıda kasılabilen ve birbirine paralel uzanan miyofibrillerden oluşur. Çekirdekli kas hücreleri, sarkolemma adı verilen hücre zarının altında yer alır. Sarkolemma epimisyum, perimisyum ve endomisyum olarak üç tipte bulunur. Tek bir kas lifini çevreleyen zar endomisyum, kas demetini çevreleyen zar perimisyum ve tüm kası çevreleyen zar epimisyum olarak adlandırılır. Kas hücresi sitoplazması olan sarkoplazma; aksiyon potansiyelinin yayılmasını sağlayan T-tübüllerini, oksijen bağlayıcı protein olan miyoglobini, enerji kaynaklarını mobilize eden CK'yı, sodyum, potasyum, kalsiyum gibi elektrolitleri, miyofibrilleri, glikojeni, mitokondri, sarkoplazmik retikulum ve diğer organelleri içerir [41].

İskelet kasında ışık mikroskobu altında lifin uzun eksenine dik açık ve koyu renk bantlar gözlenir, bu özelliğiyle çizgili bir görünüme sahiptir (Şekil 2.4). Bu çizgili görünüm çok sayıda kalın ve ince filament içeren miyofibrillerin bir araya gelerek iskelet kasını oluşturmasından kaynaklanır. Kalın filamentler miyozinden, ince filamentler aktin, tropomiyozin ve troponinden oluşur [42]. İnce filamentlerdeki düzenleyici bir protein olan troponin, diğer bir protein olan tropomiyozin proteinine bağlı halde aktin filamanları arasında yer almaktadır. Troponin, troponin-I, tropon-T ve troponin-C olmak üzere 3 farklı protein kompleksini içerir. Troponin-I, ince filamentlerdeki aktine bağlanarak iskelet kasında kasılmayı inhibe edici özellik gösterir. Troponin-T tropomiyozin kompleksine bağlanmayı ve troponin-tropomiyozin kompleksinin oluşumunu sağlar. Troponin-C ise kalsiyumu bağlar ve tropomiyozin molekülünün şeklini değiştirerek aktinin miyozin bağlanma bölgelerini açığa çıkarır. Böylece kas kasılmasını aktive eder [43].



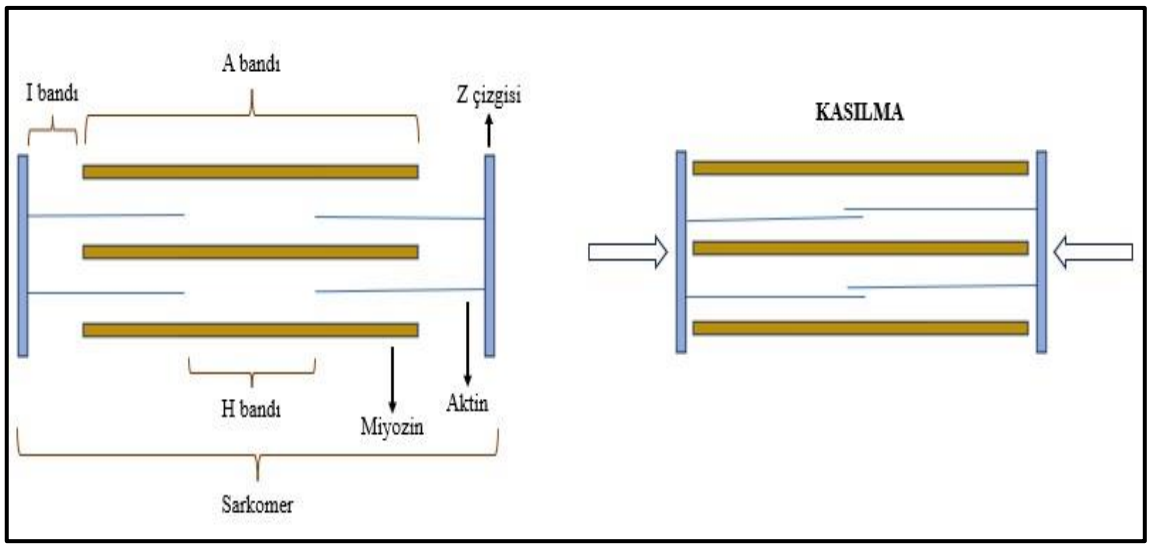
Şekil 2. 4. İskelet kası morfolojisi [44].

2.2.2. İskelet Kası Kasılma Mekanizması

İskelet kası kasılması ilk olarak motor nöron ve kas lifi arasındaki sinaps ve nöromüsküler kavşakta başlar. Aksiyon potansiyellerinin motor nörona yayılması ile depolarizasyon gerçekleşir. Kasın depolarize olması ile aksiyon potansiyeli fibril membranından başlamak üzere T-tübülleri boyunca fibril içlerine doğru ilerler. Bu durumda kas hücresi bir aksiyon potansiyeli ile kasılmak için uyarılmış olup, sarkoplazmik retikulumda bulunan iyon kanallarını açar ve sarkoplazmaya kalsiyum iyonunu salar. Kalsiyumun bir bölümü Troponin-C'ye bağlanır, bu da tropomiyozinde şekil değişimine neden olur. Böylece aktin filamentlerindeki miyozinin aktif bağlanma bölgeleri açığa çıkar. Miyozinin ATP varlığında aktine gevşek olarak bağlanması çapraz köprü oluşumuna neden olur ve kas kasılımı başlar [45]. Çapraz köprü döngüsü, kalın ve ince filamentlerin birbirinin yanından kaydığı mekanizmayı ifade eder. Miyozine ATP bağlanması, miyozinin aktine olan afinitesini azaltır ve konformasyonel bir değişikliğe neden olur. Sonuçta miyozin aktinden ayrılır ve miyozin başı sarkomerin ucuna doğru eğilir. Miyozin, ancak ATP hidrolizi ile aktine bir güç darbesi yaratabilir. ATP, ADP ve inorganik fosfora (P_i) parçalandığında miyozin başları 90 derecelik açı ile aktine bağlanır ve aktin-miyozin-ADP-P_i kompleksi oluşur. Miyozin başı aktine bağlandığında ATP'den bir fosfor salınır ve miyozin başında konformasyonel değişiklik gerçekleşir. Aradaki açı azalarak aktin ve miyozin filamentleri birbiri üzerinden kayarlar. Miyozin başından ADP ayrılınca açı 45 dereceye düşer ve kayma işlemi sonlanır. Kas gevşemesinde ise

tropomiyozin, miyozin çapraz köprüsü için bağlanma bölgesini bloke eder, böylelikle kasılmayı önler. Bu döngü kalsiyum ve ATP varlığında tekrar eder [46]–[48].

Işık mikroskobunda açık renk görüntü I bandı, koyu renk görüntü A bandıdır. I ve A bantları arasında kalan bölge Z bölgesi olup, iki komşu Z çizgisi arasında bulunan yapılara sarkomer adı verilir. Kas kasılması ile A bandı ve I bantları merkeze doğru çekilir. I bantlarının boyu kısalırken A bandının boyu değişmez. I bantları merkeze doğru hareket ederken beraberinde Z bantlarını da çeker ve sarkomerin boyu kısalır [49] (Şekil 2.5).



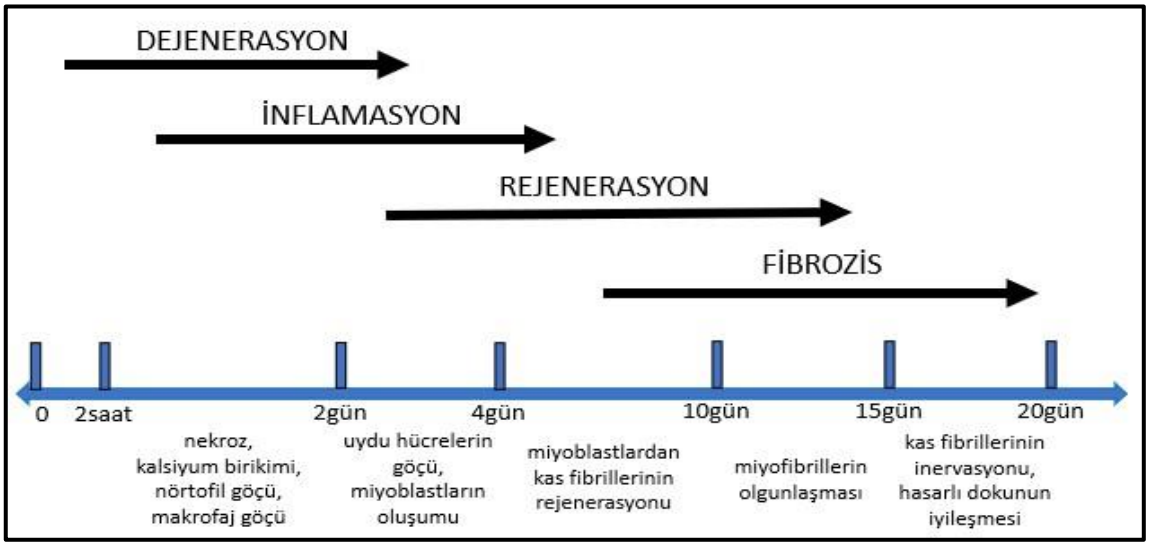
Şekil 2. 5. Kas kasılma mekanizması.

2.2.3. İskelet Kası Hasarı Onarım Mekanizması

Kas hasarı ve onarımı birbiri içine geçmiş kompleks süreçlerdir. Bu süreçlerde basamaklar halinde dejenerasyon, inflamasyon, rejenerasyon ve fibrozis olayları gerçekleşir. İlk birkaç günde gerçekleşen dejenerasyon ve inflamasyon fazı, sarkolemmanın çözünmesi ve kas liflerinin permeabilitesinin artışından dolayı kas fibrillerinin nekroza uğramasıyla başlar. Kas fibrillerinin nekroza uğraması ile, hücre dışı ve hücre içi madde alışverişi artarak hücre içinde aşırı kalsiyum birikimi gözlenir. Bu düzensiz kalsiyum yanıtları ile kalsiyum bağımlı proteazlar aktive olur ve kas yıkımı tetiklenir. Aynı zamanda kas lifi nekrozisi inflamatuar yanıtın başlamasına neden olur [50]. İnflamatuar hücreler, kan damarları yırtıldığı için yaralanma bölgesini serbestçe istila edebilir. Hasardan yaklaşık 6 saat sonra reaktif oksijen türleri üretimi için nötrofiller, pro-inflamatuar sitokinleri salgılamak için ise makrofajlar nekrotik dokuya göç ederler. Makrofajların 2 temel işlevi vardır. İlk olarak, nekrotik miyofibrilleri

fagositoz ile uzaklaştırırlar. İkinci görevi olarak da fibroblastlarla birlikte büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler gibi kemotaktik sinyaller üretirler. Daha sonra göç eden makrofajlar ise, antiinflamatuar sitokinleri salgılar ve rejenerasyon başlamasına sebep olur [51].

Kas miyofibrilleri, lokal hasar yanıtına aracılık etmek için etkili bir sarkolemmal onarım sistemine sahiptir. Rejenerasyonun ilk basamağı, hızlı bir şekilde miyojenik hücrelerin çoğalmasını, farklılaşmasını ve kaynaşmasını, ayrıca yeni miyofibrillerin oluşumunu, yeniden kasılma mekanizmasının aktivasyonunu içerir. Yetişkin kas uydu hücrelerinin aktivasyonu, bu süreçte önemli bir unsurdur. İskelet kası rejenerasyonunda gereken çekirdeği sağlamakla görevli olan uydu hücreler, sarkolemma ve endomisyum arasında yerleşmiş olan iskelet kasına özgü kök hücrelerdir. Hücre dışı matriks, doku hasar gördüğünde aktif hale gelen büyüme faktörlerini içerir. Yenilenme süreci sırasında, fibroblast büyüme faktörü-2, hepatosit büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü-1, IL-6, epidermal büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü-2, transforme edici büyüme faktör-beta, lösemi inhibe edici faktör, trombosit-kaynaklı büyüme faktörü, tümör nekrozis faktör-α (TNF-α) gibi çok sayıda büyüme faktörü, uydu hücre aktivasyonuna aracılık eder [52], [53]. Aktive olan uydu hücreleri asimetrik olarak bölünerek bazı ekstraselüler sinyaller aracılığıyla gerçekleştirilen miyoblastlara prolifere olur. Gelişen miyoblastlar, kas çekirdeğinin rutin onarımı için bir kas lifiyle füzyona uğrar [54] (Şekil 2.6).



Şekil 2. 6. İskelet kası hasarı ve onarım süreci.

Kas rejenerasyonunun son basamağı miyoblastların birbirleri ile füzyona uğramasıyla yeni kas liflerinin oluşmasıdır. Bu yeni miyoblastlar yaralı miyofibrillerle birleştiği için, yaralı miyofibrilin iki ucu arasında oluşan boşluk yeniden doldurulur. Son aşamada, yeni oluşan miyofibriller olgunlaşır. Aynı zamanda hasarlı doku yeniden düzenlenir ve kas kasılır [51].

2.2.4. İskelet Kası Hasarı ve Egzersiz

İskelet kası, günlük yaşantıda nefes almak dahil gerekli olan tüm fiziksel aktiviteleri yerine getirmeyi sağlayan, rejenerasyon ve onarım kapasitesi yüksek dinamik bir dokudur. İskelet kasında izometrik, konsantrik ve eksantrik olmak üzere üç tip kasılma tipi vardır. İzometrik kasılma sırasında kasa uygulanan güç, kas tarafından üretilen güce eşittir ve kas boyunda değişiklik olmadan kasılma gerçekleşir. Konsantrik kasılma sırasında ise kasın gerilimi artarken boyu kısalır, kas tarafından üretilen güç kasa uygulanan gücü aşar ve güç üretimi süresince kas kısalarak kasılma gerçekleşir. Eksantrik kasılma sırasında kasa uygulanan güç kasın kendisi tarafından üretilen gücü aşar ve kas aktif olarak uzayarak kasılma gerçekleşir [55].

İskelet kasında travma, ani hareket veya alışık olunmayan egzersiz sebebiyle iskelet kası hasar görebilir ve rutin hareket kabiliyetinin bir kısmı kaybedilebilir. İskelet kası hasarı, aşırı yüklenme ve zorlanmayla oluşan yaralanmanın bir sonucudur ve yaygın bir olaydır. Yapılan egzersizin süresi, şiddeti, yoğunluğu ve sıklığı kadar egzersiz modu da kas hasarı oluşumu bakımından oldukça önemlidir. Buna bağlı kaslarda oluşan hasar farklılık gösterir. Eksantrik tip egzersiz sonrasında kas hasarı, konsantrik ya da izometrik egzersizle karşılaştırıldığında daha fazla gözlenir [56]. Kuvvet oluşumu esnasında kas liflerinin uzadığı eksantrik kas kontraksiyonu, kas liflerinde yüksek gerilim yaratır ve kasılmaya bağlı kas hasarıyla sonuçlanır. Eksantrik egzersiz esnasında daha az motor ünite aktiftir. Bu nedenle kas lifi başına mekanik zorlanma konsantrik egzersize göre daha yüksektir. Bu durum sonucu ilgili dokuda oluşan yüksek stres, kas hasarını oluşturur [57]. Egzersizin yol açtığı bir hasar, miyofibrillere özgü yapının bozulmasına, özellikle Z bandındaki kopmalara, düzensiz şeritlerin oluşmasına, miyofibril iskeletindeki kırılmalara, distrofin gibi yapısal proteinlerin kaybına neden olur [58].

Doku homeostazisini sürdürmek için gerekli ve programlanmış bir hücre ölümü olan apoptoz, vücudun hasara karşı verdiği ilk hücresel tepkidir. Apoptozun ardından nekroz gelir [59]. Nekroz; ATP azlığı, iyon homeostazisinin bozulması, hücrenin hızla şişmesine

yol açan membran polaritesi, ardında membran yırtılması ve hücrenin içeriğinin dışarıya salınması ile kendini gösterir [60]. İskelet kası hasarı, ilk olarak apoptoz sürecini, daha sonra miyofiber nekrozu (miyonekroz) ve makrofajlar, nötrofiller gibi bağışıklık hücreleri tarafından inflamatuar sitokinlerin oluşumunu kapsar [61]. Travma, iskemi, yoğun egzersiz, enfeksiyöz ajanlar ve miyotoksinler dahil çok sayıda yaralanma türü miyonekroza neden olabilir [62]. Kas dokusunda artan sinyal yoğunluğu ve immün aracılı inflamatuar durumlardan kaynaklı kas ödemi oluşumu gerçekleşebilir. Kasta ödem nekroza ve inflamasyona bağlı ikincil durum olarak ortaya çıkar [63]. Kas ödemi hacmi ile kas ağrısı şiddeti orantılı olarak artar [64]. Bunun yanı sıra özellikle yaşlanmayla beraber kas içi ve kas arası yağ dokusu birikimi gözlenebilir. Kasta yağ dokusu birikimi östrojen eksikliği, mekanik zorlanma ve glukokortikoidlere maruz kalma gibi sebeplerle artan kemiklerin ilik boşluklarındaki adipositlerin birikimi sonucu tetiklenir. Özellikle direnç egzersizi kasta yağ birikiminin önüne geçerek kas gücünü artırır [65].

Yoğun akut egzersiz sonrası serbest radikaller ve ROS üretiminin arttığı bilinmektedir [20], [21]. Kasta meydana gelen yapısal hasarların en önemli nedeni büyük miktarda üretilen ROS ve oksidatif strestir [66]. ROS'lar inflamatuar bir kaskadı başlatarak, sitokinlerin aşırı üretimine neden olup kasta mikroyapısal hasara yol açabilir. Bu durum daha sonra fiziksel performansı önemli ölçüde bozar [67]. Egzersizden sonra oluşan kas hasarı, makrofajların göçü için sinyaller gönderen nötrofiller gibi bağışıklık sistemi hücrelerinin toplanması yoluyla inflamatuar yanıtı uyarır. Bu bağışıklık sistemi hücreleri inflamatuar sitokinlerin ekspresyonuna aracılık eder [68]. IL-6 ve IL-10 sitokinleri yorucu egzersizin neden olduğu kas hasarı ile ilişkilidir. IL-10, bir inflamatuar yanıtın ortaya çıkmasından sonra bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu baskılayarak etki gösteren bir antiinflamatuar sitokindir. IL-10, pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini azaltmak için M1 makrofajlarının aktivasyonunu düzenler ve TNF-α'nın ekspresyonunu baskılar [69]. Akut egzersiz, dolaşımdaki IL-10 düzeyini artırır [70]. IL-6, hem pro-inflamatuar hem de antiinflamatuar sitokin olarak işlev gösterir. IL-6 çalışan iskelet kasında lokal olarak üretilir. Eksantrik egzersiz ve akut egzersizin ardından yüksek IL-6 konsantrasyonlarıyla karşılaşılmaktadır [70]–[73]. Egzersizin neden olduğu kas hasarının, IL-6 cevabı ile tetiklendiği birçok çalışmada gösterilmiştir. Bunun yanı sıra TNF-α gibi önemli pro-inflamatuar sitokinlerin üretimi üzerinde düzenleyici etkiye de sahiptir [52]. IL-6 ve IL-10 seviyeleri, doğrudan egzersizin neden olduğu inflamatuar yanıtın zayıflaması ve iskelet kası hasarının iyileşmesiyle bağlantılı sitokinlerdir [74].

Fiziksel egzersizin hücresel metabolik strese sirtuinler üzerinden neden olduğu birçok hücre kültürü, klinik ve hayvan deneyi çalışmaları ile kanıtlanmıştır. Sirtuinler, yüksek oranda korunmuş NAD^+ bağımlı sınıf III histon deasetilaz enzim ailesidir. Sirtuinlerin histon proteinlerinin yanı sıra birçok proteini ve transkripsiyonel düzenleyici olarak işlev gören birçok substratı deasetile ettiği bilinmektedir. Bu önemli rolü sayesinde sirtuin proteinleri apoptoz, adiposit düzenlenmesi, DNA onarımı, kas farklılaşması, enerji tüketimi, glukoneogenez gibi hayati biyolojik süreçlerin içinde yer alırlar [75]. Bu nedenle yaşlanma, kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve diğer metabolik bozukluklar içeren hastalıklarla ilişki içindedir [76]. Memelilerde sirtuin ailesi, doku spesifikliği, hücre altı lokalizasyonu, enzimatik aktivite ve hedefler açısından farklılık gösteren yedi proteinden (Sirtuin 1-7) oluşmaktadır [77]. Son yıllarda, egzersizin sirtuinlerin aktivitesi üzerindeki etkisi tartışılmaktadır. Egzersizin, sirtuinlerin ekspresyonunu olumlu yönde etkilemesi sebebiyle oksidatif metabolizma etkinliğinde, biyogenez ve mitokondriyal fonksiyonunun gelişmesinde, antioksidan sistemin korunmasında rolü vardır [78], [79]. Bu kapsamda öne çıkan sirtuinler hücre çekirdeğinde bulunan SIRT1 ve mitokondride bulunan sirtuin 3 (SIRT3)'tür. SIRT1'in hepatik glukoneogenezisin düzenlenmesi, DNA onarımı, önemli bir transkripsiyon faktörü olan PGC1-α'nın deasetilasyonu ve glikolizisin baskılaması gibi işlevleri vardır [9], [80]. PGC1-α'nın deasetilasyonu ile SIRT1, aynı zamanda kas liflerinde artan oksijen tüketimine, oksidatif fosforilasyona ve mitokondriyal biyogeneze neden olur. Mitokondriyal işlevi ve metabolik homeostaziyi düzenler [81]. SIRT1 ayrıca, AMPK'ı aktive eder ve bu AMPK aktivasyonu üzerinden egzersize bağlı adaptif yanıtta rol oynar. SIRT3, esas olarak mitokondriyal matrikste lokalize olur. Trikarboksilik asit döngüsü, üre döngüsü, ketogenez, amino asit metabolizması, yağ asidi oksidasyonu ve oksidatif fosforilasyon dahil olmak üzere mitokondriyal metabolizmanın düzenlenmesinde önemli bir rol oynar [82]. SIRT3 diğer SIRT'lardan farklı olarak, hücresel solunumu ve ROS'ları artırarak yaşlanmayı ilerletir. Egzersiz sırasında, SIRT3 iskelet kasında ATP üretiminin sağlandığı mitokondride lokalize olur. SIRT3 ekspresyonu da SIRT1 gibi PGCl-α deasetilasyonu ve AMPK aktivasyonu ile ilişkilidir. Egzersizin neden olduğu aşırı ATP talebiyle, NAD^+ içeriğinde ve dolayısıyla NAD^+/NADH oranında bozulma gerçekleşir. Sonuç olarak bozulan NAD^+/NADH oranı SIRT3'ü aktive eder. Bu sebeple, egzersiz sırasında artan NAD^+, SIRT3'ün deasetilaz etkilerini artırır [40], [83]. SIRT1 ve SIRT3 proteinlerinin, PGCl-α ve AMPK aktivasyonu yoluyla mitokondriyal biyogenezi düzenleyerek egzersiz

performansını güçlendirdiğini söylemek mümkündür [84]·[85]. Ancak yapılan çalışmalara göre akut egzersizin SIRT3 değil SIRT1 aktivasyonunu artırdığı, PGCl-α aktivasyonunu SIRT1 üzerinden sağladığı bilinmektedir [40], [86].

2.2.5. Egzersizde İskelet Kası Hasarına Karşı Protein Takviyesi

Yoğun egzersizde meydana gelen şiddetli kasılma ile artan ROS seviyeleri, egzersiz süresince kas yorgunluğunu artırır ve kaslarda protein kaybına yol açar [87]. Egzersiz sonrası hem kasta protein yıkımının hem de sentezinin hızlandığını gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur [88], [89]. Egzersiz bitiminden itibaren protein sentezi ve yıkımı genel olarak 48 saate kadar artış gösterir [89]. Bu süre egzersiz türlerine göre değişiklik gösterir. Akut egzersiz sonrası, iskelet kaslarında ROS tarafından aktive edilen önemli bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa beta (Nf-Kß) sinyal yolağının aktive edildiği ve 48 saat içinde bu aktivasyonun azaldığı kanıtlanmıştır [90]. Egzersiz sonrası kas anabolizması için proteine ihtiyaç olduğu, protein içerikli besinlerin kas hasarını onardığı ve kas iyileşmesini hızlandırdığı bilinmektedir [91], [92]. Kasta protein sentezinin, yıkımının önüne geçmesi için çok miktarda amino asidin miyositlere iletilmesi gerekir. Egzersizden sonra alınan eksojen amino asitlerin kasta anabolizmayı artırarak oksidatif strese karşı koyduğu kanıtlanmıştır [93]. Ayrıca alınan protein takviyesi ile kas hasarına sebep olan inflamatuar sitokinler azalarak, egzersiz sonrası meydana gelen inflamasyon kontrol altına alınır [74]. Toparlanma sırasında net kas proteininde artış ve egzersiz performansında gelişme gözlenir.

2.2.5.1. Whey Proteini

Sporcular tarafından en sık tercih edilen protein takviyesi, sütün iki ana protein grubundan biri olan peynir altı suyu, diğer adıyla whey proteinidir. Whey proteini, bir dizi temel amino asit içeren ve kana en hızlı karışan bir protein kompleksidir. Egzersizde performansı ve gelişimi artırmasının yanı sıra kas hipertrofisini düzenlemeye, oksidatif stresi baskılamaya, kas protein sentezini sağlayarak kas hasarını önlemeye, kasların korunmasına, toparlanmasına ve vücut kompozisyonunu iyileştirmeye fayda sağlar [94], [95]. Sistein açısından zengin peynir altı suyu bazlı bir protein takviyesinin kullanılması oksidatif stresi, dolaşımdaki GSH konsantrasyonlarını ve antioksidan kapasiteyi artırarak baskılar [12], [96]. Ayrıca whey proteininde yüksek konsantrasyonlarda potasyum, kalsiyum gibi mineraller ve B12 vitamini mevcuttur [97], [98]. Whey proteini egzersiz öncesinde, egzersiz sırasında veya sonrasında besin takviyesi olarak alınarak işlev

gösterebilir. Direnç egzersizi sonrası gerekli dozda alındığı takdirde iyileşmeyi hızlandıracağını, ayrıca kas hasarını ve ağrıyı azaltacağını bildiren çalışmalar mevcuttur [99]. Whey proteini yaygın olarak bulunduğundan ve sporcular tarafından yaygın şekilde kullanıldığından, özellikle hayvan deneyi çalışmalarında tercih edilmektedir. Ancak whey proteininin yüksek dozlarda alımının ve kronik kullanımının, böbrek ve karaciğer üzerinde bazı yan etkilere sebep olduğu saptanmıştır [100]–[102]. Egzersizin olmadığı hareketsiz yaşam tarzında kullanımının da böbrek ve karaciğer fonksiyonlarında bazı olumsuz etkilere sebep olduğu bildirilmiştir [102], [103].

2.3. SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, dış orbitallerinde eşleşmemiş bir veya daha fazla elektrona sahip kararsız moleküller veya moleküler parçalar olarak tanımlanır. Serbest radikaller, fizyolojik aktivitenin doğal bir sonucu olarak vücutta ortaya çıkan maddelerdir. Çok kısa ömürlü olan serbest radikaller oldukça reaktiftir. Reaktif serbest radikaller hücre içinde oluşur ve biyomolekülleri oksitleyerek hücre ölümüne ve doku hasarına yol açabilir. Serbest radikaller enzim aktivitesi, hücresel sinyal yolakları, hastalıkların patofizyolojisi gibi birçok biyolojik olayla ilişkilidir [104].

2.3.1. Serbest Radikallerin Oluşumu

Serbest radikaller, metabolik faaliyetler sırasında endojen olarak bağışıklık sistemi hücreleri tarafından virüsleri ve bakterileri nötralize etmek için veya iyonlaştırılmış radyasyon gibi dış etkiler nedeniyle oluşabilir. Normalde vücut serbest radikallerle baş edebilir, ancak antioksidanlar yoksa veya serbest radikal üretimi aşırı olursa hasar meydana gelebilir. Bu durumda hücrelerin lipid, DNA, protein, enzim gibi bileşikleri zarar görebilir.

Bağlar, normalde eşlenmemiş elektron bırakmak için ayrılmazlar ancak zayıf bağlarda ayrılma esnasında serbest radikaller oluşabilir. Serbest radikaller çok kararsızdır ve kararlılık kazanmak için ihtiyaç duyduğu elektronu yakalamaya çalışarak diğer bileşiklerle hızla reaksiyona girerler. Reaksiyon sonrası saldırıya uğrayan molekül elektronunu kaybeder ve bir serbest radikal haline gelir. Bu zincirleme olay nanosaniyeler içinde gerçekleşir. İşlem başladıktan sonra kademeli olarak artabilir ve sonunda canlı hücrenin bozulmasına neden olabilir [105]. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötr olabilir.

Serbest radikallerin oluşumu 3 şekilde gerçekleşebilir.

1) Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında, ortak elektronlardan birinin kalacak şekilde homolitik bölünmesi: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı atomlar üzerinde kalır. Sonuçta iki adet reaktivite düzeyi yüksek serbest radikal oluşur [104], [106].

   $X \overset{\curvearrowleft}{:} \overset{\curvearrowright}{} Y \rightarrow X\cdot + Y\cdot$ (2.3)

   Homolitik bağ bölünmesi, çoğunlukla benzer elektronegatifliğe sahip iki atom arasında gerçekleşir. Ayrıca önemli miktarda enerji gerektiren bu tepkime oldukça ekzotermiktir [105].

2) Normal bir molekülden bir elektronun kaybı, molekülün heterolitik bölünmesi: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalması ile molekülün radikal formu oluşur [104], [106].

   $X \overset{\curvearrowleft}{:} Y \rightarrow X\cdot + Y^{-}$ (2.4)

   Biyolojik sistemlerde heterolitik fisyon ile serbest radikal oluşumu yüksek enerji girişi gerektirir. Genellikle yüksek sıcaklıklardan, UV ışığından veya iyonlaştırıcı radyasyondan dolayı oluşur. Homolitik fisyondan çok daha yaygın bir süreçtir.

3) Normal bir moleküle bir elektronun eklenmesi: Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek bir elektron transferiyle, molekülün dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşur. Örneğin oksijenin tek elektron ile indirgenmesi ile, radikal formu olan süper oksit anyon radikali (süperoksit iyonu) oluşur [107].

   $X: e^{-} \rightarrow X\cdot^{-}$ (2.5)

2.3.2. Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikallerin büyük bir kısmı oksijen ve azot kökenlidir. Oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROS) olarak isimlendirilir [108]. Oksijen, organizmaların hayatlarını sürdürebilmesi için çok gerekli bir elementtir. Oksijen, enerji elde etmek için hücre içindeki farklı reaksiyonlar sonucu suya dönüşür. Ancak bu işlem sırasında oksijenin %1-3'ü tamamen suya dönüşemez ve serbest radikaller oluşur. Oksijen serbest radikalleri, oksidasyon-indirgeme reaksiyonları ile hücre içinde sürekli olarak üretilir. Oksijenin bir elektron alarak redükte olması ile süperoksit radikali, iki elektron alarak redükte olması ile hidrojen peroksit ortaya çıkar. Bir elektron daha eklenip üç elektrona sahip olursa, oldukça reaktif hidroksil radikali meydana gelir [109].

2.3.2.1. Süperoksit Anyon Radikali

Süperoksit anyon radikali ($O_2^- \cdot$) hem çevresel etkenler, hem de organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en sık ve en kolay oluşan oksijen radikalidir ve mitokondriyal solunum zincirinin bir yan ürünü olarak üretilir. Süperoksit anyon radikali, kimyasal olarak oksijen molekülü bir elektron aldığında oluşur ve bir zincirleme reaksiyon yoluyla diğer radikal türlerin üretilmesine neden olur [110].

$$O_2 + e^- \rightarrow O_2^- \cdot \quad (2.6)$$

Seçici bir oksidan olan süperoksit anyon radikali, çoğu hücre bileşeniyle reaktif değildir. Ancak bazı temel bölgelerde oldukça reaktif ve toksiktir. Süperoksit iyonları tek elektron transferi ve nükleofilik sübstitüsyon dahil olmak üzere birçok reaksiyona girme yeteneğine sahiptir [110], [111].

2.3.2.2. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2), hücre membranları arasında rahatça difüze olabilen, metal iyonları yokluğunda stabilitesi yüksek, birçok fizyolojik fonksiyonu olan zayıf bir oksidandır. İki süperoksit anyonunun H^+ ile tepkimeye girmesi sonucu oluşur. Oluşan hidrojen peroksit, proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olan bu demir formu, hücre zarlarında radikalleri başlatabilir. Bu sebeple hidrojen peroksitin ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan bir enzim olan CAT yerine getirir [106].

$$O_2^- \cdot + O_2^- \cdot + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2 \quad (2.7)$$

2.3.2.3. Hidroksil Radikali

Canlı organizmalarda, oksijenin suya indirgenmesi sürecinde süperoksit radikali ve hidroksil radikali (OH•) sürekli olarak oluşan iki ana reaktif oksijen türüdür. Hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit ve demir, bakır, çinko gibi geçiş metallerinin varlığında üretilir. Bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denir [112].

$$H_2O_2 + Cu^+/Fe^{+2} \rightarrow OH^- + OH \cdot + Cu^+/Fe^{+2} \quad (2.8)$$

$$O_2^- \cdot + Cu^+/Fe^{+2} \rightarrow O^2 + Cu^+/Fe^{+2} \quad (2.9)$$

Oluşan süperoksit radikallerinin Fenton reaksiyonu ile bağlantı kurarak yeniden metal iyonlarını kullanıp hidroksil radikali oluşturması ise Haber-Weiss reaksiyonu aracılığıyla gerçekleşir [113].

$$O_2^- \cdot + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^- + OH \cdot \quad (2.10)$$

2.4. ANTİOKSİDANLAR

Serbest radikaller hücrelerde protein, karbohidrat, lipid, DNA gibi önemli makromoleküllere etki eder ve hücre hasarını meydana getirir. ROS oluşumunu ve bunların oluşturduğu hasarı önlemek için birçok savunma mekanizması vardır. Bu mekanizmalardan biri de "antioksidan savunma sistemleri"dir. Hücrelerde ortaya çıkan hasar ve bu hasarın onarımı bir denge halinde bulunur ve bu denge serbest radikaller yönünde bozulmadığı sürece organizma zarar görmez [114]. Antioksidanlar ya endojen olarak üretilir ya da eksojen kaynaklardan alınır.

Antioksidanlar başlıca SOD, CAT, glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), GSH gibi enzimleri, selenyum, manganez, bakır ve çinko gibi mineralleri ve A, C, E gibi vitaminleri kapsar. Antioksidan aktiviteye sahip diğer bileşikler arasında fenolik asitler, flavonoidler, melatonin, bilirübin, ubikinon, ß-karoten, α-lipoik asit, transferrin, albümin ve ürik asit bulunur [115].

2.4.1. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olarak sınıflandırılabilir. Dışarıdan alınan eksojen antioksidanlara α-tokoferol (Vitamin E), β-karoten (Vitamin A), askorbik asit (Vitamin C) ve folik asit (Vitamin B9) örnek olarak verilebilir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2. 1. Eksojen antioksidanların sınıflandırılması.

Vitamin eksojen antioksidanlar	İlaç olarak alınan eksojen antioksidanlar	Gıdalardaki eksojen antioksidanlar
α-tokoferol (Vitamin E) **Askorbik asit (Vitamin C)** **ß-karoten (Vitamin A)** **Folik asit (Vitamin B9)**	**Ksantan oksidaz inhibitörleri** Allopürinol, Oksipürinol, Pterin aldehit, Tungsten **NADPH oksidaz inhibitörleri** Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokörleri, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar	**Bütil hidroksi tolüen** **Bütil hidroksi anisol** **Sodyum benzoat** **Etoksikuin** **Propil gallat** **Demir-süperoksit dismutaz**

Çizelge 2. 1. (devamı) Eksojen antioksidanların sınıflandırılması.

Nötrofil adezyon inhibitörleri
Rekombinant süperoksit dismutaz
Trolox-C
Ebselen
Asetilsistein
Mannitol
Desferroksamin
Sitokinler
Barbitüratlar
Demir şelatörleri

Endojen antioksidan sistemi, mitokondriyal ve hücresel solunum sırasında ROS'u nötralize etmek için genellikle yetersizdir [116]. Bu yüzden eksojen antioksidanlar oksidan/antioksidan sistemini dengelemek için gereklidir ve kanser gibi birçok hastalığın önlenmesinde temel rol oynar. Ancak eksojen antioksidanlar koruyucu dozlar olan düşük dozlarda oksidatif stresi azaltırken, terapötik dozlar olan yüksek dozlarda pro-oksidatif etki ile ROS üretimini artırabilmektedir. Bu sebeple eksojen olarak alınan antioksidan takviyelerin kullanımında tür, doz ve alım şekli göz önünde bulundurulmalıdır [117].

2.4.2. Endojen Antioksidanlar

Canlılarda sentezlenen ve oksidanların giderilmesinde rol alan endojen antioksidanlar, yapılarına göre enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar olmak üzere sınıflandırılır. (Çizelge 2.2).

Çizelge 2. 2. Endojen antioksidanların sınıflandırılması.

Endojen Antioksidanlar		
Enzimatik antioksidanlar	Non-enzimatik antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz **Katalaz** **Glutatyon peroksidaz** **Glutatyon redüktaz** **Glutatyon S-transferaz**	**Glutatyon** **Melatonin** **Ürik asit** **Bilirübin** **Niasin** **ß-Karoten** **Lutein** **Flavonoidler**	**İbukinon** **α-lipoik asit** **Metiyonin** **Albümin** **Transferrin** **Selenyum** **Hemoglobin** **Miyoglobin**

2.4.2.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.4.2.1.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit çeşitli kaynaklardan üretilen birincil ROS olduğundan, SOD tarafından dismutasyonu her hücre için çok önemlidir. Tüm aerobik türler, ROS'u detoksifiye etmek için birçok strateji geliştirmiştir. İlk savunma hattı bir süperoksit radikalinin oksijene oksitlenmesi ve SOD tarafından süperoksit radikalinin hidrojen peroksite dismutasyonudur. SOD, hücrede oksijenin reaktif ve toksik ürünlerine karşı doğrudan koruyucu fonksiyonu olan en önemli enzimdir. Bu enzim iki süperoksit radikali arasındaki dismutasyon tepkimesini katalizler [118].

$$O_2^- \cdot + O_2^- \cdot \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2 \tag{2.11}$$

Sitozol ve mitokondride SOD'un farklı formları mevcuttur. Sitozolde ve plazmada bulunan SOD1 (Cu-SOD) ve SOD3 (Zn-SOD) bakır ve çinko iyonu içerirken, mitokondride bulunan SOD2 (Mn-SOD) manganez iyonu içerir. Bu enzimin üç üyesi arasındaki en belirgin benzerlik aktif bölgelerinde redoks-aktif metal iyonları içermesidir [119], [120].

2.4.2.1.2. Katalaz

Organizmada hidrojen peroksit ortaya çıktığında, bunun hidroksil radikali üretmesini ve hücresel bileşenlere zarar vermesini engellemek için suya indirgenmesi şarttır. CAT, SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksitin moleküler oksijene ve suya ayrışmasını katalizleyen enzimlerden biri olarak öne çıkmaktadır [121].

$$2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} O_2 + 2H_2O \tag{2.12}$$

Katalaz formaldehit, formik asit ve alkoller gibi farklı toksinleri de okside edebilir [122]. Bunun için aşağıdaki reaksiyona göre hidrojen peroksit kullanır:

$$H_2O_2 + RH_2 \xrightarrow{CAT} R + 2H_2O \tag{2.13}$$

2.4.2.1.3. Glutatyon Peroksidaz ve Glutatyon Redüktaz

Peroksinitrit ($ONOO^-$), endotel hücreleri, Kupffer hücreleri, nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilen güçlü bir oksidandır. Peroksinitrit, nitrik oksit (NO) ile süperoksit radikalinin in vivo reaksiyonu sonucunda oluşan DNA hasarından sorumlu sitotoksik bir üründür. Eğer hücrede süperoksit düzeyi çok artmışsa mevcut SOD süperoksitleri

dismutasyona uğratmada yetersiz kalır ve süperoksitlerle NO radikali birleşerek peroksinitritler meydana gelir [123].

$$O_2^- \cdot + NO \cdot \rightarrow ONOO^- + H^+ \quad (2.14)$$

GPx, selenyum içeren bir enzim olup bir hidrojen vericisi olarak sülfidril grupları hidrojen peroksiti suya ve lipit peroksitleri toksik olmayan alkollere indirger. Bunu yaparken glutatyonu kullanır.

Aslında GPx'in katalizlediği reaksiyon çift yönlü bir reaksiyon olup, GSH'ı okside glutatyona (GSSG) çevirir. Bu reaksiyon ile SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit parçalanır [106]. GPx, CAT'a göre daha düşük konsantrasyonlarda hidrojen peroksiti parçalar [124].

$$2GSH + H_2O_2 \xrightarrow{GP_X} GSSG + 2H_2O \quad (2.15)$$

$$2GSH + ROOH \xrightarrow{GP_X} ROH + GSSG + H_2O \quad (2.16)$$

Okside glutatyonun redükte glutatyona çevrilmesi ise GR enzimi tarafından katalizlenir. Glutatyon redüktazın katalizlediği bu reaksiyonda okside glutatyon NADPH tarafından indirgenir [125].

$$GSSG + NADPH \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^+ \quad (2.17)$$

2.4.2.1.4. Glutatyon S-transferaz

Glutatyon S-transferazlar (GST), detoksifikasyon enzimlerinin ana grubunu temsil eder. Tüm ökaryotik türler, her biri farklı katalitik ve katalitik olmayan bağlanma özellikleri sergileyen çok sayıda GST izoenzimlerine sahiptir. GST'nin ekspresyon seviyesi, hücrelerin geniş toksik kimyasal spektrumuna duyarlılığını belirlemede çok önemli bir faktördür. GST'ler kimyasal karsinojenler ve antitümör ajanlar gibi elektrofilik ksenobiyotikleri detoksifiye etmenin yanı sıra, oksidatif stres sırasında oluşan endojen doymamış aldehitler, kinonlar, epoksitler ve hidroperoksitler gibi sekonder metabolitleri inaktive eder [126].

$$GSH + Ksenobiyotik \xrightarrow{GST} Glutatyon\ S\ Konjugat \quad (2.18)$$

2.4.2.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

Nonenzimatik antioksidanlar enzim olmayan antioksidan sınıfında olup, endojen antioksidanlara yardımcı olmada önemli rol oynayan, serbest radikalleri nötralize ederek

sayılarını azaltan bileşiklerdir. Vitamin E, C, A, K gibi vitaminler, selenyum, çinko gibi mineraller, niasin, ß-karoten, likopen, lutein, zeaksantin gibi karotenoidler, flavonoidler, ibukinon (koenzim Q10), ürik asit, GSH, transferrin, melatonin, albümin, metiyonin, bilirübin, α-lipoik asit, seruloplazmin, hemoglobin, miyoglobin ve eritropoietin nonenzimatik antioksidanlardır [127], [128].

2.4.2.2.1. Redükte Glutatyon

Glutatyon, sistein ve glutamatın amid bağı ile bağlanması ile oluşan önemli hücre içi peptitlerden biridir. Sülfidril bakımından zengin olan glutatyon hücrede en fazla bulunan protein olmayan tiyoldür ve tripeptit yapısındadır [129], [130]. Tüm memeli hücreleri tarafından sentezlenir. Glutatyonun indirgenmiş formu (redükte glutatyon, GSH) biyolojik olarak aktif olan formudur. Özellikle GSH, antioksidan savunma, amino asit transportu, koenzim işlevi, DNA onarımı, redoks düzenlenmesi, bağışıklık fonksiyonunun modülasyonu gibi birçok işlevde rol alır. GSH özellikle enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının indirgenmesi ile redükte hallerinin gerekli seviyelerde olmasını ve bunun kontrol altında tutulmasını sağlar [131].

Tiyol redoks döngüleri, antioksidan savunma ağında merkezi roller oynar. Tiyol grubunda bulunan birçok enzim şiddetli oksidatif stres etkisiyle okside olarak hücresel GSH'nin tükenmesine neden olur. Bu durum okside glutatyonun GSH'ye indirgenme yeteneğinin önüne geçer. GSH tükenmesi oksidatif stres altında antioksidan kapasitenin yetersizliğine ve birçok sinyal mekanizmasının bloke olmasına neden olur [132].

2.4.3. Egzersizde Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi

Oksidatif stres; oksidan ve antioksidan arasındaki dengenin oksidanların lehine bozulması ve moleküler hasara neden olabilmesi şeklinde tanımlanır [133]. Serbest radikaller birçok makromolekül, mitokondri ve DNA ile etkileşime girerek hücrede oksidatif strese neden olur. Bu durumun uzun süre ve yoğun şekilde devam etmesi halinde hücrede ciddi hasarlar meydana gelebilir [134]. Çevresel faktörler, besinler, ilaçlar, sigara dumanı, ağır egzersiz, ozon maruziyeti, hiperoksi, ağır metal iyonları, iyonlaştırıcı radyasyon gibi faktörler süperoksit radikallerini ve oksidatif stresi artıran başlıca sebeplerdir [115].

Hem istirahatte hem de egzersizde kasılma sırasında süperoksit ve hidrojen peroksit başta olmak üzere ROS'lar üretilir [135]. Düzenli yapılan egzersiz vücudun antioksidan aktivitesini tetikleyecek derecede ROS üretip, oksidatif stres ve antioksidan kapasiteyi

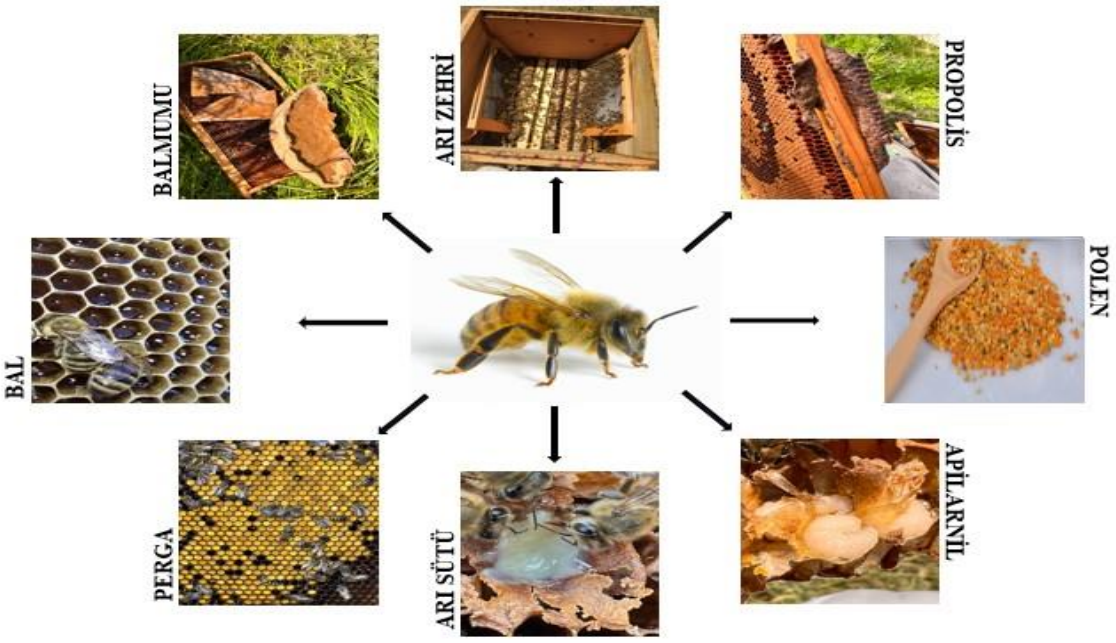
denge halinde tutar [136]. Bu ROS üretimi ile iskelet kasında, kalpte ve karaciğerde antioksidan aktivite artar, böylece serbest radikal üretimi ve oksidatif hasar sınırlanır [9], [137]. Ancak egzersizin yoğunluğuna bağlı olarak artan kas kasılmaları nedeniyle oksijen tüketimi ve kalp atım hızı orantılı olarak artar. Buna bağlı olarak ihtiyaç duyulan enerji düzeyi artar. Enerji ihtiyacının artması metabolik aktiviteyi yükseltir ve egzersizde istirahat haline göre yaklaşık 20 kata kadar, kaslarda ise 200 kata kadar oksijen harcanır [138]–[140]. Mitokondriyal respirasyonun artışı, suya dönüşecek oksijenin yetersiz indirgenmesine ve mitokondriyal elektron taşınım zincirinde elektron kaybına yol açar. Böylece ROS artışıyla beraber oksidatif stres artar [141], [142]. Egzersiz sırasında ROS seviyesindeki artışın hücrelerin savunma kapasitesindeki antioksidanları geçmesi halinde, lipid peroksidasyonunun oluştuğu bilinmektedir. Lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan maddelerden biri olan MDA, egzersizin şiddet ve süresiyle orantılı olarak artar ve oksidatif hasarın bir göstergesi olarak kullanılır [143]. Egzersiz sırasında ve sonrasında üretilen ROS, pürin oksidasyonunu, kalsiyum homeostazının ve bazı proteinlerin hasar görme riskini, kasa nötrofil aktivasyonunu ve göçünü artırır [141], [144], [145].

Endojen olarak üretilen antioksidanların yanı sıra, diyetle eksojen olarak alınan çeşitli antioksidan besinler serbest radikallerin üretimine karşı koruma sağlar [146]. Egzersiz türü, beslenme durumu ve organ tipi gibi faktörlere göre oksidan/antioksidan dengesi değişkenlik gösterir [147]. Egzersiz belirli şiddette ve düzenli olarak yapıldığında antioksidan savunmayı kuvvetlendirir. Ayrıca egzersiz performansının artmasını sağlayan adaptif etkiler tetiklenir [148]. Ancak şiddetli akut egzersizde tam tersi etkiler gözlendiği kanıtlanmıştır. Literatürde akut ve yorucu egzersizde antioksidan kapasitenin önüne geçen ROS seviyelerini azaltmak ve oluşan oksidatif stresi baskılamak adına, antioksidan takviyelerin alınması gerektiği vurgulanmaktadır [146]. Diyetle takviye edilen antioksidanların ROS seviyelerini ve kas yorgunluğunu azaltabildiği, ayrıca egzersiz sonrası iyileşmeyi artırabildiği bilinmektedir [136].

2.5. ARI ÜRÜNLERİ

Günümüzde besin ve gıda ihtiyacındaki artışla beraber hastalık çeşitlerinin artışı ve tedavilerinin sınırlı kalması sebebiyle, ayrıca ilaç sektöründeki yetersizliğin önüne geçmek adına doğal ürünler alanında yapılan bilimsel çalışmalar hız kazanmıştır. Arı ürünleri, pek çok hastalığa iyi gelen alternatif tıpta önemli rollere sahip fonksiyonel doğal

ürünlerdir [149]–[151]. 20. yüzyılında sonlarından itibaren arı ürünleri gıda olarak değerlendirildiği gibi, içerdiği etkin maddeler sebebiyle tedavi amacıyla da kullanılmıştır. Bal arısı ürünlerinin geleneksel ve tamamlayıcı tıptaki önemi bilim insanlarının ilgisini çekmektedir. Apiterapi, tıbbi amaçlar doğrultusunda bal, polen, propolis, balmumu, arı sütü, arı zehri, arı ekmeği (perga), erkek arı larvası, arı havası gibi arıyı veya arı ürünlerini kullanan geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarından biridir (Şekil 2.7). Apiterapide kullanılan çeşitli bal arısı ürünlerinin antimikrobiyal, antioksidan, antitümör, antiinflamatuar, yara iyileştirici, nöroprotektif, antiviral gibi biyolojik aktivitelere sahip olduğu bilimsel çalışmalarda gösterilmiştir [151]–[155].



Şekil 2. 7. Arı ürünleri.

2.5.1. Arı Ürünlerinin İskelet Kas Sistemi Üzerindeki Etkileri

Bugüne dek yapılan çalışmalarda birçok arı ürünün egzersizde performansı artırmaya ve iskelet kas kuvvetini geliştirmeye yönelik etkileri olduğu saptanmıştır. Özellikle arı sütü, propolis, arı zehri, arı poleni ve bal flavonoidler, polifenoller, amino asitler, karbohidrat ve antioksidanlar açısından zengin olan, egzersizde oksidatif stres ve kas kuvveti üzerine rolleri bulunan yaygın arı ürünleridir [153]. Özellikle obezite üzerinde iyileştirici etkileri olan perganın da kas patolojisi üzerinde olumlu etkileri mevcuttur [156].

Arı sütü, genç işçi bal arılarının hipofareks ve mandibular salgı bezlerinden salgılanan, kraliçe arı larvası için temel bir besin olarak kullanılan bir arı ürünüdür. Arı sütü, sarı ve

beyaz karışımı renkli, kremsi kıvamda homojen bir maddedir. Arı sütünün kimyasal kompozisyonu %60-70 su, %11- 18 protein, %8-18 şeker ve %3-8 lipit şeklindedir [157], [158]. Fonksiyonel bir besin olarak insanlar tarafından tüketilen arı sütünün başta antioksidatif özelliği ile büyümeyi desteklediği, bağışıklık sistemini güçlendirdiği, yara iyileşmelerini hızlandırdığı, iskelet kas sistemini kuvvetlendirme potansiyeli olduğu bilinmektedir [153], [159]. Egzersizde iskelet kasları üzerine yapılan bir çalışma arı sütü tedavisinin, dayanıklılık eğitimi alan farelerin soleus kaslarında AMPK aktivasyonu yoluyla mitokondriyal adaptasyonu tetiklediğini göstermiştir [160]. Ayrıca arı sütünün farelerde kas ağırlığı ve kavrama gücündeki azalmayı hafiflettiği, kas uydu hücrelerinin fonksiyonunda iyileşme sağlayarak ve hücre proliferasyonunu hızlandırarak sarkopeniyi (kas kütlesi ve gücünde kayıp) azalttığı bilinmektedir [161]. Son zamanlarda yapılan *in vivo* bir çalışma ise, tüketici egzersizden sonra oluşan dokular üzerinde oksidatif hasara karşı arı sütünün koruyucu etkilerini bildirmiştir [162].

Propolis; uçucu yağlar, mumlar, fenolik ve flavonoidler içeren, arıların kovanı dışarıdan gelen tehditlerden korumak için ağaç tomurcuklarından, bitki parçalarından sızıntılardan ve reçineli kaynaklardan topladıkları salgılar ile ürettikleri enzimleri karıştırarak oluşturdukları bir arı ürünüdür [163]. Propolis, 420'den fazla kimyasal madde içeren zengin bileşenli bir ürünüdür [164]. Son zamanlarda modern tıpta antiinflamatuar ve immünomodülatör bir ajan olarak kullanılmaktadır. Propolisin yararlı rolleri en başta fenolik bileşiklerden (flavonoidler) kaynaklanmaktadır [165]. Nispeten az sayıda çalışma propolisin sarkopeni ve kas onarımı üzerine faydalarını bildirmiştir. Propolis oksidatif stresi azaltarak , apoptozu engelleyerek ve kas protein metabolizmasını düzenleyerek iskelet kası hücrelerinin yaşlanmasını geciktirir [166]. Bu kapsamda yapılan bir çalışmada egzersiz eğitimi sonrası propolisten elde edilen su ekstraktı uygulanan sıçanlarda antioksidan enzimin aktivitesinin uyarıldığı, iskelet kası ve karaciğer dokusundaki glikojen kullanımının arttığı ve bununla beraber glikojen oluşumunun baskılandığı gözlenmiştir [167]. Propolisten izole edilen bir fenolik bileşik olan kafeik asit fenetil esterin, eksantrik egzersize bağlı kas hasarı modeli üzerinde NF-κB'ye bağımlı aktivasyonun inhibisyonuyla koruyucu etki gösterdiği bilinmektedir [168]. Ayrıca yapılan klinik bir çalışmada, propolisin potansiyel bir antioksidan ajan olarak sağlıklı aktif bireylerde oksidatif stres, inflamasyon, vücut kompozisyonu ve atletik performans üzerinde faydalı etkileri olduğu kanıtlanmıştır [169].

Arı zehri, apitoksin olarak bilinen, çeşitli farmakolojik özelliklere sahip enzimler (fosfolipaz A2 gibi), biyojen aminler, melittin, apamin, mast hücre degranülasyon peptidi, adolapin, sekapin, prokamin, tertiapin, çeşitli biyolojik olarak aktif aminler ve peptit olmayan bileşenler dahil olmak üzere en az 18 aktif bileşen içerek kompleks bir arı ürünüdür [170]. Arı zehrinin biyolojik, toksikolojik ve farmakolojik özelliklere sahip olduğu çok sayıda çalışma ile rapor edilmiştir. Arı zehrinin iskelet kas kuvveti ve onarımı ile ilişkili sınırlı çalışmalar bulunmaktadır. Bir arı zehri bileşeni olan melittinin kas zedelenmesi olan bir fare modelinde, kasları yenileyerek inflamatuar tepkiyi inhibe ettiği ve kas hasarını iyileştirdiği gösterilmiştir [171]. Bunun yanı sıra zorunlu yüzme egzersizi yaptırılan sıçanlarda yorgunluk ve doku hasarı üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, arı zehrinin yorgunluğu önlemediği ve egzersiz performansını geliştirmediği bildirilmiştir [172]. Arı zehrinin farklı doz ve besleme sürelerinin kapsamlı egzersiz üzerindeki etkilerine ilişkin daha ileri analizler tasarlanması gerekmektedir.

Arı poleni besin açısından son derece zengin olan, bal arıları tarafından toplanan bitki polenleridir. Arı poleni proteinler, amino asitler, karbohidratlar, vitaminler, polifenoller, flavonoidler gibi besin maddelerinin kaynağıdır. Farklı bileşimi nedeniyle polenin antioksidan, immünomodülatör, antiinflamatuar, antimikrobiyal, antiaterosklerotik, antialerjik , antiosteoporoz, hepatoprotektif, sedatif gibi bir dizi farmakolojik özellik sergilediği rapor edilmiştir [173]. Zengin besin içeriği nedeniyle arı poleninin sporcular için yararlı bir gıda takviyesi olduğu, vital kapasiteyi ve egzersiz performansını artırdığı bilinmektedir [174]. Arı poleninin yetersiz beslenen sıçanlarda kas kütlesini, metabolizmayı ve mitokondriyal aktiviteyi iyileştirdiği kanıtlanmıştır [175]. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışma, saf ve işlenmiş arı poleni takviyesinin gastroknemius kasında egzersize bağlı oluşan oksidatif stres üzerinde kas koruyucu rolünü ortaya koymuştur [176].

Bal, bal arılarının nektar ve bal özü gibi bitki salgılarını toplayıp midelerinde kendi enzimleriyle karıştırarak olgunlaşması için peteğe bıraktıkları doğal bir maddedir. Bal, kaynağına ve içeriğindeki maddelere bağlı olarak dünyada yerel popülasyonlarda holistik olarak çeşitli hastalıklara karşı tedavi amaçlı kullanılır. Karbohidrat, protein, polifenoller, mineraller ve vitaminleri içeren bal, serbest radikallerin ve inflamatuar sitokinlerin üretimini ve yıkıcı etkilerini antagonize eder [177]. Bugüne dek yapılan sınırlı çalışmalarda arı balının antiinflamatuar rolüyle dayanıklılık ve aerobik egzersizde performansı güçlendirdiği, kemik sağlığını geliştirdiği kanıtlanmıştır [178]. Yapılan bir

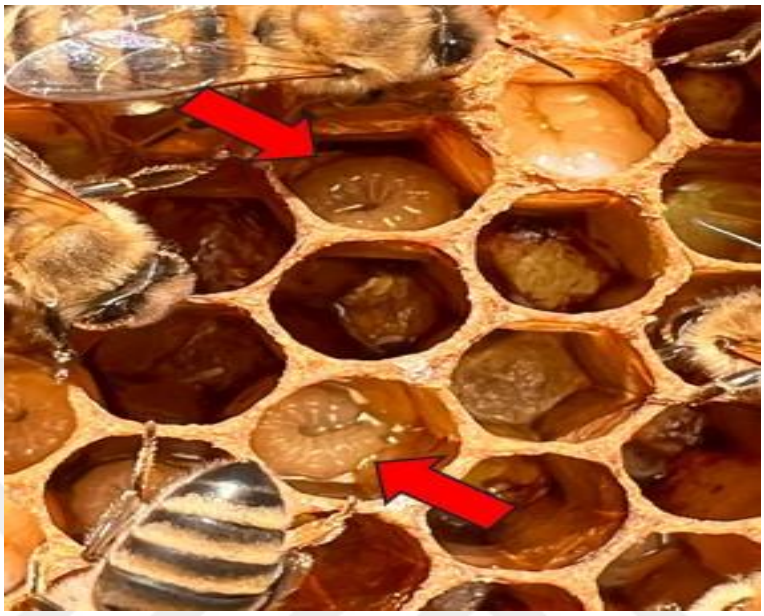
çalışmada arı balının egzersizde kullanımı ile performansı artırdığı ve sporcular arasında yorucu egzersiz sonrasında oluşan inflamatuar sitokinleri ve yorgunluğu azalttığı gösterilmiştir [179]. Farklı bir çalışmada ise, egzersizle beraber uygulanan arı balının kemik sağlığını artırdığı rapor edilmiştir [180].

2.5.2. Apilarnil

Geçmişte bal arısı ürünleri ile ilgili fizikokimyasal, biyokimyasal ve terapötik etkinliklerine ilişkin çok sayıda bilimsel çalışma yapılmış, ancak erkek arının larvası diğer arı ürünleri kadar ilgi görmemiştir. Erkek arıların tek biyolojik fonksiyonu kraliçe arıyı döllemektir. Çiftleşme sonrası erkek arı ölür, kraliçe arısı sağlıklı olan kovanlardan da yaz sonunda dışlanır [181]. Ayrıca arıcılar genellikle varroanın önlenmesi için fazla erkek arı yavrularını kovandan uzaklaştırır. Ancak son yıllarda erkek arıların larva, pupa ve ergin dönemleri ile ilgili yapılan çalışmalar ve analizler sonucu, larva halindeki erkek arının zengin içeriğinin keşfedilmesiyle erkek arıların en başta önemli bir besin kaynağı, bunun yanı sıra terapötik bir ajan olma yolunda aday bir doğal ürün olduğu anlaşılmıştır. Bilim dünyasında ilgili çalışmaların ve erkek arı larvasına olan talebin her geçen gün artmasının nedeni, zengin besin içeriği sebebiyle birçok sağlık sorununa etkin bir tedavi sağlayacağının öngörülmesidir.

Erkek arının besin elementlerince zengin ve kaliteli olduğu evre larva evresidir. Son yıllarda erkek arı larvası yani apilarnil, besin içeriğinden dolayı Afrika, Asya ve Güney Amerika ülkeleri dahil olmak üzere dünya kültüründe ek gıda olarak tüketilmektedir. Piyasada mevcut olan ve ticari ürün olarak satılan apilarnil, gıda takviyesinin yanı sıra sağlık alanında ilaç olarak ve doğal kozmetik alanında da yeri olan, özellikle geleneksel ve tamamlayıcı tıpta yer edinmiş son yıllarda önemi artan potansiyel bir arı ürünüdür. Apilarnilin bugüne dek yapılmış yan etki ve toksik doz çalışmaları bulunmamakta, ancak içerik analizleri, alerji insidansı ve doz aralığı ile ilgili araştırmalar günümüzde hızla artmaktadır. Apilarnil, 3-7 günlük erkek arı larvalarının toplanmasından sonra liyofilize edilerek elde edilir [182]. Liyofilize erkek arı larvası krem rengi tonlarında toz halinde iken, ham ya da homojenize edilmiş erkek arı larvası kremsi kıvamda ve yapışkan bir yapıdadır [6] (Şekil 2.8). Hafif asidik bir tada ve arı sütü ile benzer kokuya sahiptir [6]. Şimdiye dek yapılan analizlerle taze apilarnilin içeriği su (%65-75), kül (%1-2), protein (%7.23-15.4), karbohidrat (%6.92-12.2), lipidler (%3.5-8.38), vitaminler ve mineraller olarak belirlenmiştir [183]–[186]. Ayrıca içeriğinde testosteron, progesteron, estradiol,

prolaktin hormonları da mevcuttur ve miktarları sırasıyla 14.80 ng/g, 14.40 ng/g, 4.12 ng/g, 1.2 ng/g olarak belirlenmiştir [182]. Bugüne dek yapılan bilimsel çalışmalarda apilarnilin bağışıklık sistemini uyarıcı, antioksidan aktiviteyi artırıcı ve bilişsel fonksiyonlarda iyileştirici etkisi olduğu kanıtlanmıştır [187]–[189].



Şekil 2. 8. Apilarnil.

Apilarnil yüksek hormon içeriği nedeniyle erkek üreme hastalıklarında kullanılabilen, testosteron seviyesini artıran bir arı ürünüdür. Apilarnil, daha çok Afrika, Asya ve Güney Amerika ülkelerinde kısırlık problemleri tedavisinde ve libido ile doğurganlığı artırıcı ajan olarak kullanılmaktadır [187]. Erkek kısırlığının tedavisinde apilarnilin rolünü belirlemeyi amaçlayan çalışmalar Iliesiu tarafından başlatılmıştır. Iliesiu (1988), yaptığı araştırmanın sonucunda cinsel performansta artış olduğunu ve testislerin işleyişinde iyileşme olduğunu tespit etmiştir [190]. Daha sonra yapılan çalışmalarda apilarnilin testosteron benzeri hormon olarak davrandığı ve spermatogenezi uyardığı kanıtlanmıştır [191], [192]. Domuzlarda yapılan bir çalışmada apilarnilin parenteral enjeksiyonu ile seminal bezlerin ve epididimisin ağırlığını artırdığı, cinsel işlev bozukluklarını iyileştirdiği, sperm kalitesini artırdığı gözlenmiştir [193]. Koçlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise apilarnilin koçların üreme fonksiyonlarını uyardığı, ejakülatın kalitatif ve kantitatif özelliklerini iyileştirdiği belirlenmiştir[194]. Ayrıca apilarnilin depresyona yatkınlığı olan kadınlarda nörovejetatif bozuklukları düzenlediği, ayrıca menopozun ilk semptomlarını azalttığı kanıtlanmıştır [195].

Apilarnil kolesterol ve trigliserit seviyelerini düşüren, immün sistemi uyararak karaciğer koruyucu etkisi bulunan antiaterosklerotik bir arı ürünüdür [188], [196]. Apilarnilin cilt yaralanmasını iyileştirdiği ve dermal kollajenizasyonu artırdığı bilinmektedir [197]. Ayrıca anemi durumunda erkek arı larva homojenatının pozitif etkisi tespit edilmiştir [198]. Apilarnil beyindeki ROS'ları ve oksidatif stresi azaltarak, doz artışıyla paralel olarak nörodejenerasyonu azaltır [199]. Etki mekanizmaları henüz açık olmamasına rağmen apilarnilin beyinde sepsise bağlı apoptozu önleyebileceği düşünülmektedir. Apilarnil, antioksidatif kapasitesi oldukça yüksek olan arı sütü ile benzer ölçüde antioksidan etki sağlayan değerli bileşenlere sahiptir. Apilarnil için bilinen biyolojik özellikler, en başta onaylanmış antioksidan aktivitesine atfedilebilir [200].

2.5.3. Apilarnilin İskelet Kas Sistemi Üzerindeki Etkileri

Son zamanlarda yapılan çalışmalar kapsamında apilarnilin androjenik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir [150]. Apilarnilin sıçanlarda cinsel hormonlar üzerinde önemli etkiler gösterdiği, kısırlaştırılmış erkek sıçanlarda belirgin androjenik aktivite sergilediği ve testosteron seviyelerini artırdığı bilinmektedir [201]. Androjenlerin ve testosteron hormonunun iskelet kası ve kemik üzerinde anabolik etkisi vardır. Kalsiyumun kemiklere bağlanmasını artırır, protein anabolizmasını hızlandırır, kas ve iskelet sistemine katkıda bulunur [202]. İyi bir amino asit kaynağı ve yüksek androjenik aktiviteye sahip olduğu bilinen apilarnilin, yoğun egzersizde ortaya çıkabilecek iskelet kası hasarını inflamasyon ve oksidatif stres inhibisyonu yoluyla azaltması mümkündür. Sporcularda yaygın olarak gözlenen iskelet kaslarındaki hasarın onarım mekanizmalarının başında antioksidan kapasitenin artışı ve oksidatif stresin sınırlanması gelir. Bu bağlamda apilarnil sporculara özel besin takviyesi için güçlü bir adaydır. Apilarnilin bu etkisi hemen hemen tüm amino asitleri içeren yapısı ve yüksek protein, vitamin ve mineral içeriğiyle ilgilidir. Apilarnil özellikle tiamin, pantotenik asit, riboflavin, niasin gibi suda çözünen B kompleks vitaminleri ve fosfor, potasyum, magnezyum gibi mineralleri yüksek oranda içerir [184], [203]. Özellikle B3, B5 gibi kompleks B vitaminleri açısından zengindir [184]. Apilarnilde mevcut olan başta A, D ve E vitaminleri olmak üzere birçok vitamin, lipit peroksidasyonuna karşı koruma sağlar ve antioksidan aktivite sergiler [204]. Yapılan meta analiz çalışmalarında D vitamininin, iskelet kas kuvvetini artırdığı ve egzersizle oluşan inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir [205], [206]. Ayrıca apilarnilde yüksek oranda mevcut olan magnezyum, kalsiyum ve fosfor kas ve kemik sağlığı için en önemli minerallerdir [207], [208]. Fiziksel aktivite şiddeti arttıkça bu minerallere olan ihtiyaç

artar. Bu mineraller özellikle sporcuların günlük besin takviyesi olarak alması gereken makro elementlerdir.

Apilarnil egzersiz sırasında bazı oksidatif süreçleri uyararak kasta glikojen tüketimini artırır ve enerji verici bir özellik sergiler [7]. Ayrıca arı larvalarının amino asit eksikliğini giderdiğini, egzersiz ve mitokondriyal biyogenezde rolü olan SIRT1 proteinlerinin ekspresyonunu artırdığı ve PGC-1α yolunu up-regüle ettiği kanıtlanmıştır [8]. Kasların gelişiminde, korunmasında, yaraların iyileşmesinde oldukça faydalı olan glutamik asit apilarnilde diğer arı ürünlerinden daha fazla miktarda bulunmaktadır [11]. Apilarnilin egzersizde ve iskelet kası korunmasında önemli bir mekanizma olan immün sistemi güçlendirdiği, pro-inflamatuar sitokinlerin aşırı üretimini azalttığı ve bağışıklığı artırdığı bilinmektedir [196].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1. Cihazlar

Bu çalışmada,

- Sıçanlar için özel tasarlanmış eğimli 4 yollu koşu bandı (MAY/TME)
- Hassas terazi (Mettler Toledo, İsviçre)
- Manyetik karıştırıcı (HeidolpH, MR Hei Standard, Almanya)
- Santrifüj cihazı (Nüve, NF 1200R)
- Buzdolabı (Ariston, İtalya)
- -80°C derin dondurucu (Lexicon, Esco, Avustralya)
- Su banyosu (HydraUltrasonic)
- Vorteks mikser (IKA, orbital, Almanya)
- 37°C inkübatör (Nüve, EN500)
- Tıraş makinesi (Heinigier, İsviçre)
- Cerrahi malzeme seti (Bistüri, makas, pens vb)
- Mikropipet (Eppendorf Research, Almanya)
- Ultra saf su cihazı (Water Pro BT, Labconco, Kansas city, MO, ABD)
- HPLC-IR cihazı (Hitachi, Chromaster Software)
- Analitik kolon (Thermo Scientific Hypersil C18, 250 x 4 mm, 5 µm)
- Balonjojeler (Isolab 5, 10, 25 ve 50 ml)
- Cam pipetler (Isolab)
- Mikrotom cihazı (Leica, RM2245, Çin)
- Doku takip cihazı (Excelsior, ES)
- Doku bloklama cihazı (Sakura, Tissue-TEK, Japonya)
- Işık mikroskobu (Nikon Eclipse, Japonya)
- Mikroplate okuyucu (BioTek, Synergy-2 slfpta, Gen5 Software) cihazları kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Bu çalışmada,

- D-(+) sakkaroz (Tokyo Chemical Industry, CAS: 57-50-1),

- D-(+) glukoz (Tokyo Chemical Industry, CAS: 50-99-7),
- D-(-) fruktoz (Tokyo Chemical Industry, CAS: 57-48-7),
- D-(+) maltoz monohidrat (Tokyo Chemical Industry, CAS: 6363-53-7)
- Triflor asetik asit (Carlo Erba, CAS: 76-05-1),
- Dietil eter (Sigma Aldrich, CAS: 60-29-7),
- Asetonitril (Sigma Aldrich, Merck, CAS: 75-05-8)
- Rat (SOD) ELİSA test kiti (201-11-0169-96T, SunRed, Çin),
- Rat (CAT) ELİSA test kiti (201-11-5106-96T, SunRed, Çin),
- Rat (GSH) ELİSA test kiti (201-11-5134 -96T, SunRed, Çin),
- Rat (MDA) ELİSA test kiti (201-11-0157-96T, SunRed, Çin),
- Rat (LDH) ELİSA test kiti (201-11-0531-96T, SunRed, Çin),
- Rat (CK) ELİSA test kiti (201-11-0905-96T, SunRed, Çin),
- Rat (SIRT1) ELİSA test kiti (201-11-1498-96T, SunRed, Çin),
- Rat (IL-6) ELİSA test kiti (201-11-0136-96T, SunRed, Çin),
- Rat (IL-10) ELİSA test kiti (201-11-0109-96T, SunRed, Çin),
- Ketamin (Ketasol %10 enjeksiyonluk çözelti)
- Ksilazin (XysilazinBio %2 enjeksiyonluk çözelti)
- Formaldehit (%37-40, HistoMED)
- Etil alkol (%99.5, Biorad, CAS: 64-17-5)
- Ksilen (VWR Chemical, CAS: 1330-20-7)
- Hematoksilen (Bright Slide, Harris) kullanıldı.

3.1.3. Deney Hayvanları

Bu tez çalışmasında Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (DÜDAM) temin edilen, ortalama ağırlıkları 250-400 gram arasında değişen 2 aylık 36 adet Spraque-Dawley cinsi erkek ratlar kullanıldı. Deney hayvanlarının yetiştirilmesi, bakımı ve diğer tüm uygulamaların yapılması, deneyin sonlandırılma aşamasına kadar 2023 yılı Haziran-Ağustos tarihlerinde Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Bu süreç içinde deney hayvanları hiçbir şekilde deney hayvanları merkezi sınırları dışına çıkarılmadı. Çalışmamız için gerekli etik kurul izni Düzce Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 02/12/2022 tarihli toplantısında 2022/12/02 karar numaralı belgesiyle alındı. (Ek1.)

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Araştırmanın Tipi

Bu tez çalışması, rastgele (randomize) dağılımlı ve kontrollü deneysel hayvan çalışmasıdır.

3.2.2. Apilarnil Üretimi

Bu çalışmada kullanılacak apilarnil üretimi, Düzce Üniversitesi Arıcılık Araştırma ve Geliştirme Merkezi (DAGEM)'de gerçekleştirilmiştir. Apilarnil üretimi için en sık kullanılan yöntemler arasında kovana erkek arı gözlü hazır petek yerleştirme, yarım şerbetlik altına arının kendisinin erkek gözü oluşturmasını sağlama ya da peteğin alt yarısını keserek arının buraya erkek gözlü petek örmesini sağlama yöntemleridir [189]. Bu tez çalışmasında yarım şerbetlik altına arının kendisinin erkek gözü oluşturması sağlandı. Bu üretim yönteminin tercih edilme nedeni aynı zamanda arı kolonilerine büyük zararlar veren ve koloni kayıplarına neden olan varroa ile biyolojik mücadele etmektir. Erkek gözlerinin oluşumundan sonra uygun yaşa gelen (3-7 gün arası) erkek arı larvalarının kaşık yardımı ile petek gözlerinden temiz bir şekilde çıkarılarak üretim tamamlandı. Peteklerden toplanan ürün homojenizasyon, filtrasyon ve liyofilizasyon işlemlerine tabi tutuldu.

3.2.3. Apilarnilin Besin İçeriği Analizi

Üretimi yapılan liyofilize apilarnilin toplam protein karbohidrat, lipit ile glukoz, sükroz, maltoz ve fruktoz içerik yüzdesi belirlendi. Toplam protein içeriği için Lowry metodu [209] ile spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Lipit içeriği bir Soxhlet ekstraksiyon metodu ile dietil eter kullanılarak ölçüldü [210].

Karbohidrat içeriğinin belirlenmesi, Sesta [211] tarafından açıklanan yöntem esas alınarak refraktif indeks dedektörlü HPLC (HPLC-IR) ile gerçekleştirildi [212]. HPLC-IR analizinde, Thermo Scientific Hypersil C_{18} kolonu (4,0 mm çap, 250 mm uzunluk, 5 µm parçacık boyutu) kullanıldı. Kolon içi sıcaklığı 30°C, enjeksiyon hacmi 10 µl, akış hızı 1 ml/dk olarak ayarlandı. İzokratik analiz için mobil faz olarak asetonitril:su (80:20, h/h) karışımı kullanıldı. Liyofilize apilarnil, uygun miktarlarda metanol ile karıştırılıp seyreltildikten sonra santifüjlenerek 0.45 µm'lik filtreden geçirilip cihaza verildi. Kalibrasyon eğrisi için standart olarak glukoz, fruktoz, sükroz, maltoz kullanıldı. Her bir

içerik için tutulma zamanı kaydedilerek değerler % g olarak ifade edildi. HITACHI HPLC sistemi ve Chromaster yazılımı kullanıldı.

3.2.4. Deney Hayvanlarının Bakım Koşulları

Bu tez çalışmasında, deney süresince laboratuvar ortamında 12/12 saat aydınlık/karanlık ışık döngüsünde, sıcaklığı 23°C ve nem oranı 60±5% olan ortamlarda tel kafeslerde tutulan ratlar, standart pellet yem ve musluk suyu ile *ad libitum* şeklinde beslendi.

3.2.5. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması

Gruplar oluşturulurken ağırlıklarına göre heterojen olarak altışar sıçan seçilip, her kafeste 6 hayvan olacak şekilde 6 grup oluşturuldu (Şekil 3.1). Rastgele seçilen hayvan kontrol grubu (n=6), apilarnil grubu (n=6), whey proteini grubu (n=6), egzersiz grubu (n=6), egzersiz+apilarnil grubu (n=6), egzersiz+whey proteini grubu (n=6) olarak belirlendi;

- 1. Grup: Kontrol (K), akut egzersiz yaptırılmayan, apilarnil ve whey proteini uygulanmayan grup,
- 2. Grup: Apilarnil (A), akut egzersiz yaptırılmayan, apilarnil uygulanan grup,
- 3. Grup: Whey (W), akut egzersiz yaptırılmayan, whey proteini uygulanan grup,
- 4. Grup: Egzersiz (E), akut egzersiz yaptırılan, apilarnil ve whey proteini uygulanmayan grup,
- 5. Grup: Egzersiz+Whey (EW), akut egzersiz yaptırılan, whey proteini uygulanan grup,
- 6. Grup: Egzersiz+Apilarnil (EA), akut egzersiz yaptırılan, apilarnil uygulanan grup.



Şekil 3. 1. Sıçanların gruplandırılması.

3.2.6. Deney Hayvanlarının Egzersiz Protokolü

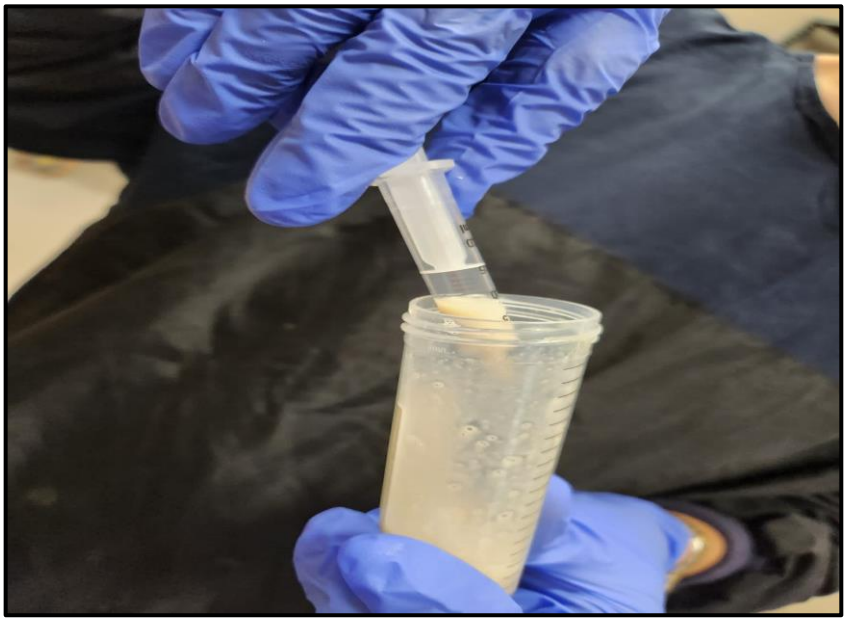
Egzersiz yaptırılan gruplarda, Wonders vd. (2008)'nın uyguladıkları akut egzersiz protokolü kullanıldı [213], [214]. Koşu bandı egzersizleri, sıçanlar için özel olarak tasarlanmış olan TME/MAY marka koşu bandında gerçekleştirildi (Şekil 3.2). Akut egzersiz protokolünden önce 2 hafta boyunca koşu bandı egzersizine alıştırıldı. İlk hafta egzersiz gruplarına 3 gün/hafta, 10 dk/gün, 15 m/dk ve %0 eğim ile alıştırma koşusu yaptırıldı. İkinci hafta egzersiz gruplarına 3 gün/hafta, 15 dk/gün, 20 m/dk ve %0 eğim ile alıştırma koşusu yaptırıldı. Alıştırma protokolünden 48 saat sonra sıçanlara 3 faz şeklinde akut egzersiz uygulandı. İlk fazda sıçanlar 5 dk 15 m/dk hızla %0 eğim ile koşturuldu. İkinci fazda 10 dk 20 m/dk hızla %0 eğimle koşturuldu. Son fazda 60 dk 25 m/dk %5 eğim ile koşturularak akut egzersiz protokolü tamamlandı. Egzersiz yaptırılmayan gruplardaki sıçanlar, koşu bandından kaynaklanan çevresel stres ile alakalı fark oluşmaması için, 60 dakika boyunca hareket etmeyen koşu bandında tutuldu.



Şekil 3. 2. Koşu egzersizlerinde kullanılan sıçanlar için özel tasarlanmış eğimli koşu bandı.

3.2.7. Apilarnil ile Whey Proteini Çözeltisinin Hazırlanması ve Uygulanması

Toz apilarnil, 0.8 g/kg b.w. dozunda distile su içinde çözdürülerek hazırlandı [196] (Şekil 3.3). Taze olarak hazırlanan apilarnil, egzersiz+apilarnil ile apilarnil gruplarına oral gastrik gavaj ile, egzersiz programı süresince ve her egzersiz eğitiminden yarım saat sonra uygulandı (Şekil 3.4).



Şekil 3. 3. Belirlenen dozda apilarnil ve whey proteini çözeltisini hazırlama işlemi.



Şekil 3. 4. Apilarnilin sıçanlara oraj gavaj yoluyla uygulanması.

İzole whey proteini, 2 g/kg b.w. dozunda distile su içinde çözdürülerek hazırlandı [215]. Taze olarak hazırlanan whey proteini, belirlenen gruplara oral gastrik gavaj yöntemi ile egzersiz programı süresince ve her egzersiz eğitiminden yarım saat sonra uygulandı (Şekil 3.5).



Şekil 3. 5. Whey proteininin sıçanlara oraj gavaj yoluyla uygulanması.

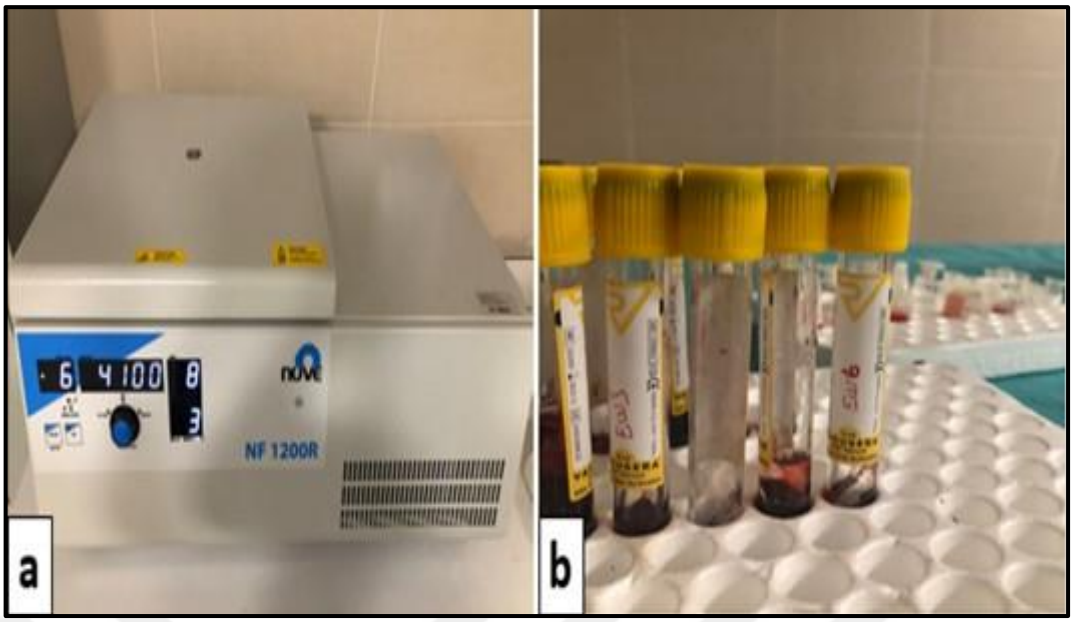
3.2.8. Ötenazi ve Dokuların Alınması

Akut egzersiz, oral gavaj uygulamaları ve ağırlık ölçümleri ardından, tüm sıçanlar ketamin (90 mg/kg b.w.) ve ksilazin (10 mg/kg b.w.) kombinasyonu ile yüksek doz anestezi altına alındı. Anestezi altındaki her sıçandan intrakardiyak olarak yaklaşık 7 ml kan örnekleri alındı (Şekil 3.6).



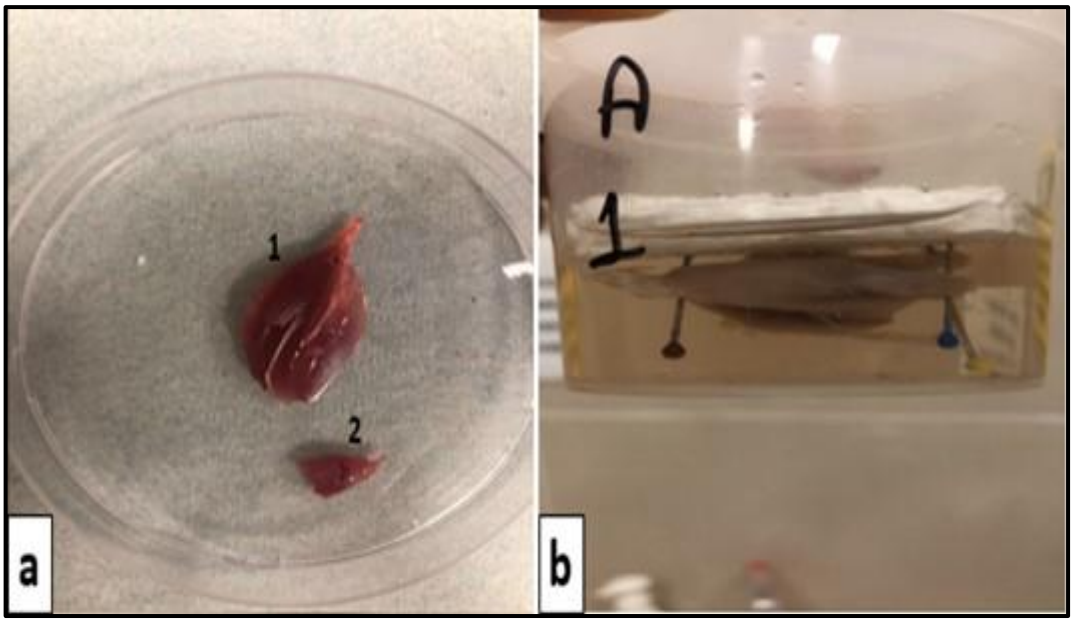
Şekil 3. 6. Anestezi sonrası sıçanlardan intrakardiyak olarak kan alımı uygulaması.

ELISA kitleri ile biyokimyasal parametreleri ölçmek amacıyla alınan kalp kanı örnekleri, oda sıcaklığında 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi (Şekil 3.7). Santrifüj sonrası serum örnekleri alınarak çalışma gününe kadar DÜDAM laboratuvarında bulunan -80°C derin dondurucuda saklandı.



Şekil 3. 7. Alınan kan örneklerinin santrifüj uygulaması ile plazma haline getirilmesi, a) santrifüj cihazı, b) santrifüj işlemi sonrası kan serum örnekleri.

Sıçanların gastroknemius ve biseps kas dokuları izole edilerek, histolojik analizler için kullanılmak üzere %10'luk formaldehit solüsyonunda 48 saat süreyle sabitlendi (Şekil 3.8). Sıçanların kalp, karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokuları daha sonraki analizler için izole edilerek DÜDAM laboratuvarında bulunan -80°C derin dondurucuda saklandı.



Şekil 3. 8. Gastroknemius ve biseps kas dokularının formaldehit solüsyonuna alınması, a,1) Gastroknemius kas dokusu, a,2) Biseps kas dokusu, b) Formaldehit solüsyonu içinde sabitlenmiş kas dokuları.

3.2.9. Biyokimyasal Analizler

Bu çalışmada plazma SOD, CAT, GSH, MDA, CK, LDH, SIRT1, IL-6 ve IL-10 aktiviteleri ticari kit kullanılarak spektrofotometrik yöntemle tayin edildi. Sunred markasının kiti olarak alınan Rat analiz kitleri, bu antijenlere spesifik çift antikorlu sandviç modeli esasına dayanan enzim bağlantılı immünosorbent testidir (ELISA). Üretici prosedürüne uygun olarak, mikroplate okuyucuda standart ve numunelerin absorbansı 450 nm'de okundu. Sonuçlar sarı rengin oluşması ile kolorimetrik olarak hesaplandı. Reaktiflerin hazırlanması:

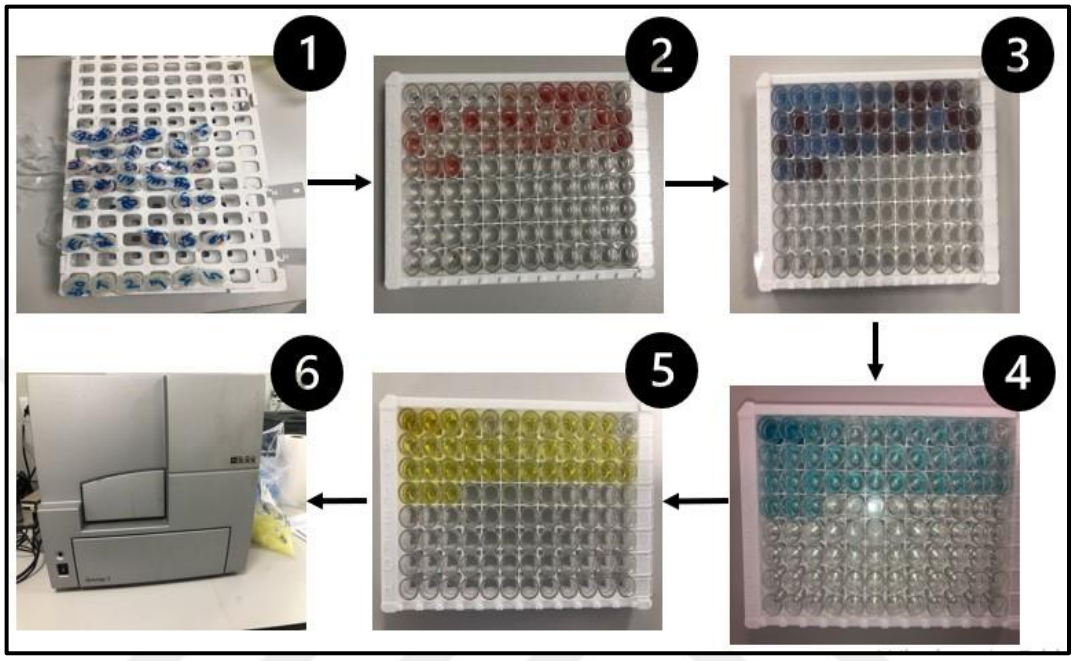
- Bütün kitler ve numuneler çalışma öncesi oda sıcaklığına getirilip, kit içeriğindeki konsantre solüsyonlar protokole uygun olarak seyreltildi. Standartlar Çizelge 3.1'deki gibi hazırlandı.

Çizelge 3. 1. Standartların hazırlanması.

	Standart Numarası				
	1	**2**	**3**	**4**	**5**
Kuyucukların son hacmi (µl)	240	240	240	240	240
SOD için son konsantrasyon (ng/ml)	4	8	16	32	64
CAT için son konsantrasyon (ng/ml)	4	8	16	32	64
GSH için son konsantrasyon (mg/l)	62,5	125	250	500	1000
MDA için son konsantrasyon (nmol/ml)	2,5	5	10	20	40
CK için son konsantrasyon (ng/ml)	3,75	7,5	15	30	60
LDH için son konsantrasyon (u/l)	20	40	80	160	320
SIRT1 için son konsantrasyon (ng/ml)	1,5	3	6	12	24
IL-6 için son konsantrasyon (pg/ml)	20	40	80	160	320
IL-10 için son konsantrasyon (pg/ml)	30	60	120	240	480

- Standartlardan ve numunelerden her bir kuyucuğa 50 µl yükleme yapıldı.
- Her bir antijene özgü biyotin ile işaretlenmiş antikorlar (10 µl) numunelere eklenip hafifçe çalkalandı.
- Standart ve numunelere immünokompleks oluşturmak için Streptavidin-HRP (50 µl) eklenerek hafifçe çalkalandı. Ardından 37°C'de 60 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda bağlanmamış molekülleri uzaklaştırmak için 1:30 oranında hazırlanan yıkama solüsyonu ile tüm kuyucuklar 350 µl ile 5 kez yıkandı.
- Kromojen solüsyonu A ve B her bir kuyucuğa (50 µl) eklenip hafifçe çalkalandı. Işıktan korunarak 10 dk 37°C'de inkübe edildi.

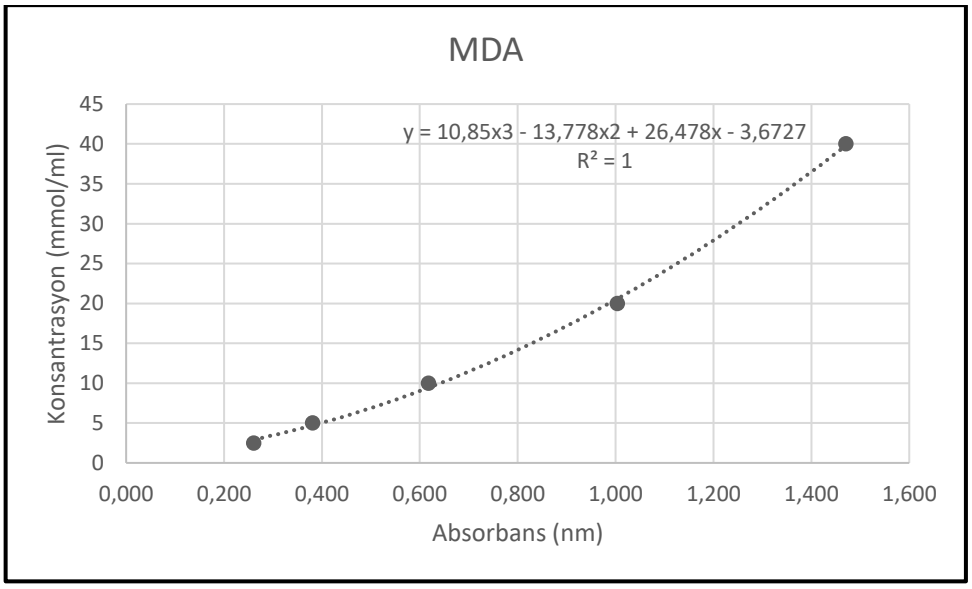
- İnkübasyon sonunda rengin maviye dönmesiyle reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa durdurma solüsyonu (50 µl) yüklendi. Ardından kuyucuktaki solüsyonun maviden sarıya döndüğü gözlendi.
- 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü (Şekil 3.9).



Şekil 3. 9. ELISA kiti prosedürü ile hazırlanmış örneklerin mikroplate okuyucuda ölçümü

3.2.9.1. Malondialdehit Aktivite Tayini

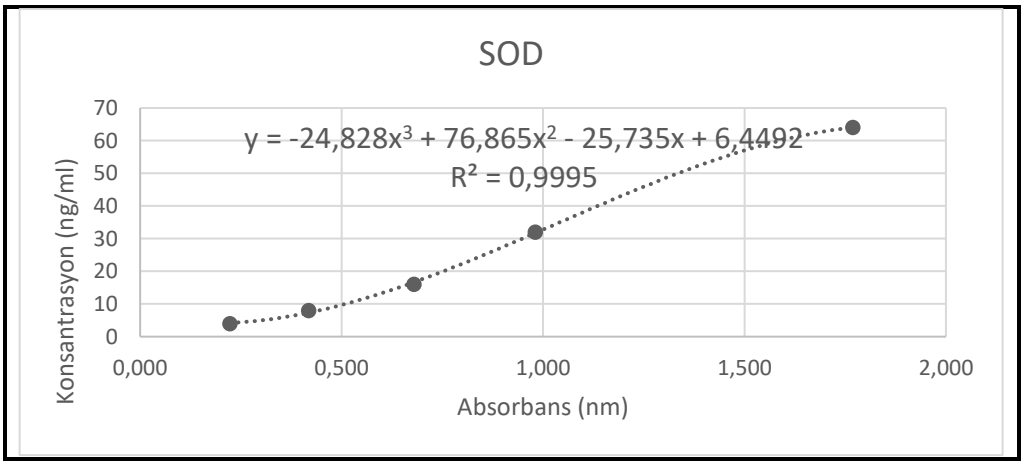
Kit içeriğinde verilen standartların konsantrasyon değerleri ve elde edilen absorbans değerleri ile MDA için standart eğrisi oluşturuldu (Şekil 3.10). Eğrinin denklemi, numunelerin içindeki MDA konsantrasyonunu hesaplamak için kullanıldı. Standartlar referans alınarak okutulan numunelerin konsantrasyonları MDA için nmol/ml olarak kaydedildi.



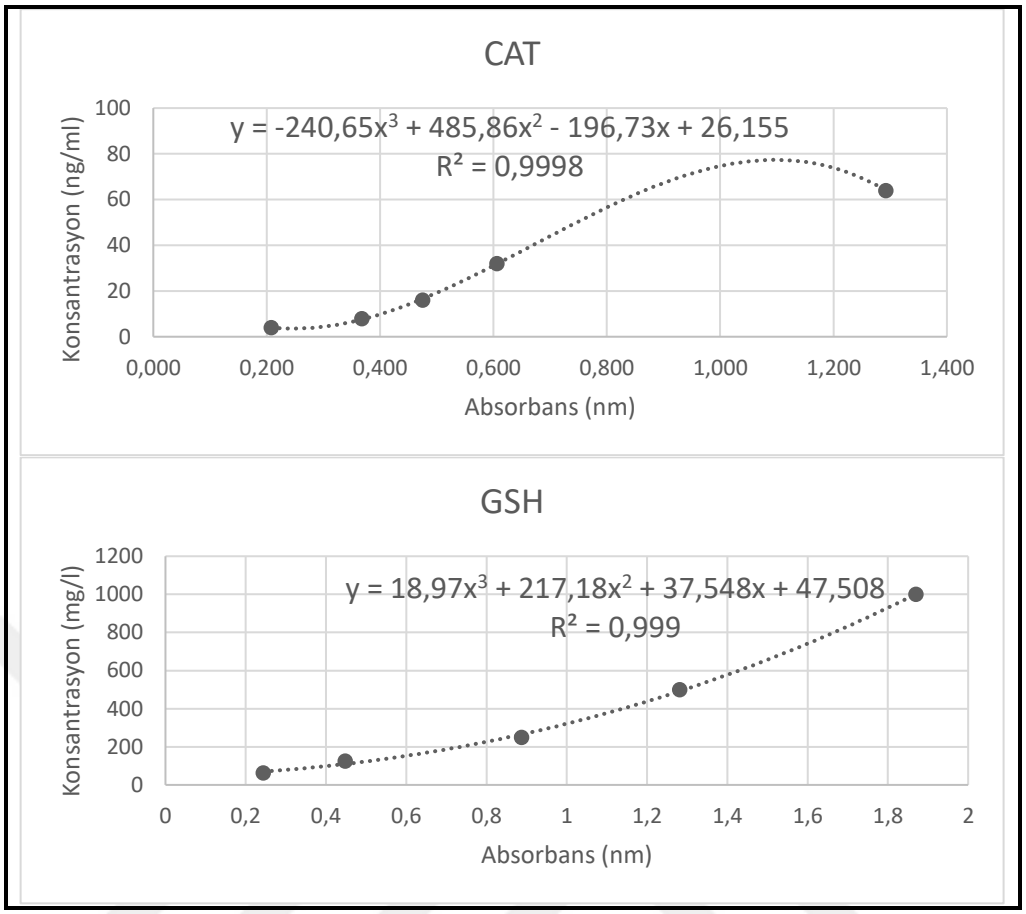
Şekil 3. 10. MDA için standart eğrisi ve denklemi.

3.2.9.2. Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutatyon Aktivite Tayini

Kit protokolünde verilen standartların konsantrasyon değerleri ve analiz sonrası elde edilen absorbans değerleri ile SOD, CAT ve GSH için standart eğrileri oluşturuldu (Şekil 3.11). Oluşan eğri denklemleri, her bir numunenin içindeki SOD, CAT ve GSH konsantrasyonlarını hesaplamak için kullanıldı. Numuneler, standartlar referans alınarak okutuldu. Sonuç olarak numunelerin konsantrasyonları SOD ve CAT için ng/ml, GSH için ise mg/l olarak kaydedildi.



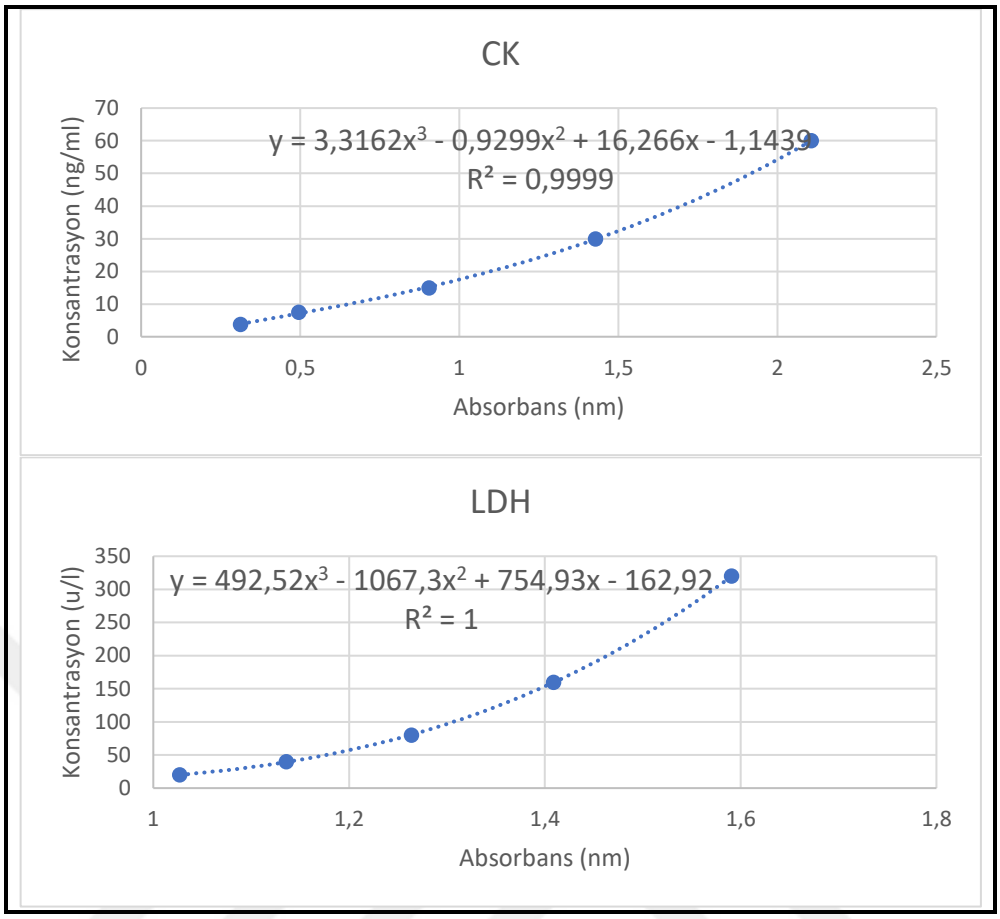
Şekil 3. 11. SOD, CAT ve GSH için standart eğrisi ve denklemi.



Şekil 3. 11. (devamı) SOD, CAT ve GSH için standart eğrisi ve denklemi.

3.2.9.3. Kreatin Kinaz ve Laktat Dehidrojenaz Aktivite Tayini

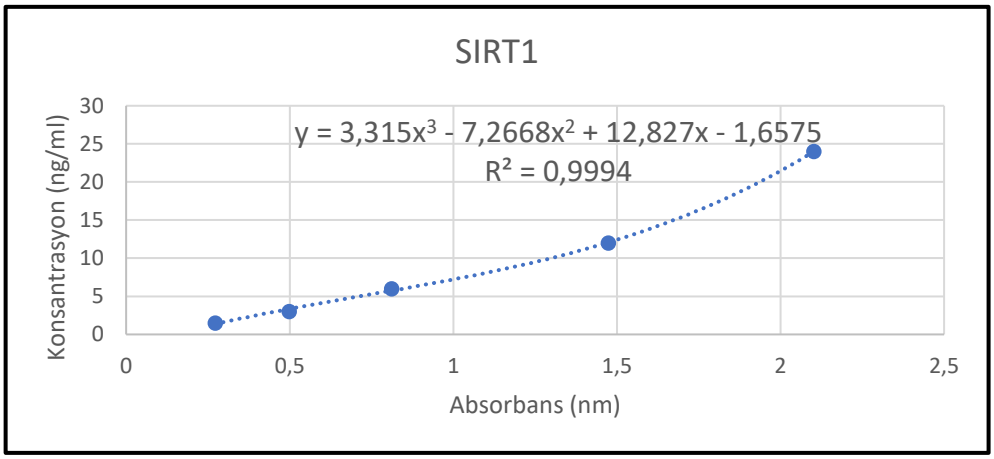
Kit içeriğinde verilen standartların konsantrasyon değerleri ve elde edilen absorbans değerleri ile CK ve LDH için standart eğrileri oluşturuldu (Şekil 3.12). Oluşan eğri denklemleri ile numunelerin içindeki CK ve LDH konsantrasyonları hesaplandı. Standartlar referans alınarak okutulan numunelerin konsantrasyonları CK için ng/ml, LDH için u/l olarak kaydedildi.



Şekil 3. 12. CK ve LDH için standart eğrisi ve denklemi.

3.2.9.4. Sirtuin1 Aktivite Tayini

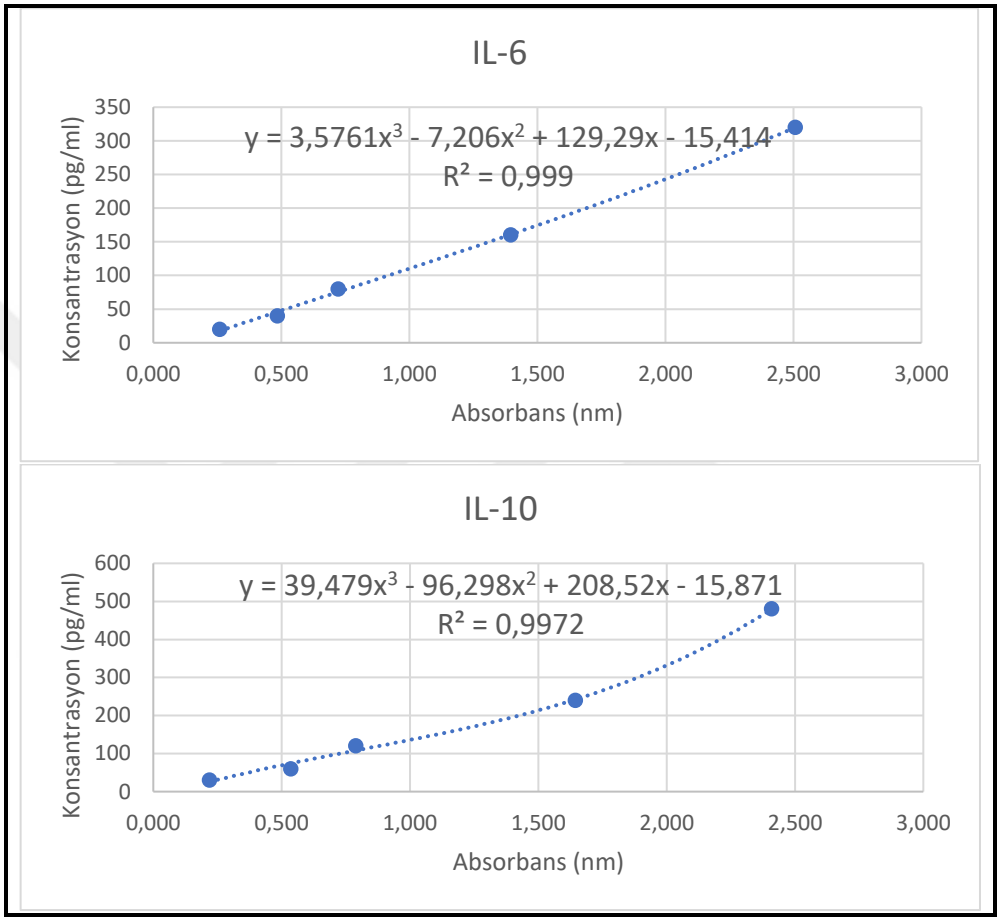
Kit protokolünde verilen standartların konsantrasyon değerleri ve bulunan absorbans değerleri ile SIRT1 için standart eğrisi oluşturuldu (Şekil 3.13). Eğrinin denklemi, numunelerdeki SIRT1 konsantrasyonunu hesaplamak için kullanıldı. Standartlar referans alınarak okutulan numunelerin konsantrasyonları SIRT1 için ng/ml olarak kaydedildi.



Şekil 3. 13. SIRT1 için standart eğrisi ve denklemi.

3.2.9.5. İnterlökin-6 ve İnterlökin-10 Aktivite Tayini

Kit içeriğinde verilen standartların konsantrasyon değerleri ve elde edilen absorbans değerleri ile IL-6 ve IL-10 için standart eğrileri oluşturuldu (Şekil 3.14). Bu eğrilerin denklemi ile IL-6 ve IL-10 konsantrasyonları hesaplandı. Standartlar referans alınarak okutulan numunelerin konsantrasyonları IL-6 ve IL-10 için pg/ml olarak kaydedildi.



Şekil 3. 14. IL-6 ve IL-10 için standart eğrisi ve denklemi.

3.2.10. Histolojik Analizler

Sıçanlar ötenazi edildikten sonra alınan gastroknemius ve biseps kas dokusu örnekleri, bağ dokularından temizlenip tartıldı. Daha sonra %10'luk formaldehit solüsyonunda 1 gün süreyle sabitlendi. Dokulardan enine ve boyuna olacak şekilde 4µm kesitler alınıp, doku takibi, bloklama ve boyama işlemleri uygulandı. Dokular parafine gömülerek, preparatlar Hematoksilen-eozin (H&E) ile boyandı.

H&E ile boyama işlemi için sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı.

- Preparatlar etüvde 40 dk bekletildi.

- İki farklı ksilende 15 dk bekletildi.
- Üç farklı alkolden geçirilerek musluk suyunda yıkandı.
- Hematoksilen'de 1 dakika bekletildi.
- Çeşmede akan suda 2 dakika yıkama yapıldı.
- Asit-alkol çözeltisinden (%80'lik alkolde %1'lik HCl çözeltisi) 10 saniye geçirildi.
- Musluk suyunda 1 dakika yıkama yapıldı.
- Amonyaklı suda 10 saniye bekletildi.
- Musluk suyunda 1.5 dakika yıkama yapıldı. Daha sonra alkolden geçirildi.
- Eozin'de 30 saniye bekletildi.

Kapatma işlemi için aşağıdaki basamaklar uygulandı.

- Sırasıyla %70'lik ve %95'lik alkolde 1-2 dakika bekletildi.
- %100'lük alkolde 10 dakika bekletildi.

Kurutma işlemi için;

- Ksilol'de 5-10 dakika bekletildi.
- Doku üzerine 1 damla entellan damlatıldı. Entellan, doku üzerinde ince bir tabaka olacak şekilde lamelle kapatıldı.
- Hava kabarcığı oluşturmamaya özen gösterilip kurumaya bırakıldı.

Boyama işlemi sonrası preparatlar ışık mikroskobu ile analiz edilip fotoğraflandı. Patolojik incelemede kas dokularındaki kas lifi ve bağ doku oluşumu, ödem, perifasiküler yağ birikimi, miyonekroz, inflamasyon incelenerek semikantitatif yöntemle skorlandı. Histolojik hasar skorlaması (H-skoru); 0=normal, 1=hafif, 2=orta, 3= şiddetli olarak belirlendi. Kas dokularındaki hasarlar ve immatür kas lifi oluşumları 10 farklı alanda X10, X20 ve X40 objektif kullanılarak değerlendirildi.

3.2.11. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistik analizi bilgisayarda SPSS 27.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Grafikler, GraphPad Prism 10.1 programı kullanılarak oluşturuldu. Bulgulara ilişkin tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma ve minimum-maksimum şeklinde verildi. Bütün verilerin normal dağılıma uygunluğu çarpıklık ve basıklık değerleri üzerinden ve Shapiro-Wilk testi ile, grup varyanslarının homojen olup olmadığı Levene testi ile test edildi. Normal dağılım gösteren verilere One-Way ANOVA

(Analysis of Varians), normal dağılım göstermeyen verilere Kruskal-Wallis testi uygulandı. Vücut ağırlığı değişikliklerinin grup içi karşılaştırması bağımlı örneklem t testi ile, gruplar arası karşılaştırması One-Way ANOVA testi ile yapıldı. Oksidatif stres, antioksidan, kas hasarı ve inflamasyon belirteçlerinin kontrol, egzersiz, whey proteini ve apilarnil ile ilişkisini değerlendirmek için normal dağılıma uygun olan verilerde One-Way ANOVA, gruplar arasında anlamlı fark bulunması durumunda Post-Hoc testi olarak LSD testi yapıldı. P değerinin 0,05'ten küçük olması durumu anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. APİLARNİL İLE WHEY PROTEİNİ BESİN İÇERİKLERİ

Üç tekrar halinde analizi yapılan liyofilize apilarnilin fizikokimyasal bileşenleri belirlendi (Çizelge 4.1).

Çizelge 4. 1. Apilarnilin fizikokimyasal bileşenleri.

Numune	Kül (%)	Nem (%)	Kolesterol (%)	Enerji (kcal)
1	3,14	3,90	2,28	1935
2	2,90	4,20	2,01	1915
3	3,10	4,09	2,11	1930
Ort.	3,05	4,06	2,13	1926,67
Std. Sap.	0,13	0,15	0,14	10,41

Ort: Ortalama, Std. Sap.: Standart sapma

Toplam protein, karbohidrat, lipit ile glukoz, fruktoz, sükroz ve maltoz içerikleri analiz edilerek ortalamaları hesaplandı (Çizelge 4.2).

Çizelge 4. 2. Apilarnilin besin içerikleri.

Numune	Protein (%)	Karbohidrat (%)	Lipit (%)	Glukoz (%)	Fruktoz (%)	Sükroz (%)	Maltoz (%)
1	47.95	26,89	10,68	2,10	1,25	0,08	0,78
2	47.39	21,99	15,40	2,11	1,22	0,08	0,76
3	49.34	25,17	14,50	2,14	1,25	0,08	0,76
Ort.	48,23	24,68	13,53	2,12	1,24	0,08	0,77
Std. Sap.	1,00	2,49	2,51	0,02	0,017	0,00	0,012

Ort: Ortalama, Std. Sap.: Standart sapma

Ticari olarak satın alınan whey proteininin toplam protein, karbohidrat, lipit içeriği ve enerji değeri Çizelge 4.3'te özetlendi.

Çizelge 4. 3. İzole whey proteininin besin içerikleri.

	Enerji (kcal)	Protein (%)	Karbohidrat (%)	Lipit (%)
İzole whey proteini tozu	350	86,67	<1,67	<1.67

4.2. SIÇANLARIN VÜCUT AĞIRLIĞI

Tüm deney gruplarının egzersiz süresi boyunca vücut ağırlıkları periyodik olarak tartıldı. Her bir grup için ilk ve son vücut ağırlıkları arasında önemli düzeyde fark olup olmadığı bağımlı örneklem t testi ile, gruplar arası karşılaştırma ise One-Way ANOVA testi ile yapıldı. Her bir gruptaki sıçanların deney başındaki ağırlıkları ile deney sonundaki ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.4).

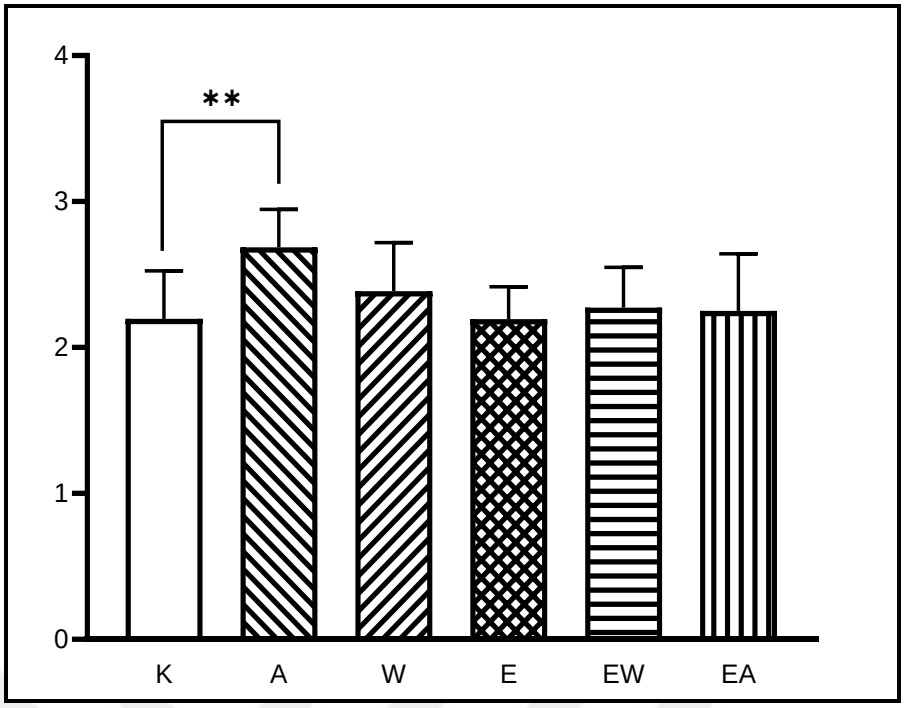
Çizelge 4. 4. Deney öncesi ve deney sonrası sıçanların ağırlıkları arasındaki farkın önem düzeyi.

Grup	İlk gün ortalamaları (g)	Son gün ortalamaları (g)	Ağırlık farkı (g)	P
Kontrol	324	374	50	,001***
Apilarnil	345	370	25	,005**
Whey	326	368	42	,011*
Egzersiz	322	349	27	,013*
Egzersiz+Whey	333	373	40	,003**
Egzersiz+Apilarnil	323	355	32	,004**

Ağırlıkların deney öncesi ve sonrası değişimlerinin analizinde bağımlı örneklem t testi kullanılmıştır. P: anlamlılık, *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001.

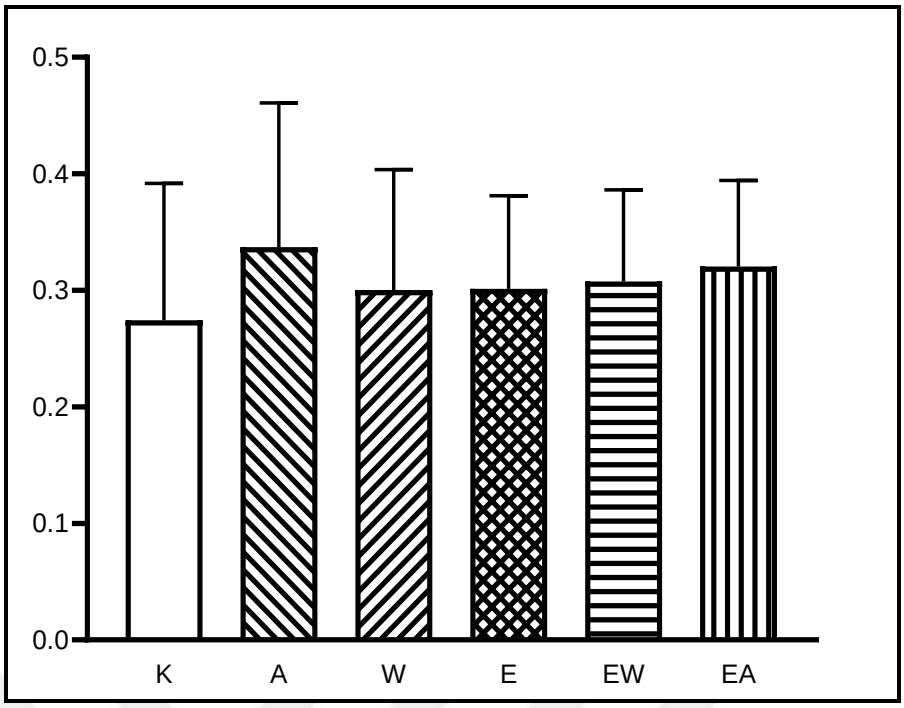
4.3. SIÇANLARIN GASTROKNEMİUS VE BİSEPS KAS DOKUSU AĞIRLIKLARI

Sıçanların deney sonundaki gastroknemius ve biseps kas dokularının ağırlıkları ölçüldü. Gruplar arası karşılaştırma One-Way ANOVA testi ile yapıldı. Gastroknemius kasında apilarnil grubunda kontrole ve whey proteini grubuna kıyasla daha fazla artış gözlendi (Şekil 4.2). Apilarnil grubu, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,01).



Şekil 4. 1. Sıçanların deney sonundaki gastroknemius kas dokusu ağırlıkları. K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6). One-Way ANOVA Analizi. **P<0,01.

Biseps kas dokusunda da benzer şekilde apilarnil grubunda diğer gruplara göre hafif artış belirlendi (Şekil 4.3). Ancak istatistiki olarak önemli düzeyde bir fark tespit edilmedi.



Şekil 4. 2. Sıçanların deney sonundaki biseps kas dokusu ağırlıkları.

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6). One-Way ANOVA Analizi.

4.4. BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI

4.4.1. Grupların Serum MDA Aktivitesi Sonuçları

Tüm deney gruplarında grup dağılımları normal bulundu. Gruplar arasında MDA aktivitesi bakımından önemli düzeyde farklılık olup olmadığı One-Way ANOVA testi ile belirlendi. Tüm grupların ortalama MDA aktivitesi sonuçları Çizelge 4.5'te gösterildi.

Çizelge 4. 5. Grupların MDA aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri.

Grup	N	Ortalamalar (nmol/ml)	Std. Sap.	Min.	Maks.
Kontrol	6	5,45	1,01	4,33	7,00
Apilarnil	6	5,34	0,72	4,33	6,23
Whey	6	7,52	1,26	5,8	8,87
Egzersiz	6	6,97	0,68	6,19	8,04
Egzersiz+Whey	6	8,11	1,59	5,97	9,58
Egzersiz+Apilarnil	6	6,88	0,58	6,21	7,69

N: Hayvan sayısı, Std. Sap.: Standart sapma, Min.: En küçük değer, Maks.: En büyük değer.

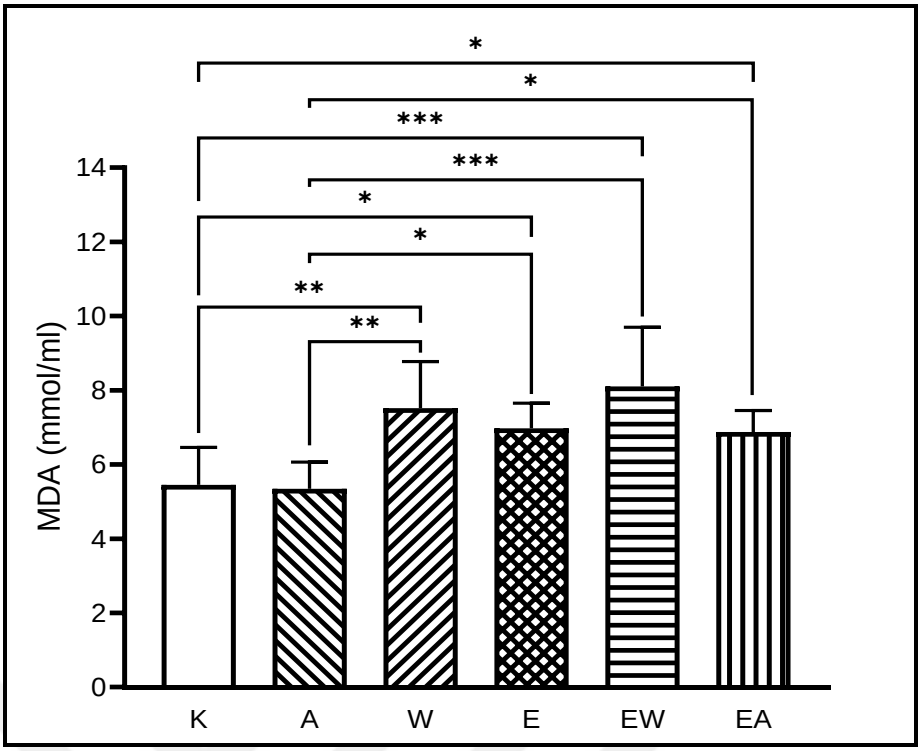
ANOVA sonuçlarına göre MDA aktivitesi bakımından gruplar arasında önemli düzeyde farklılık bulundu (p<0,001). Grupların ikili karşılaştırılmasında belirlenen anlamlılık düzeyleri Çizelge 4.6'da özetlendi.

Çizelge 4. 6. MDA aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri.

GRUPLAR		**P**
Kontrol	Apilarnil	,870
	Whey	,003[b]
	Egzersiz	,017[a]
	Egzersiz+Whey	,000[c]
	Egzersiz+Apilarnil	,024[a]
Apilarnil	Whey	,003[b]
	Egzersiz	,015[a]
	Egzersiz+Whey	,000[c]
	Egzersiz+Apilarnil	,021[a]
Whey	Egzersiz	,391
	Egzersiz+Whey	,361
	Egzersiz+Apilarnil	,315
Egzersiz	Egzersiz+Whey	,069
	Egzersiz+Apilarnil	,875
Egzersiz+Whey	Egzersiz+Apilarnil	,050

a: p<0,05; b: p<0,01; c: p<0,001

Akut egzersiz yaptırılan grupta kontrole göre anlamlı bir artış tespit edildi (p=0.017). Egzersizden bağımsız olan apilarnil grubunda bir fark gözlenmedi (p>0.05). Ancak whey proteini verilen grup kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttı (p=0.003). Bununla beraber yalnızca whey proteini ile beslenen grup, apilarnil ile beslenen gruba göre MDA aktivitesi bakımından önemli düzeyde yüksek bulundu (p=0.003). Apilarnil grubu, egzersiz (p=0.015) ve egzersiz+apilarnil (p=0.021) gruplarına göre anlamlı olarak düşük kaldı (Şekil 4.4).



Şekil 4. 3. MDA aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri.

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6). One-Way ANOVA Analizi. $p<0,05$; **$p<0,01$; ***$p<0,001$.

4.4.2. Grupların Serum SOD, CAT ve GSH Aktivitesi Sonuçları

Her bir deney grubu SOD, CAT ve GSH aktivite ölçümlerinde grupların dağılımı açısından normal bulundu ve tüm gruplarda One-Way ANOVA testi uygulandı. Tüm grupların ortalama SOD aktivitesi ölçüm sonuçları Çizelge 4.7'de belirtildi.

Çizelge 4. 7. Grupların SOD aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri.

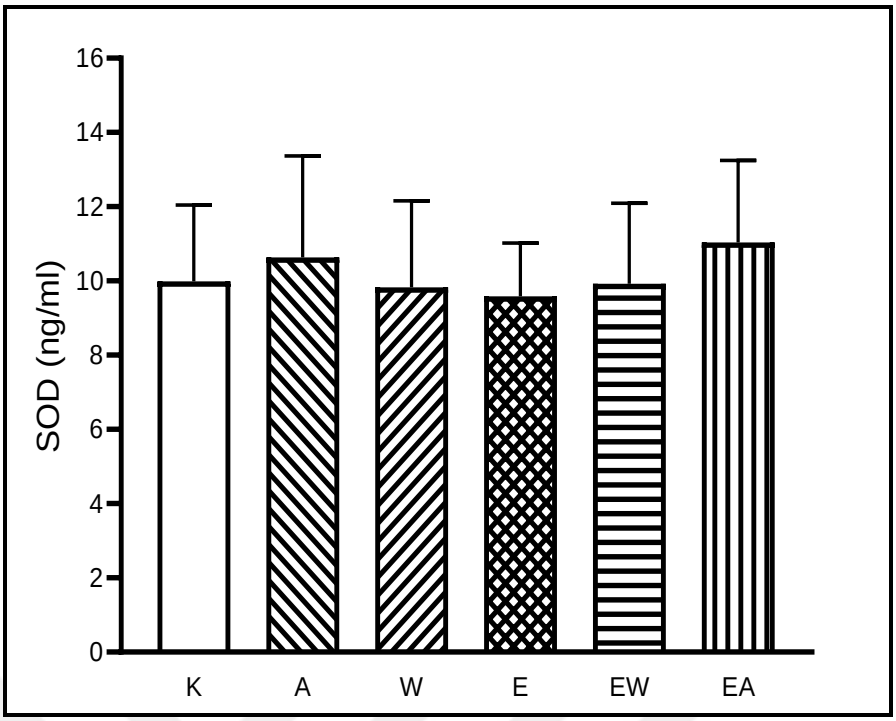
Grup	N	Ortalamalar (ng/ml)	Std. Sap.	Min.	Maks.
Kontrol	6	9,99	2,05	8,09	14,00
Apilarnil	6	10,64	2,73	7,16	13,76
Whey	6	9,59	1,44	7,89	12,92
Egzersiz	6	9,83	2,33	7,13	12,81
Egzersiz+Whey	6	9,93	2,17	7,52	13,64
Egzersiz+Apilarnil	6	6,88	0,58	6,21	7,69

N: Hayvan sayısı, Std. Sap.: Standart sapma, Min.: En küçük değer, Maks.: En büyük değer.

Analiz sonuçlarına göre SOD aktivitesi bakımından gruplar arasında anlamlılık gözlenmedi ($p>0.05$) (Çizelge 4.8). Apilarnil takviyesi yapılan grup, kontrole göre artış gösterse de ortalama SOD aktivitesi sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlılık yoktu (Şekil 4.5).

Çizelge 4. 8. SOD aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri.

GRUPLAR		**P**
Kontrol	Apilarnil	,612
	Whey	,903
	Egzersiz	,750
	Egzersiz+Whey	,960
	Egzersiz+Apilarnil	,414
Apilarnil	Whey	,545
	Egzersiz	,411
	Egzersiz+Whey	,577
	Egzersiz+Apilarnil	,755
Whey	Egzersiz	,855
	Egzersiz+Whey	,941
	Egzersiz+Apilarnil	,369
Egzersiz	Egzersiz+Whey	,788
	Egzersiz+Apilarnil	,260
Egzersiz+Whey	Egzersiz+Apilarnil	,387



Şekil 4. 4. SOD aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6). One-Way ANOVA Analizi.

Tüm grupların ortalama CAT aktivitesi ölçüm sonuçları ±standart sapma ile belirlendi (Çizelge 4.9).

Çizelge 4. 9. Grupların CAT aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri.

Grup	**N**	**Ortalamalar (ng/ml)**	**Std. Sap.**	**Min.**	**Maks.**
Kontrol	6	13,11	4,11	9,80	21,06
Apilarnil	6	30,95	17,41	15,14	58,73
Whey	6	30,99	15,69	9,20	26,16
Egzersiz	6	18,90	7,24	16,54	55,07
Egzersiz+Whey	6	34,02	9,58	23,12	50,51
Egzersiz+Apilarnil	6	33,24	10,68	7,56	47,20

N: Hayvan sayısı, Std. Sap.: Standart sapma, Min.: En küçük değer, Maks.: En büyük değer.

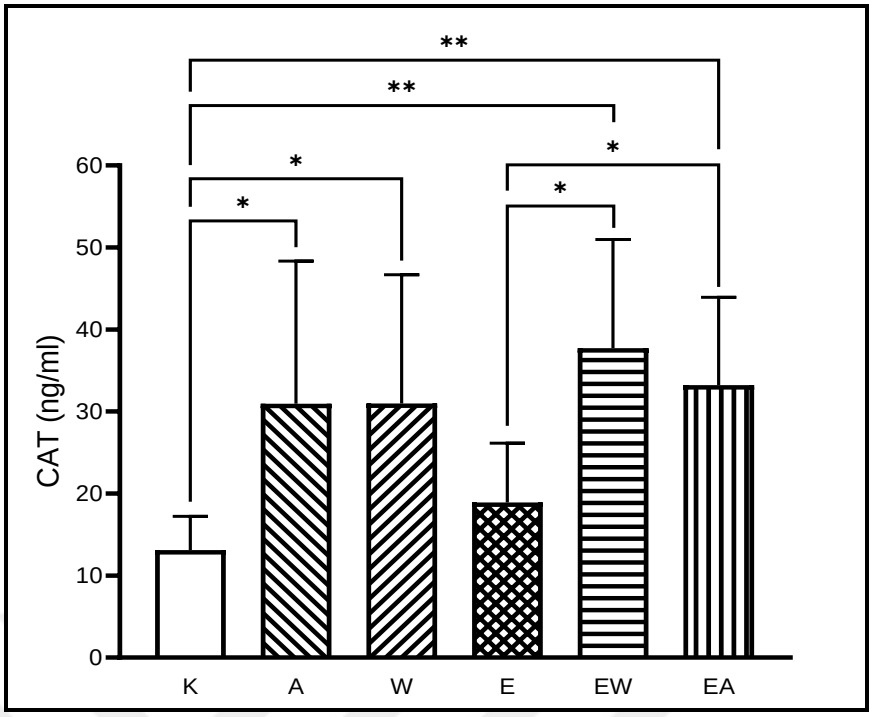
ANOVA sonuçlarına göre CAT aktivitesi bakımından gruplar arası önemli düzeyde farklılık gözlendi (p=0,016). Grupların ikili karşılaştırılmasında egzersiz grubu hariç besin takviyesi ile beslenen diğer tüm grupların kontrole göre anlamlı şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.10).

Çizelge 4. 10. CAT aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri.

GRUPLAR		P
Kontrol	Apilarnil	,012[a]
	Whey	,016[a]
	Egzersiz	,392
	Egzersiz+Whey	,004[b]
	Egzersiz+Apilarnil	,005[b]
Apilarnil	Whey	,994
	Egzersiz	,082
	Egzersiz+Whey	,649
	Egzersiz+Apilarnil	,734
Whey	Egzersiz	,095
	Egzersiz+Whey	,669
	Egzersiz+Apilarnil	,751
Egzersiz	Egzersiz+Whey	,031[a]
	Egzersiz+Apilarnil	,040[a]
Egzersiz+Whey	Egzersiz+Apilarnil	,908

a: p<0,05; b: p<0,01

Deney gruplarının CAT aktivitesi ölçümü sonucunda kontrole karşı apilarnil (p=0.012) ve whey (p=0.016) gruplarında anlamlı bir artış bulundu. Akut egzersiz yaptırılan sıçanlara karşı egzersiz+apilarnil (p=0.04) ve egzersiz+whey (p=0.031) grubu istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttı (Şekil 4.6).



Şekil 4. 5. CAT aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri.

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6). One-Way ANOVA Analizi. *P<0,05; **p<0,01.

Tüm grupların ortalama GSH aktivitesi ölçüm sonuçları ±standart sapma ile Çizelge 4.11'de özetlendi.

Çizelge 4. 11. Grupların GSH aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri.

Grup	N	Ortalamalar (mg/l)	Std. Sap.	Min.	Maks.
Kontrol	6	106,88	19,05	82,93	139,68
Apilarnil	6	141,96	34,85	101,62	199,58
Whey	6	137,59	11	122,41	152,00
Egzersiz	6	111,87	12,61	96,31	129,26
Egzersiz+Whey	6	124,76	22,93	92,30	159,45
Egzersiz+Apilarnil	6	136,18	4,98	127,31	142,08

N: Hayvan sayısı, Std. Sap.: Standart sapma, Min.: En küçük değer, Maks.: En büyük değer.

ANOVA sonuçlarına göre GSH aktivitesi bakımından gruplar arasında istatistiki olarak anlamlılık tespit edildi (p=0,026). Grupların ikili karşılaştırılması ve P değerleri Çizelge

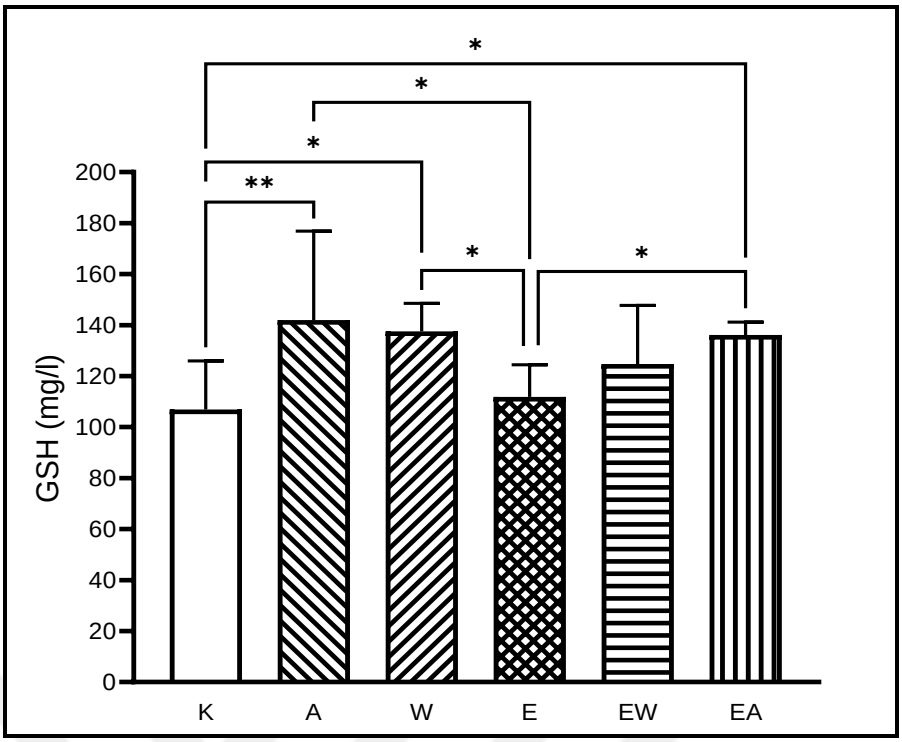
4.12’de belirtildiği üzere, apilarnil uygulanan grup diğer tüm gruplara kıyasla daha yüksek GSH aktivitesine sahipti.

Çizelge 4. 12. GSH aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri.

GRUPLAR		P
Kontrol	Apilarnil	,006[b]
	Whey	,018[a]
	Egzersiz	,673
	Egzersiz+Whey	,137
	Egzersiz+Apilarnil	,018[a]
Apilarnil	Whey	,724
	Egzersiz	,016[a]
	Egzersiz+Whey	,152
	Egzersiz+Apilarnil	,625
Whey	Egzersiz	,045[a]
	Egzersiz+Whey	,305
	Egzersiz+Apilarnil	,909
Egzersiz	Egzersiz+Whey	,280
	Egzersiz+Apilarnil	,047[a]
Egzersiz+Whey	Egzersiz+Apilarnil	,338

a: p<0,05; b: p<0,01

GSH aktivitesi ölçümlerinin istatistiki sonuçlarında, kontrol grubuna göre apilarnil (p=0.006) ve whey (p=0.018) gruplarında önemli düzeyde farklılık mevcuttu. Ayrıca akut egzersiz yaptırılan gruba karşı egzersiz+apilarnil grubu anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.047) (Şekil 4.7).



Şekil 4. 6. GSH aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri.

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6). One-Way ANOVA Analizi. *p<0,05; **P<0,01.

4.4.3. Grupların Serum CK ve LDH Aktivitesi Sonuçları

Tüm grupların plazma CK ve LDH aktiviteleri ölçümü sonucu grup dağılımları normal bulundu. Deney gruplarının ortalama CK aktivitesi ölçüm sonuçları Çizelge 4.13'te özetlendi.

Çizelge 4. 13. Grupların CK aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri.

Grup	N	Ortalamalar (ng/ml)	Std. Sap.	Min.	Maks.
Kontrol	6	8,25	1,30	6,73	10,22
Apilarnil	6	8,84	1,69	6,80	11,61
Whey	6	9,55	0,67	8,87	10,48
Egzersiz	6	10,43	1,16	9,13	12,05
Egzersiz+Whey	6	7,81	0,71	6,80	8,77
Egzersiz+Apilarnil	6	8,66	0,52	8,11	9,39

N: Hayvan sayısı, Std. Sap.: Standart sapma, Min.: En küçük değer, Maks.: En büyük değer.

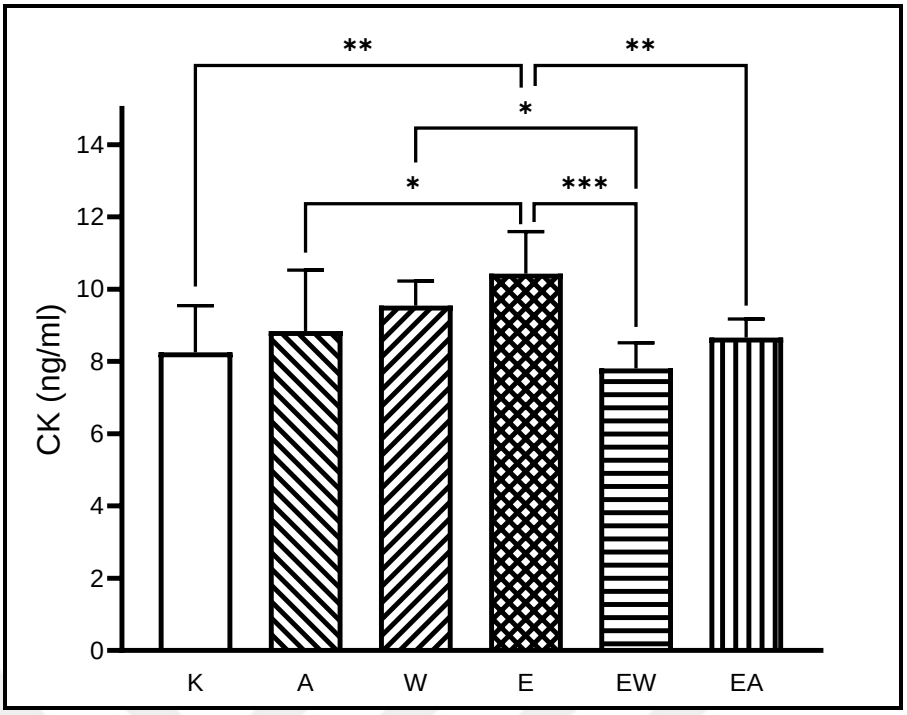
ANOVA sonuçlarına göre CK aktivitesi bakımından gruplar arasında önemli düzeyde farklılık bulundu (p=0,005). Grupların ikili karşılaştırılması sonucu bulunan anlamlılık değerleri Çizelge 4.14'te mevcuttur.

Çizelge 4. 14. CK aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri.

GRUPLAR		**P**
Kontrol	Apilarnil	*,363*
	Whey	*,061*
	Egzersiz	*,002*[b]
	Egzersiz+Whey	*,489*
	Egzersiz+Apilarnil	*,527*
Apilarnil	Whey	*,295*
	Egzersiz	*,018*[a]
	Egzersiz+Whey	*,115*
	Egzersiz+Apilarnil	*,779*
Whey	Egzersiz	*,195*
	Egzersiz+Whey	*,014*[a]
	Egzersiz+Apilarnil	*,192*
Egzersiz	Egzersiz+Whey	*,000*[c]
	Egzersiz+Apilarnil	*,009*[b]
Egzersiz+Whey	Egzersiz+Apilarnil	*,190*

a: p<0,05; b: p<0,01; c: p<0,001

Akut egzersiz yaptırılan sıçanların plazma CK aktivitelerinin kontrole göre anlamlı olarak arttığı gözlendi (p=0.002). Ayrıca egzersiz grubuna karşı, egzersiz yaptırılan ve apilarnil (p=0.009) ile whey proteini (p<0.001) uygulanan gruplarda anlamlı olarak azalma belirlendi. Yalnızca whey proteini uygulanan grup, egzersiz yaptırılıp whey proteini uygulanan gruba göre önemli düzeyde artış gösterdi (p=0.014) (Şekil 4.8).



Şekil 4. 7. CK aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri.

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6). One-Way ANOVA Analizi. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001.

Her bir grubun ortalama LDH aktivitesi ölçüm sonuçları ±standart sapma ile belirlendi (Çizelge 4.15).

Çizelge 4. 15. Grupların LDH aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri.

Grup	**N**	**Ortalamalar (u/l)**	**Std. Sap.**	**Min.**	**Maks.**
Kontrol	6	16,98	8,27	10,04	26,75
Apilarnil	6	12,45	1,06	11,67	14,01
Whey	6	31,51	15,24	12,11	49,28
Egzersiz	6	11,79	0,59	10,93	12,20
Egzersiz+Whey	6	14,52	6,87	10,03	24,53
Egzersiz+Apilarnil	6	16,03	6,02	10,76	23,07

N: Hayvan sayısı, Std. Sap.: Standart sapma, Min.: En küçük değer, Maks.: En büyük değer.

Tüm deney gruplarında uygulanan ANOVA testine göre gruplar arası anlamlılık tespit edilip (p=0,027), grupların ikili karşılaştırılması yapılarak p değerleri belirlendi (Çizelge

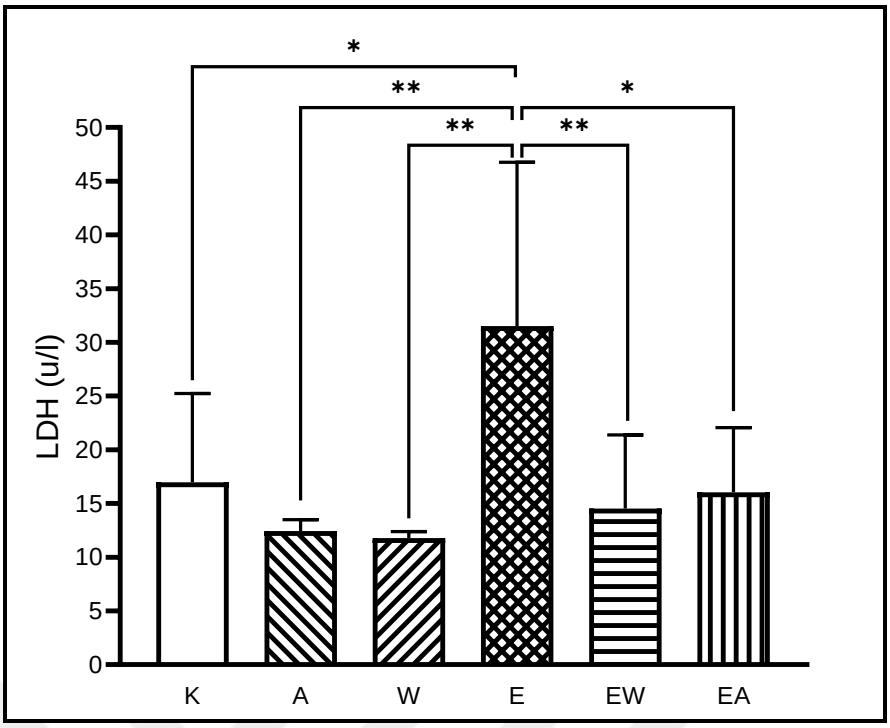
4.16). LDH aktivitesi bakımından akut egzersiz uygulanan grup, diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Çizelge 4. 16. LDH aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri.

GRUPLAR		P
Kontrol	Apilarnil	,435
	Whey	,372
	Egzersiz	,020[a]
	Egzersiz+Whey	,670
	Egzersiz+Apilarnil	,870
Apilarnil	Whey	,909
	Egzersiz	,003[b]
	Egzersiz+Whey	,719
	Egzersiz+Apilarnil	,535
Whey	Egzersiz	,003[b]
	Egzersiz+Whey	,636
	Egzersiz+Apilarnil	,464
Egzersiz	Egzersiz+Whey	,008[b]
	Egzersiz+Apilarnil	,014[a]
Egzersiz+Whey	Egzersiz+Apilarnil	,793

a: p<0,05; b: p<0,01

Deney gruplarının LDH aktivitelerinin ölçümü sonucunda kontrole karşı egzersiz grubunda anlamlı bir artış bulundu (p=0.02). Ayrıca egzersiz yaptırılan sıçanlara karşı, egzersizle birlikte apilarnil (p=0.014) ve whey proteini (p=0.008) ile beslenen gruplarda istatistiksel olarak anlamlılık gözlendi (Şekil 4.9).



Şekil 4. 8. LDH aktivitesi ölçüm değerleri

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6). One-Way ANOVA Analizi. *p<0.05; **p<0.01.

4.4.4. Grupların Serum SIRT1 Aktivitesi Sonuçları

Tüm grupların plazma SIRT1 aktiviteleri ölçümü sonucu grup dağılımları normal bulundu. Tüm deney gruplarının ortalama SIRT1 aktivitesi ölçüm sonuçları Çizelge 4.17'de özetlendi.

Çizelge 4. 17. Grupların SIRT1 aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri.

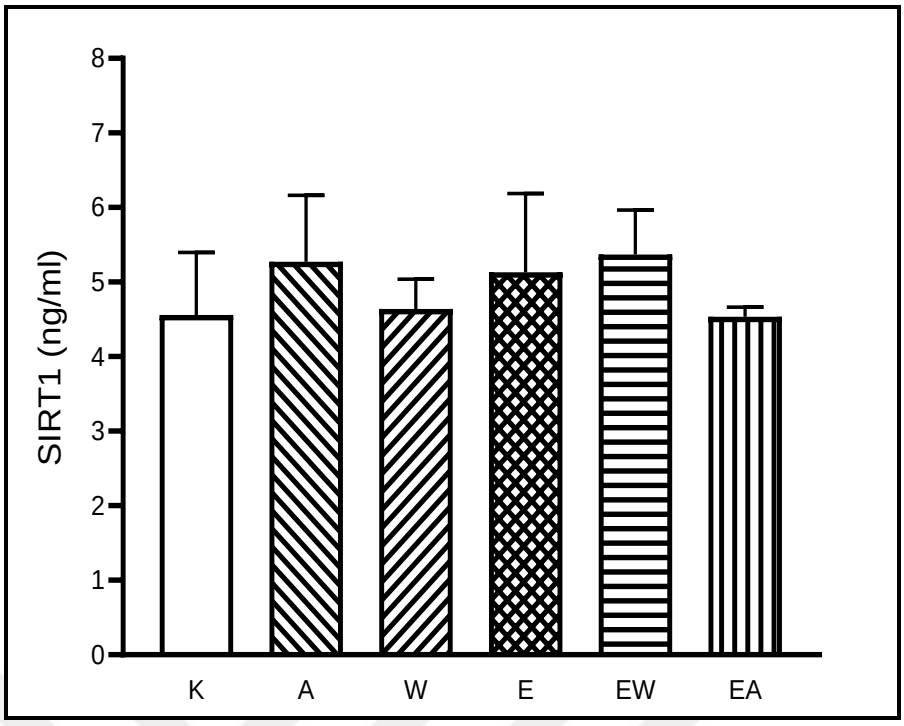
Grup	N	Ortalamalar (ng/ml)	Std. Sap.	Min.	Maks.
Kontrol	6	4,56	0,84	3,50	5,68
Apilarnil	6	5,27	0,89	4,36	6,59
Whey	6	4,64	0,40	4,25	5,20
Egzersiz	6	5,13	1,05	3,88	6,68
Egzersiz+Whey	6	5,48	0,67	4,47	6,13
Egzersiz+Apilarnil	6	4,53	0,13	4,38	4,68

N: Hayvan sayısı, Std. Sap.: Standart sapma, Min.: En küçük değer, Maks.: En büyük değer.

ANOVA sonuçlarına göre SIRT1 aktivitesi bakımından gruplar arasında anlamlılık gözlenmedi (p>0.05) (Çizelge 4.18).

Çizelge 4. 18. SIRT1 aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri.

GRUPLAR		**P**
Kontrol	Apilarnil	,102
	Whey	,852
	Egzersiz	,185
	Egzersiz+Whey	,064
	Egzersiz+Apilarnil	,956
Apilarnil	Whey	,165
	Egzersiz	,743
	Egzersiz+Whey	,818
	Egzersiz+Apilarnil	,092
Whey	Egzersiz	,277
	Egzersiz+Whey	,111
	Egzersiz+Apilarnil	,812
Egzersiz	Egzersiz+Whey	,578
	Egzersiz+Apilarnil	,168
Egzersiz+Whey	Egzersiz+Apilarnil	,058



Şekil 4. 9. SIRT1 aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri.

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6). One-Way ANOVA analizi.

4.4.5. Grupların Serum IL-6 ve IL-10 Aktivitesi Sonuçları

Tüm grupların plazma IL-6 ve IL-10 aktivitelerinin ölçümü için grup dağılımları normal bulundu. Deney gruplarına One-Way ANOVA testi uygulanarak. IL-6 aktivitesinin ortalama değerleri Çizelge 4.19'da özetlendi.

Çizelge 4. 19. Grupların IL-6 aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri.

Grup	N	Ortalamalar (pg/ml)	Std. Sap.	Min.	Maks.
Kontrol	6	85,81	6,60	78,51	93,47
Apilarnil	6	90,20	5,62	84,12	97,72
Whey	6	97,18	8,93	88,23	109,37
Egzersiz	6	91,43	4,39	86,36	97,97
Egzersiz+Whey	6	99,98	8,71	92,72	111,75
Egzersiz+Apilarnil	6	85,57	3,97	79,26	89,10

N: Hayvan sayısı, Std. Sap.: Standart sapma, Min.: En küçük değer, Maks.: En büyük değer.

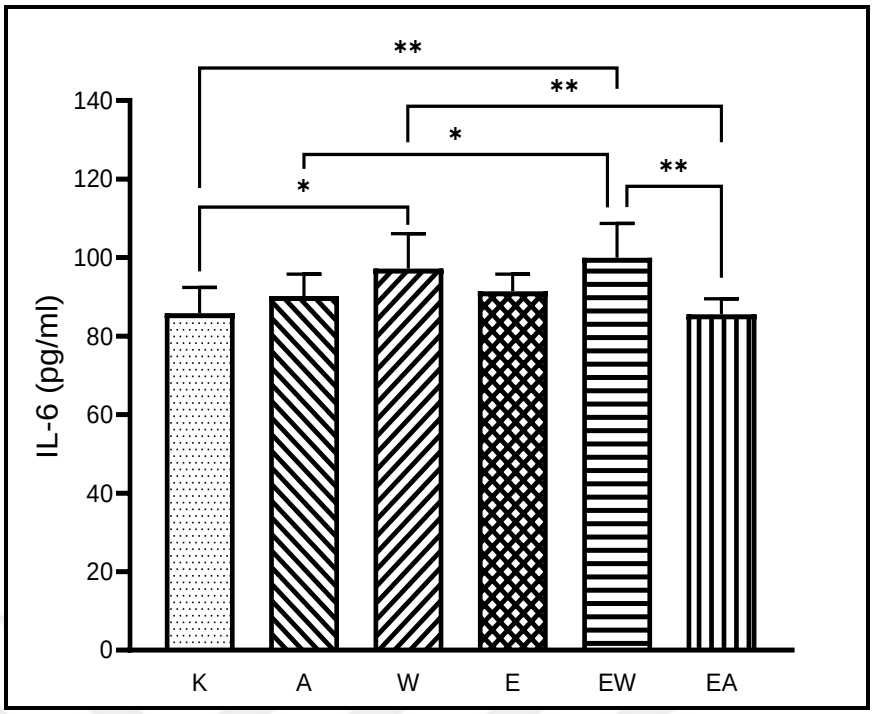
İstatistiksel analiz sonuçlarına göre IL-6 aktivitesi bakımından gruplar arasında anlamlılık tespit edildi (p=0,01). Grupların ikili karşılaştırılmasında egzersiz+apilarnil grubunun, egzersiz+whey grubuna kıyasla daha düşük IL-6 aktivitesine sahip olduğu belirlendi (Çizelge 4.20). Whey proteini grupları apilarnil gruplarına göre IL-6 aktivitesi bakımından daha yüksek bulundu.

Çizelge 4. 20. IL-6 aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri.

GRUPLAR		**P**
Kontrol	Apilarnil	*,325*
	Whey	*,011*[a]
	Egzersiz	*,185*
	Egzersiz+Whey	*,004*[b]
	Egzersiz+Apilarnil	*,951*
Apilarnil	Whey	*,123*
	Egzersiz	*,781*
	Egzersiz+Whey	*,044*[a]
	Egzersiz+Apilarnil	*,282*
Whey	Egzersiz	*,175*
	Egzersiz+Whey	*,528*
	Egzersiz+Apilarnil	*,007*[b]
Egzersiz	Egzersiz+Whey	*,062*
	Egzersiz+Apilarnil	*,151*
Egzersiz+Whey	Egzersiz+Apilarnil	*,002*[b]

a: p<0,05; b: p<0,01

IL-6 aktivitesi için whey proteini grubu kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış gösterdi (p=0.011) (Şekil 4.11). Egzersiz+whey grubunun diğer gruplardan daha yüksek konsantrasyonda olduğu tespit edildi.



Şekil 4. 10. IL-6 aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri.

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6). One-way ANOVA testi. *P<0,05; **p<0,01.

IL-10 aktivitesi ölçümü sonucu, ortalama değerler ±standart sapma ile Çizelge 4.21'de belirtildi.

Çizelge 4. 21. Grupların IL-10 aktivitesi ortalamaları ve standart sapma değerleri.

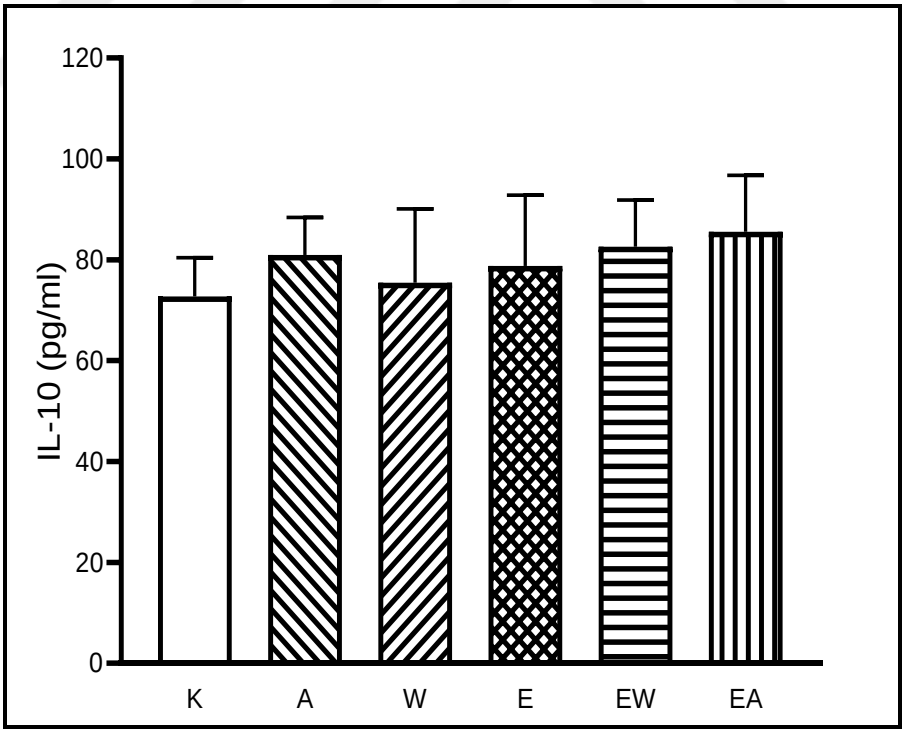
Grup	N	Ortalamalar (pg/ml)	Std. Sap.	Min.	Maks.
Kontrol	6	72,76	7,67	59,72	79,97
Apilarnil	6	80,95	7,43	67,40	87,68
Whey	6	78,76	14,07	55,26	92,08
Egzersiz	6	75,45	14,62	59,72	100,39
Egzersiz+Whey	6	82,57	9,26	67,54	93,01
Egzersiz+Apilarnil	6	85,53	11,20	75,56	104,97

N: Hayvan sayısı, Std. Sap.: Standart sapma, Min.: En küçük değer, Maks.: En büyük değer.

ANOVA sonuçlarına göre IL-10 aktivitesi bakımından gruplar arasında anlamlılık gözlenmedi (p>0.05) (Şekil 4.12). Grupların ikili karşılaştırılması Çizelge 4.22'de gösterildi.

Çizelge 4. 22. IL-10 aktivitesinde gruplar arasında belirlenen P değerleri.

GRUPLAR		P
Kontrol	Apilarnil	*,206*
	Whey	*,374*
	Egzersiz	*,673*
	Egzersiz+Whey	*,132*
	Egzersiz+Apilarnil	*,053*
Apilarnil	Whey	*,743*
	Egzersiz	*,393*
	Egzersiz+Whey	*,799*
	Egzersiz+Apilarnil	*,475*
Whey	Egzersiz	*,623*
	Egzersiz+Whey	*,570*
	Egzersiz+Apilarnil	*,316*
Egzersiz	Egzersiz+Whey	*,270*
	Egzersiz+Apilarnil	*,122*
Egzersiz+Whey	Egzersiz+Apilarnil	*,644*



Şekil 4. 11. IL-10 aktivitesi ölçüm değerleri ve anlamlılık düzeyleri.

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6). One-way ANOVA testi.

4.5. HİSTOLOJİK ANALİZ SONUÇLARI

4.5.1. Gastroknemius Kas Dokusu

H&E boyama metodu uygulanmış gastroknemius kas dokularının longitudinal ve transvers kesitleri alınarak ödem, miyonekroz, immatür kas lifi oluşumu, perifasiküler yağ birikimi ve kronik inflamasyon incelendi. Gastroknemius kas dokularının histolojik hasarları ve rejenerasyon hareketleri değerlendirilerek skorlama yapıldı (Çizelge 4.23). Gastroknemius kas grubunda hemen hemen tüm gruplarda olmak üzere en fazla miyonekroz oluşumu tespit edildi. Bunu sırasıyla immatür kas lifi oluşumu ve ödem oluşumu takip etti. Gruplar arası anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0.05$). Perifasiküler yağ birikimi hafif şekilde gözlendi. Kronik inflamasyon tespit edilemedi.

Çizelge 4. 23. Grupların gastroknemius kaslarındaki H-skorlarının ortalama değerleri.

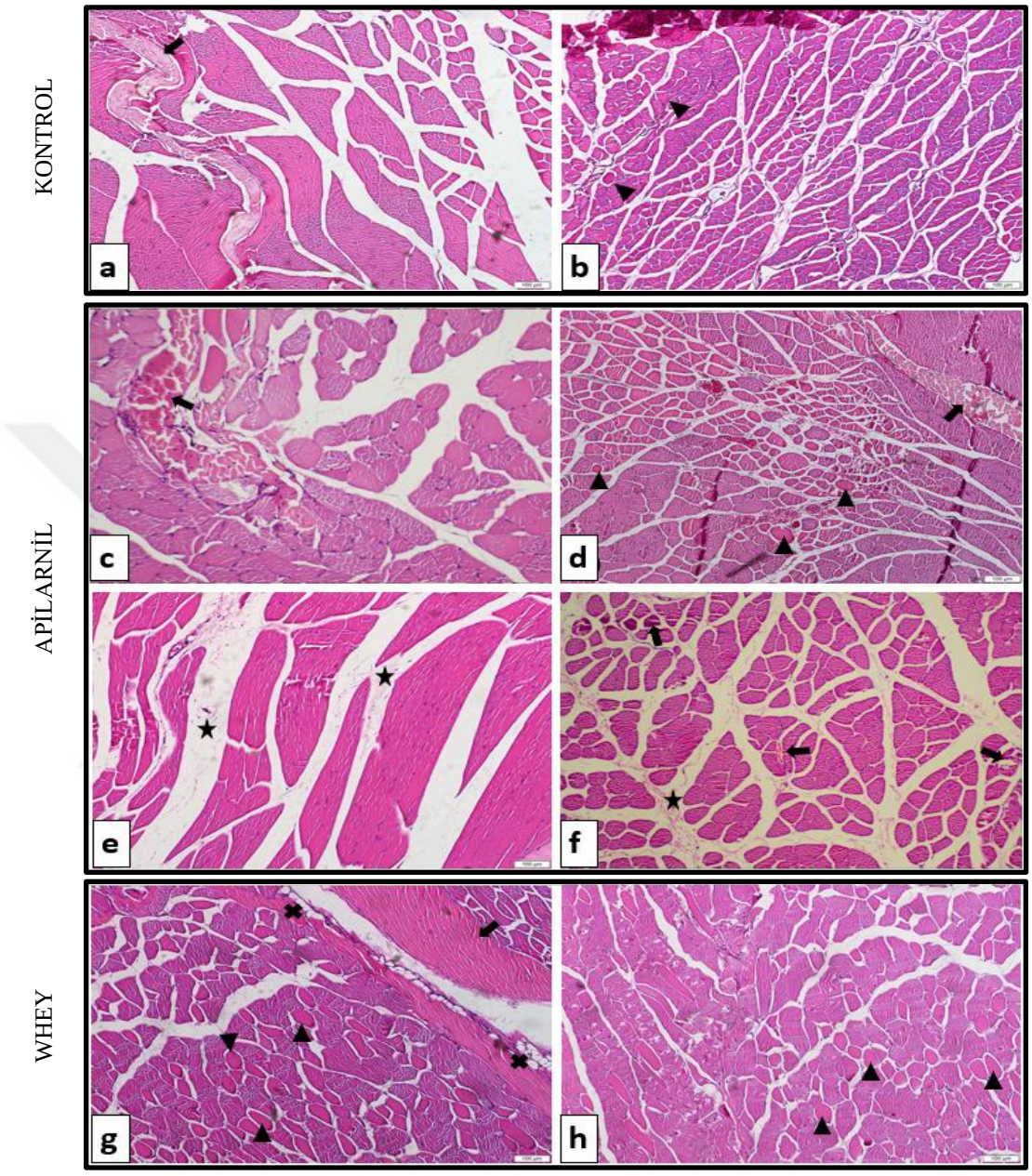
Grup	**Histolojik Değişim**			
	Miyonekroz	Ödem	İmmatür kas lifi	Yağ birikimi
Kontrol	1,00±,63	,17±,41	,50±,55	,00±,00
Apilarnil	1,17±,41	,50±,55	,50±,55	,00±,00
Whey	,80±,45	,20±,45	,40±,55	,20±,45
Egzersiz	1,00±,63	,00±,00	,50±,55	,00±,00
Egzersiz+Whey	1,33±,52	,00±,00	,67±,82	,00±,00
Egzersiz+Apilarnil	1,17±,41	,50±,55	,33±,52	,00±,00

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6).

Kontrol grubu gastroknemius kas dokularının longitudinal ve transvers kesitlerinde çoğunlukla miyonekroz izlendi (Şekil 4.13-a). Kontrol grubu için gastroknemius kas dokusunda miyonekroz başta olmak üzere immatür kas lifi oluşumu da gözlendi (Şekil 4.13-b). Apilarnil grubunda orta şiddette miyonekroz oluşumu ve bazı bölgelerde rejenerasyon cevabını temsil eden küçük çaplı merkezi çekirdekli immatür kas liflerinin oluşumu tespit edildi (Şekil4.13-d). Ödem oluşumunun apilarnil grubunda diğer gruplara kıyasla daha yüksek H-skoruna sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.13-e,f).

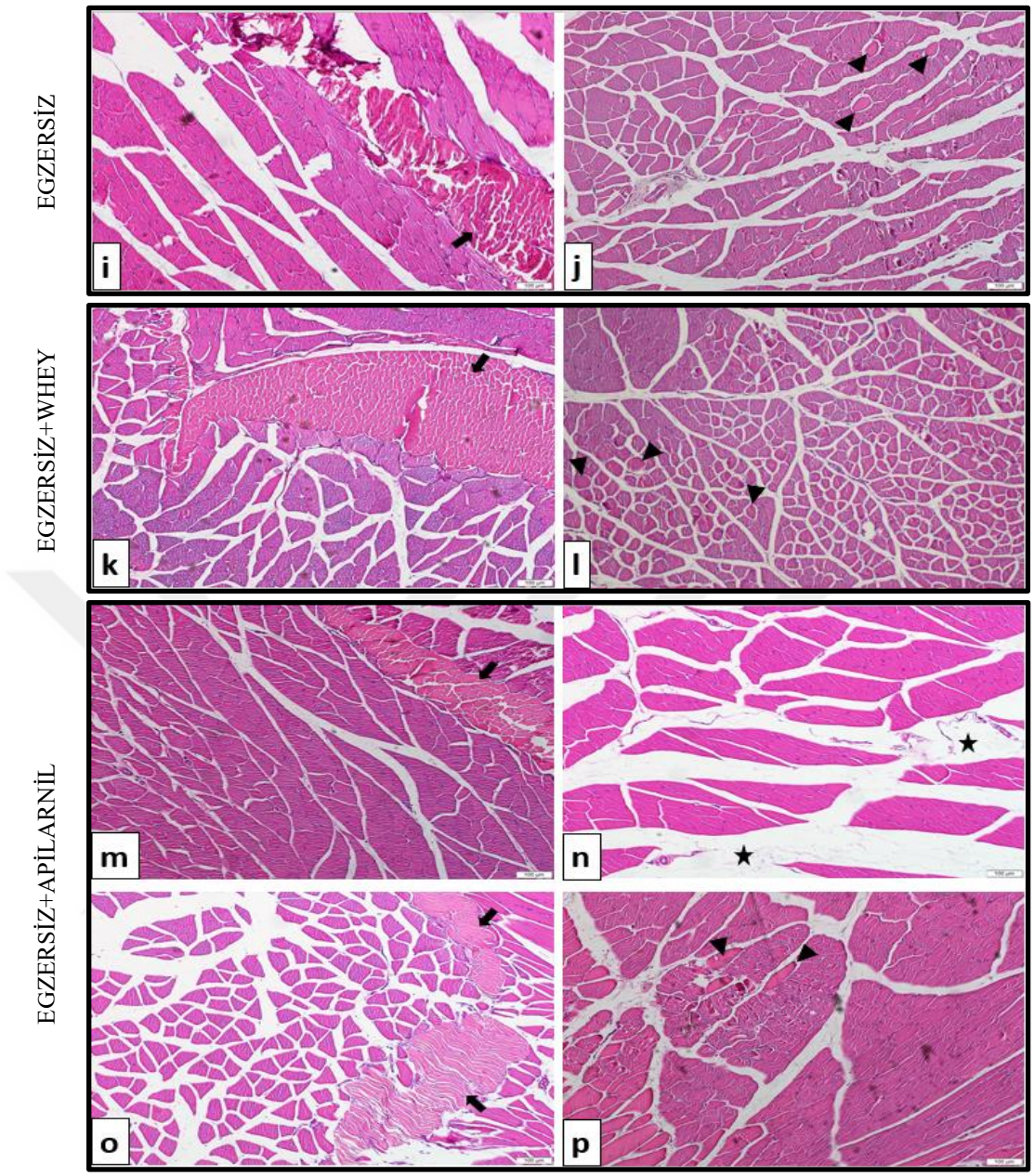
Whey proteini grubunda gastroknemius kas dokusunun bazı bölgelerinde miyonekroz, hafif immatür kas lifi oluşumu, ödem ve perifasiküler yağ birikimi tespit edildi (Şekil 4.13-g). Egzersiz ve egzersiz+whey gruplarının özellikle transvers kesitlerinde benzer miyonekroz oluşumu ve bazı bölgelerde çok yoğun olmayan immatür kas lifi oluşumu

gözlendi. Egzersiz+apilarnil grubunda egzersiz+whey grubundan farklı olarak yüksek oranda ödem oluşumu gözlendi (Şekil 4.13-n).



Şekil 4. 12. Tüm grupların gastroknemius kas dokusunda gözlenen histolojik değişimler.

a) K grubu, miyonekroz, (H&E), X10, b) K grubu, immatür kas lifi, (H&E), X10, c) A grubu, miyonekroz, (H&E), X40, d) A grubu miyonekroz ve immatür kas lifi, (H&E), X10, e) A grubu, ödem, (H&E), X10, f) A grubu, miyonekroz ve ödem, (H&E), X10, g) W grubu, miyonekroz, immatür kas lifi ve perifasiküler yağ birikimi, (H&E), X10, h) W grubu, immatür kas lifi, (H&E), X10.



➡: miyonekroz, ►: immatür kas lifi, ★: ödem, ✖: perifasiküler yağ birikimi

Şekil 4. 13. (devamı) Tüm grupların gastroknemius kas dokusunda gözlenen histolojik değişimler.

i) E grubu miyonekroz, (H&E), X10, j) E grubu, immatür kas lifi, (H&E), X10, k) EW grubu, miyonekroz, (H&E), X10, l) EW grubu, immatür kas lifi, (H&E), X10, m) EA grubu, miyonekroz, (H&E), X10, n) EA grubu, ödem, (H&E), X10, o) EA grubu, miyonekroz, (H&E), X10, p) EA grubu, immatür kas lifi, (H&E), X10.

4.5.2. Biseps Kas Dokusu

H&E boyama metodu uygulanan biseps kas dokularının longitudinal ve transvers kesitlerinde ödem, miyonekroz, immatür kas lifi oluşumu ve perifasiküler yağ birikimi ile kronik inflamasyon incelenerek biseps kas dokularının histolojik değişimleri değerlendirilip H-skorlaması yapıldı (Çizelge 4.24). Biseps kas dokusunda gastroknemius kas dokusuna benzer şekilde tüm gruplarda en fazla miyonekroz oluşumu gözlendi. İmmatür kas lifi, ödem ve perifasiküler yağ birikiminin de görüldüğü biseps kas dokularında histolojik değişimler, gastroknemius kas dokusuna göre daha düşük düzeydeydi. Gruplar arası önemli düzeyde bir farklılık bulunamadı. Biseps kas dokularında kronik inflamasyon tespit edilmedi.

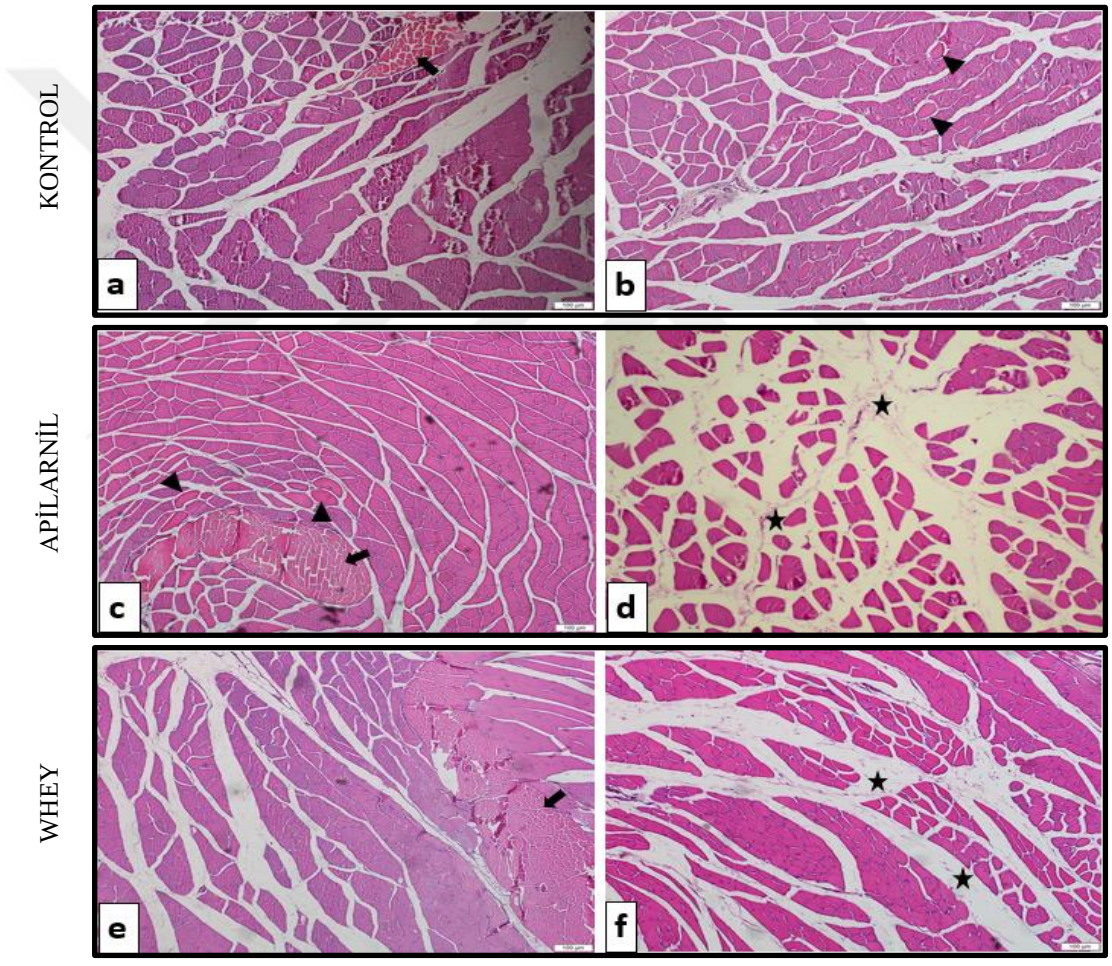
Çizelge 4. 24. Grupların biseps kaslarındaki H-skorlarının ortalama değerleri.

Grup	**Histolojik Değişim**			
	Miyonekroz	Ödem	İmmatür kas lifi	Yağ birikimi
Kontrol	,67±,82	,00±,00	,17±,41	,00±,00
Apilarnil	,83±,41	,50±,55	,67±,82	,00±,00
Whey	,40±,55	,40±,55	,20±,45	,00±,00
Egzersiz	,83±,41	,00±,00	,17±,41	,00±,00
Egzersiz+Whey	1,00±,63	,17±,41	,00±,00	,17±,41
Egzersiz+Apilarnil	,50±,55	,67±,52	,50±,55	,17±,41

K: Kontrol (n=6), A: Apilarnil (n=6), W: Whey (n=6), E: Egzersiz (n=6), EW: Egzersiz+Whey (n=6), EA: Egzersiz+Apilarnil (n=6).

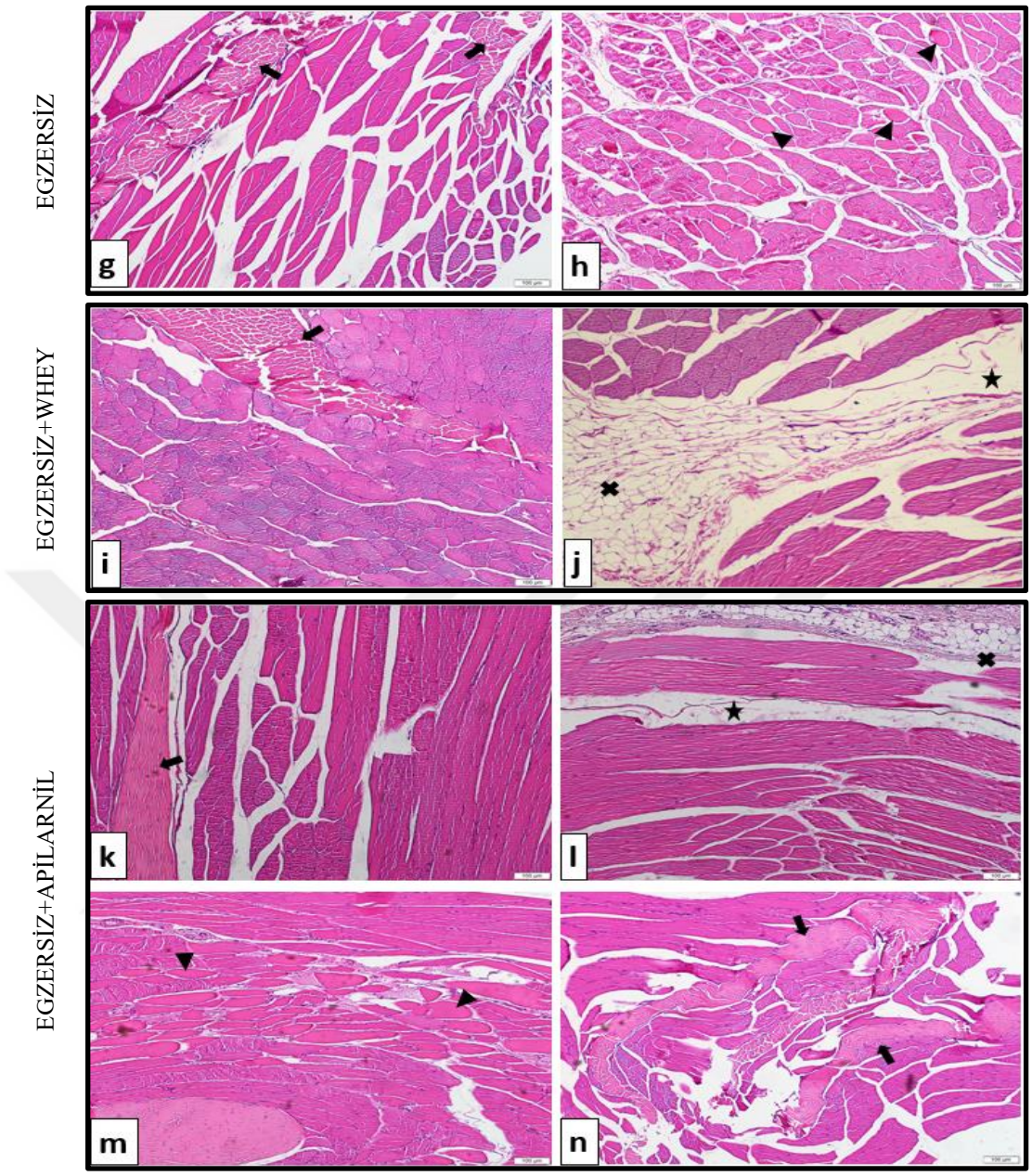
Kontrol grubunun biseps kas dokularında, gastroknemius kas doku grubuna benzer şekilde miyonekroz ve çok yoğun olmayan immatür kas lifi oluşumu tespit edildi (Şekil 4.14-a,b). Apilarnil grubu biseps kas dokularında da kontrol grubuna benzer şekilde miyonekroz oluşumu gözlendi (Şekil 4.14-c). Bunun yanı sıra kas dokusunun transvers kesitlerinde immatür kas lifleri mevcuttu (Şekil 4.25-a). Biseps kas dokusunda ödem, apilarnil grubunda yüksek oranda bulundu (Şekil 4.14-d). Ancak istatistiki olarak anlamlılık belirlenmedi. Biseps kas dokularının longitudinal ve transvers kesitlerinin whey proteini grubunda genel olarak normal histolojik yapıda olduğu belirlendi. Whey proteini grubunda miyonekroz oluşumu, ayrıca longitudinal kesitlerinde çok yoğun olmamakla birlikte ödem oluşumu izlendi (Şekil 4.14-e,f). Whey proteini grubunda miyonekroz oluşumu, diğer gruplara kıyasla daha düşük düzeyde bulundu. İstatistiki olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$).

Egzersiz grubunun biseps kas dokularında miyonekroz oluşumu ve hafif immatür kas lifi oluşumu gözlendi (Şekil 4.14-g,h). Egzersiz+whey grubunda, egzersiz grubuna benzer şekilde biseps kas dokularının longitudinal kesitlerinde miyonekroz tespit edildi (Şekil 4.14-i). Bununla beraber hafif yağ birikimi ve hafif ödem oluşumu görüldü (Şekil 4.14-j). Egzersiz+apilarnil grubunda ise diğer gruplara benzer şekilde miyonekroz oluşumu mevcuttu (Şekil 4.14-k,n). Ayrıca bu grubun biseps kas dokularında, gastroknemius kas dokularına benzer şekilde ödem oluşumu öne çıktı (Şekil 4.14-l). Bunun yanı sıra rejenerasyonu temsil eden immatür kas lifi oluşumları ve çok hafif şiddette perifasiküler yağ birikimi gözlendi (Şekil 4.14-l,m).



➡: miyonekroz, ►: immatür kas lifi, ★: ödem, ✖: perifasiküler yağ birikimi

Şekil 4.13. Tüm grupların biseps kas dokusunda gözlenen histolojik değişimler.
a) K grubu, miyonekroz, (H&E), X10, b) K grubu, immatür kas lifi, (H&E), X10, c) A grubu, miyonekroz ve immatür kas lifi, (H&E), X10, d) A grubu, ödem, (H&E), X20, e) W grubu, miyonekroz, (H&E), X10, f) W grubu, ödem, (H&E), X10.



➡: miyonekroz, ►: immatür kas lifi, ★: ödem, ✖: perifasiküler yağ birikimi

Şekil 4. 13. (devamı) Tüm grupların biseps kas dokusunda gözlenen histolojik değişimler.

g) E grubu, miyonekroz, (H&E), X10, h) E grubu, miyonekroz ve immatür kas lifi, (H&E), X10, i) EW grubu, miyonekroz, (H&E), X10, j) EW grubu, perifasiküler yağ birikimi ve ödem, (H&E), X10, k) EA grubu, miyonekroz, (H&E), X10, l) EA grubu, ödem, (H&E), X10, m) EA grubu, immatür kas lifi, (H&E), X10, n) EA grubu, miyonekroz, (H&E), X10.

5. TARTIŞMA

Günümüzde arı ürünlerinin bileşimi üzerine yapılan çalışmalar hızlanmasına rağmen, bu ürünlerin *in vivo* etkilerine dair kanıtlar açısından eksiklik söz konusudur. Erkek arı larvası yani apilarnil, zengin içeriği ve bugüne dek yapılan çalışmaların olumlu sonuçları nedeniyle terapötik ve destekleyici gıda olma yolunda umut vadetmektedir. Yaptığımız çalışmada apilarnilin, zengin protein, aminoasit, vitamin ve mineral içeriği sebebiyle kas hasarı ve kas onarımı üzerindeki etkisi ile antioksidatif potansiyeli incelenmiştir.

Serbest radikaller dış orbitalinde paylaşılmamış elektron taşıyan atom ve moleküllerdir. Bu moleküller, kararsız yapıda olduklarından dolayı hücresel fonksiyonları bozarak oksidatif strese yol açabilen reaktif oksijen türleridir. Normalde serbest radikal ve ROS üretimi ile antioksidan kapasite denge halinde bulunur ve organizma bu radikallerden etkilenmez. Ancak birçok sebepten ötürü bu radikallerin oluşum hızı antioksidan savunma sisteminin gücünü aşarsa denge bozularak organizmada zararlı etkiler ortaya çıkar ve hücre hasarı oluşur. Egzersiz durumunda ROS üretimi gerçekleşse de aynı zamanda artış gösteren antioksidan kapasite devreye girerek bunu tolere eder. Ancak bu tolerasyon egzersizin türüne, şiddetine ve süresine göre değişkenlik gösterir [147]. Oksijen tüketim hızının yüksek oranda arttığı egzersizde antioksidan savunma mekanizmaları serbest radikal oluşum hızına ayak uyduramaz ve serbest oksijen radikallerinin üretimi artar. Bu durumda oksidatif stres oluşur [216]. Ayrıca serbest radikaller antioksidan kapasiteyi aşarsa hücrelerin lipid, DNA ve protein bileşiklerine zarar vererek lipid peroksidasyonu olarak bilinen çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı gerçekleşir. Oldukça toksik olan lipid peroksidasyonun sabit bir son ürünü olarak MDA oluşur. Oksidatif hasar üzerine yapılan çok sayıda çalışmada MDA, serbest radikal artışının bir göstergesi olarak incelenir [143], [217]. Egzersiz yapan sporcularda MDA aktivitesi veya seviyesi ölçülerek oksidatif stres oluşumu belirlenmekte ve bu sonuç egzersiz türüne göre değişmektedir. Alessio vd. (1988) sıçanlar üzerinde yaptıkları yüksek ve orta yoğunluklu egzersiz çalışmasında, MDA seviyelerinin yüksek yoğunluklu egzersiz grubunda arttığını göstermiştir [218]. Yaptığımız çalışmanın amaçlarından biri, yoğun akut egzersiz yaptırılan sıçanlarda oluşan oksidatif hasarın derecesini belirlemek ve büyük oranda antioksidan bileşikler içeren apilarnilin bu hasarı önlemedeki başarısını saptamaktır. Bunun için denek gruplarının serum doku homojenatlarında oksidatif stres göstergesi olan MDA aktivitesi ve oksidatif strese karşı

savunma cevabını gösteren SOD, CAT ve GSH enzim aktivite düzeyleri ölçülmüştür. Bu çalışmada akut egzersiz yaptırılan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum MDA aktivitesinin anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir (p=0,017). İnsan ve hayvan çalışmalarından elde edilen sonuçların büyük çoğunluğu akut egzersizde MDA seviyelerinin değişmediği yönündedir [219]–[221]. Bunun aksine, mevcut çalışmada olduğu gibi artan metabolik aktiviteyle beraber MDA aktivitesinin yükseldiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur [222]–[224]. Bu değişken bulgular büyük oranda akut egzersizin uygulanma prosedürüne bağlıdır. Marzatico vd. (1997) sprinterler ve maratonculardaki MDA değerlerinin tek bir akut aerobik egzersiz modeliyle, egzersizden 48 saat sonrasına kadar aşamalı bir artış gösterdiğini bildirmiştir [225]. Mevcut çalışmada oluşturulan akut egzersiz grubunun MDA aktivitesinin kontrole göre artması, uygulanan akut egzersiz modelinin oksidatif stres oluşturduğunu göstermektedir.

Antioksidan etki sağlayan gıda takviyelerinin MDA aktivitesi ve seviyesini azalttığı yönünde kanıtlanmış birçok çalışma vardır. Reddy vd. (1992) akciğer dokusu üzerine yaptıkları çalışmada yorucu egzersizle beraber serbest radikallerin ve lipit peroksidasyonunun uyarıldığını, E vitamini ve selenyum takviyesi ile bunun azaldığını bildirmiştir [226]. Zengin antioksidan içeriği bulunan apilarnilin de MDA aktivitesini azalttığını sunan çalışmalar mevcuttur [196], [199]. LPS ile indüklenen ve bu gruplarda beyin ve karaciğer dokularında MDA düzeylerinin arttığı gözlemlenen sıçanlarda, apilarnil takviyesi sonrası MDA düzeyleri anlamlı olarak azalmıştır [196], [199]. Bunun aksine mevcut çalışmada, akut egzersiz grubuna karşı apilarnil takviyesi yapılan egzersiz grubunun MDA konsantrasyonları değişmemiştir. Çalışmanın bir başka sonucu olarak, whey proteini takviye edilen grupta kontrol grubuna ve apilarnil uygulanan gruba göre MDA konsantrasyonları anlamlı olarak artmıştır ($p<0.01$). Ayrıca akut egzersizle beraber whey proteini uygulanan grup en yüksek MDA konsantrasyonuna sahiptir. Bu veriler çalışmamızın en dikkat çekici sonuçlarından biridir. Bu durum serbest radikaller üzerinden lipid peroksidasyonunu artırma eğiliminin whey proteini uygulanan grupta apilarnile göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. Literatürde whey proteininin oksidatif hasar üzerine etkisini gösteren biyokimyasal parametreleri inceleyen çalışmaların büyük çoğunluğu whey proteininin oksidatif stresi azalttığı yönündedir [96], [227]. Ancak bizim çalışmamız ile paralel olarak sıçanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada 21 gün boyunca uygulanan whey proteininin MDA'yı artırdığını ve oksidatif stresi indüklediği bildirilmiştir [228]. Whey proteininin oksidatif stres üzerine etkilerini

araştıran çalışmalardaki MDA aktivitesi bakımından çelişkili sonuçlar, antioksidan enzimlerin adaptasyonları veya doz-yanıt ilişkisinden kaynaklı olabilmektedir. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, whey proteini ile beslenen grupta 14. günde MDA'da anlamlı bir fark gözlenmezken, 28. günde anlamlı bir azalış olduğu gösterilmiştir [229]. Bu bağlamda whey proteininin uygulanma süresinin de oksidatif stresi etkilediği düşünülmektedir.

Oksidatif stresin yanı sıra antioksidan kapasitenin de kapsamlı ve yoğun egzersizde arttığı bilinmektedir [230]–[232]. Ancak egzersiz çeşitlerine göre değişen bu parametreler için literatürde farklı sonuçlar mevcuttur. Tiidus vd. (1996) yaptıkları çalışmada kısa süreli aerobik egzersiz ile CAT, SOD ve GSH aktivitelerinde bir değişiklik olmadığını kanıtlamıştır [233]. Yapılan bir başka çalışmada sporcularda dayanıklılık antrenmanı sonrası MDA seviyesinin arttığı, ancak GSH seviyesinde anlamlı artış olmadığı gösterilmiştir [234]. Tauler vd. (1999) uzun süreli yorucu egzersizde CAT ve GSH aktivitelerinin arttığını, ancak SOD'un değişmediğini bildirmiştir [235]. Bu bulguların aksine Thirumalai vd. (2011) uzun süreli ve yorucu egzersiz yaptırılan sıçanlarda oksidatif stresin arttığı ve SOD, CAT, GSH aktivitelerinin azaldığını kanıtlamıştır [236]. Yoğun egzersiz sonrası nötrofillerde azalmış antioksidan aktiviteyi gösteren çalışmalar da mevcuttur [237], [238]. Bu düşüşün temel nedeni oksidatif strese sebep olan yüksek yoğunluklu egzersizde antioksidan kapasitenin baskılanmasıdır. Cheeseman ve Slater (1994), yaptıkları çalışmada egzersiz şiddeti ve oksijen tüketim hızının artışıyla antioksidan kapasitenin etkisizleştiğini, SOD ve GSH'nin üretilen ROS ile başa çıkamaması sonucu oksidatif stres ve hücresel hasarın oluştuğunu göstermiştir [104]. Yapılan çalışmalar birlikte ele alındığında antioksidan aktivitenin egzersiz yoğunluğu ile ters orantılı olduğu açıktır. Mevcut çalışmada SOD, CAT ve GSH aktiviteleri için egzersiz grubu kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde değişmemiştir. Uygulanan egzersiz protokolü oksidatif stresi artırmasına rağmen, antioksidan etkiyi değiştirmemiştir. Ayrıca bu egzersiz modelinin, antioksidan kapasiteyi azaltacak yoğunlukta veya sürede olmadığı söylenebilir.

Literatürde antioksidan içerikli takviye gıda alımıyla, egzersizde meydana gelen oksidatif stres riskinin önlenmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Antioksidan takviyelerin kullanımı, egzersizin neden olduğu serbest radikal oluşumuna ve bunların zararlı etkilerine karşı bir koruma sağlar [136], [146], [239], [240]. Bu bağlamda Manna vd. (2004) 4 hafta boyunca yoğun yüzme egzersizi uyguladıkları erkek sıçanların testislerinde kontrol gruplarına

göre MDA seviyelerinde anlamlı bir artış, GSH, GST, CAT ve SOD aktivitelerinde ise anlamlı bir azalma bulmuş, alfa tokoferol süksinat takviyesi verilen gruplarda bu parametreler üzerinden oksidatif stresin engellendiğini göstermişlerdir [241]. Higashida vd. (2011) sıçanlarda oluşturdukları kısa süreli egzersiz modelinde, antioksidan etki sağlayan C ve E vitaminlerinin egzersizin neden olduğu oksidatif strese karşı koruma sağlama potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir [242]. Mevcut çalışmada CAT ve GSH aktivitesi için egzersiz varlığında apilarnil uygulanan grup, egzersiz grubuna karşı anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$). Bunun yanı sıra CAT aktivitesinde, egzersiz varlığında whey proteini uygulanan grup egzersiz grubuna göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aynı grup için GSH aktivitesinde de artış söz konusudur, fakat anlamlılık yoktur ($p>0.05$). SOD aktivitesinde egzersizle beraber uygulanan apilarnil ve whey proteini gruplarının her ikisinde de artış olmasına rağmen anlamlı düzeyde değildir ($p>0.05$). Bu sonuçlarda, her iki takviye grubunun da egzersiz varlığında antioksidan etkiyi CAT üzerinden sağladığı gözlenmiştir. Ayrıca egzersizde artan MDA konsantrasyonları ile lipid peroksidasyonunun oluştuğu ve iyon dengesinin değişerek hücre membranı geçirgenliğinin bozulduğu bilinmektedir [243]. Bu durumda SOD yetersizliği ile süperoksit radikallerinin yeterince temizlenememesi ve bu radikallerin aşırı birikiminin hidrojen peroksit oluşumuna veya NO ile tepkimesi sonucu peroksinitrit oluşumuna yol açması mümkündür. CAT, SOD'un yetersiz kaldığı ve hidrojen peroksitin arttığı durumlarda devreye girerek enzimatik bir antioksidan savunma sistemi oluşturup, akut egzersizde artan MDA'yı baskılamak için hücresel dengeyi devam ettirmeye çalışır. Ayrıca egzersiz varlığında whey grubunun aksine apilarnil uygulanan grupta, CAT'a ek olarak GSH üzerinden de antioksidan savunma sisteminin devreye girdiği gözlenmiştir. GSH da CAT gibi hidrojen peroksit yıkımından sorumlu bir enzim olup, enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemi oluşturur [244].

Son yıllarda whey proteininin antioksidan özelliklere sahip olabileceğini gösteren çalışmalar hızla artmaktadır. Whey proteini, içerdiği sistein amino asidi ile güçlü bir antioksidan olan GSH üzerinde etkilidir ve antioksidatif etkileri bu sayede gerçekleşir [245], [246]. Yapılan bir *in vitro* çalışmada whey proteininin GSH'ın yanı sıra CAT aktivitesini de artırdığı bildirilmiştir [247]. Bu bulguyu destekler nitelikte mevcut çalışmada da whey grubunda kontrole karşı GSH ve CAT aktivitelerinde artış söz konusudur. Egzersizden bağımsız olarak apilarnil uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre, whey proteinine benzer şekilde CAT ve GSH aktivitelerinde (sırasıyla $p=0,012$;

p=0,006) önemli düzeyde artış mevcuttur. Yapılan bir çalışmada apilarnilin, sıçanların karaciğerinde uygulanan biyokimyasal analizler sonucu, antioksidatif parametreleri artırarak oksidatif stresi önleme kapasitesine sahip olduğu bildirilmiştir [196]. Tez verilerinde apilarnilin antioksidan etkiyi artırması, bu sonuçları destekler niteliktedir. Verilerimiz, zengin içerikli bir gıda takviyesi olan apilarnilin hidrojen peroksitin temizlenmesine aracılık eden antioksidatif etkisini doğrulamaktadır.

Alışılmamış, özellikle kasın uzadığı eksantrik egzersiz ve yoğun akut egzersiz sonrası kas membranının yapısında bozulma meydana geldiği bilinmektedir [248], [249]. Hasar görmüş kas lifleri, protein sentezi ve yıkımı arasında karmaşık bir reaksiyon başlatarak etkileşim oluşturur. Bu etkileşimde protein döngüsü giderek hızlanır ve protein yıkımı, sentezini geçerek proteinlerin parçalanmasına ve atrofiye yol açar [250]. Bu durum da kas hasarına, kas gücünde azalmaya, ağrıya ve kas fonksiyonlarında bozulmaya neden olur. Kas hasarı oluştuğunda başta CK olmak üzere bazı enzimler serbest hale geçer. Plazma CK seviyeleri kas hasarı boyutunun bir göstergesidir. Rokitzki vd. (1994) sporcularda dayanıklılık antrenmanı sonrası CK konsantrasyonunda artış olduğunu, antioksidan takviye verilen gruplarda ise düşüşe geçtiğini göstermiştir [234]. LDH, CK gibi kas enerji metabolizmasında rol oynayan ve iskelet kası hücre hasarı belirteci olarak kullanılan önemli bir enzimdir [251]. Viña vd. (2000) hem sıçanlar hem de insanlar üzerinde yaptıkları çalışmada yorucu egzersiz sonrası CK ve LDH'ın plazma aktivitelerinde artış olduğunu kanıtlamıştır [252]. Malaguti vd. (2009) sıçanlarda oluşturdukları akut egzersiz modeli sonrası LDH ve CK aktivitelerinin arttığını, bir antioksidan olan sülforafan verilen gruplarda ise bu aktivitelerin azaldığını bildirmiştir [253]. Mevcut çalışmada egzersiz grubunda serum CK ve LDH aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükselmesi, uyguladığımız akut egzersiz protokolünün sıçanlarda kas hasarı oluşturduğunu göstermektedir. Egzersizle oluşan kas hasarından sonraki 48 saat içinde protein yıkımıyla beraber sentezi de artarak, kas kendini onarmaya başlar [89], [90]. Bu tez çalışmasında apilarnilin kas hasarı üzerindeki etkisini anlamak adına, sıçanlara uygulanan egzersiz protokolü ve besin takviyesinden yarım saat sonra sakrifikasyon gerçekleştirilmiştir. Egzersizin ardından apilarnil ile beslenen grupta CK ($p<0.01$) aktivitesinde ve LDH ($p<0.05$) aktivitesinde anlamlı bir azalma vardır. Mevcut çalışma ile benzer olarak Yokoyama vd. (2021) yaptıkları çalışmada arı larvasından elde edilen protein ile beslenen grupta kas hasarı ve kasta kütle kaybı yaşanmadığını, ayrıca kas yıkım belirteci olan 3-metil histidinin azaldığını bildirmiştir [8]. Yakın zamanda

Kogalniceanu vd. (2020) apilarnili aslavital ile karşılaştırdıkları bir çalışmada, akut yüzme egzersizi uygulanan sıçanlara verilen apilarnilin enerji metabolizmasında oksidatif süreçleri uyarabildiğini, yoğun katabolik etkiye sahip güçlü bir enerji verici olarak kullanılabileceğini, egzersiz performansını artırmada ve yorgunluğu önlemede etkili olduğunu kanıtlamıştır [7].

Mevcut çalışmada egzersizden yarım saat sonra whey proteini ile beslenen grupta, egzersiz grubuna göre CK ($p<0.001$) ve LDH ($p<0.01$) aktivitelerinde anlamlı bir düşüş söz konusudur. Literatürde whey proteini takviyesinin dinlenme durumu ve egzersiz öncesi/sonrası durumu üzerine yapılan pek çok farklı çalışma mevcut olup, bu çalışmalarda whey proteini tüketimi kas hasarı ve onarımı, kas gücü, egzersiz performansı, vücut kompozisyonu gibi çeşitli parametrelerle ilişkilendirilmiştir. Yapılan bir çalışmada whey proteini takviyesinin, direnç egzersizi yaptırılan sıçanlarda başta GSH olmak üzere antioksidan enzimlerin gen ekspresyonunun artışı ve egzersizle uyarılan oksidatif etkilerin inhibisyonu yoluyla kas ağırlığı artışını sağladığı kanıtlanmıştır [254]. Bir diğer klinik çalışmada, whey proteini takviyesinin yüksek yoğunluklu eksantrik egzersiz sonrasında iskelet kası uydu hücrelerinin proliferasyonunu hızlandırarak, yenilenme veya yeniden yapılanma sürecini sağladığı gösterilmiştir [255]. Mevcut çalışmadaki bulgular bu çalışmaları destekler niteliktedir. Her iki protein takviyesinin de CK ve LDH parametreleri bakımından akut egzersiz kaynaklı kas hasarı onarımı üzerine benzer etkileri söz konusudur. Whey proteininin başta glutamik asit, lösin, aspartik asit ve lizin olmak üzere neredeyse tüm amino asitleri barındırdığı, total protein değerinin apilarnil ile benzer olduğu bilinmektedir. İçeriklerinin yakın olması, kas hasarı onarımı üzerindeki benzer etkilerini açıklayabilir.

Egzersizle uyarılan iskelet kasında SIRT1 artışı ile PGC-1α deasetilasyonu ve bunun sonucunda AMPK aktivasyonun artışı, mitokondriyal biyogenezin ve iskelet kaslarının biyofizyolojik fonksiyonlarının düzenlenmesini sağlar [256]. Ayrıca yoğun egzersizin antioksidan kapasiteyle ilişkili olarak PGC-1α aktivasyonunu artırdığı, bu artışın SIRT1 ekspresyonu ile düzenlendiği bilinmektedir [238]. Egzersizde bu artış oksidatif fenotip ve kas mitokondri içeriğindeki değişiklikler açısından önemlidir [257]. Akut egzersiz sonrası, egzersiz performansı ve iskelet kası hasarının onarımı kapsamında SIRT1 proteinlerinin ekspresyonu önemli rol oynar. Akut egzersizin SIRT1 aktivasyonunu artırdığı, PGCl-α aktivasyonunu SIRT1 üzerinden sağladığı bilinmektedir [40], [86], [258]. Çeşitli çalışmalar akut ve uzun süreli egzersize yanıt olarak iskelet kasında SIRT1

ekspresyonunun arttığını gösterse de bazı çalışmalar herhangi bir değişiklik olmadığı yönündedir [259]. Mevcut çalışmada da kontrol grubuna göre egzersiz grubunda SIRT1 protein aktivasyonunda artış gözlenmesine rağmen bu artış anlamlı değildir ($p>0.05$).

Antioksidan takviyeler SIRT1 aktivasyonunu veya SIRT1 geni ekspresyon seviyelerini artırarak egzersiz performansını düzenler. Hart vd. (2013) sıçanlarda oluşturdukları egzersiz modelinde resveratrol takviyesinin SIRT1 proteinleri üzerinden AMPK aracılı PGC-1α aktivasyonunu gerçekleştirdiğini, bu sinyal yolağı ile egzersiz performansını artırdığını kanıtlamıştır [84]. Yokoyama vd. (2021) egzersizden bağımsız, fareler üzerinde yaptıkları çalışmada arı larvasından türetilen protein ile beslenen grupta kazeinle beslenen gruba göre SIRT1'in daha yüksek ekspresyon seviyelerinde olduğunu göstermiştir [8]. Ayrıca SIRT1 artışının PGC-1α ile düzenlendiği bildirilmiştir [8]. Yapılan farklı bir çalışmada, koşu yaptırılan ve whey proteini takviyesi verilen sıçanlarda SIRT1 ve SIRT3 ekspresyonunun kontrollere göre artış gösterdiği bildirilmiştir [260]. Bu çalışmanın aksine mevcut tez çalışmasında da apilarnil ve whey proteini takviyesi alan gruplarda SIRT1 aktivitesinde anlamlı bir artış bulunmamıştır ($p>0.05$). Bu bulgulara göre apilarnil ve whey proteininin kas hasarını onarma mekanizması SIRT1 proteinleri üzerinden etkili olmamaktadır. Literatürle çelişkili olarak bulunan bu sonucun sebebi, doz farklılığı ve besleme sürelerinin farkıyla ilişkili olabilir. Mevcut çalışmada apilarnil ve whey proteini ile besleme süresi, diğer çalışmalara göre daha düşük tutulmuştur. Kas hasarı onarımı gözlense de onarımın bu sürede SIRT1 sinyal yolağı üzerinden bir etkisi olduğu belirlenmemiştir.

Gruplar arasında IL-6 ve IL-10 açısından akut egzersizde kontrole göre hafif artış olmasına rağmen önemli düzeyde bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Önceki çalışmalara göre, bu çalışmada gözlenen egzersiz gruplarında oluşan inflamatuar sitokin konsantrasyonları daha düşüktür. İnflamatuar belirteçlerde anlamlılık olmaması, uygulanan akut egzersizin yarattığı kas hasarında inflamasyonun tetiklenmediğini düşündürmektedir [261]. Bu nedenle besin takviyelerinin bu parametreler üzerindeki potansiyel etkileri tespit edilemeyecek kadar küçük olabilir. IL-6 ve IL-10 aktivitelerinin her ikisinde de apilarnil alan gruplar egzersizden bağımsız veya bağımlı anlamlı bir fark mevcut değildir. Yapılan çalışmalarda apilarnil takviyesinin IL-6 aktivitesini azalttığı gösterilmiştir [196]. Ancak apilarnilin IL-10 üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışma bulunmadığından bu bulguların yorumlanması zordur. Mevcut çalışmanın bu sonuçlarından yola çıkarak uygulanan akut egzersizin kasta inflamasyona sebep olmadığı

ve apilarnilin kas hasarını azaltma etkisini antiinflamatuar mekanizma üzerinden gerçekleştirmediği düşünülmektedir. IL-6 aktivitesi, apilarnilin aksine whey proteini alan gruplarda kontrole göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$). Ayrıca egzersiz varlığında whey proteini verilen grup, apilarnil grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksek IL-6 aktivitesine sahiptir ($p<0.01$). Literatürde whey proteinin inflamatuar sitokinler üzerine etkilerine ilişkin çelişkili sonuçlara rastlanmaktadır. Daha önce yapılan kapsamlı klinik bir çalışmada, whey proteininin inflamatuar belirteçler üzerine etkisi incelenmiş ve IL-6 aktivitesini değiştirmediği ortaya konulmuştur [262]. Yapılan bir meta-analizde ise whey proteininin IL-6 aktivitesini azaltarak inflamasyonu düzenleyici bir etki gösterdiği bildirilmiştir [263]. IL-6 ile benzer antiinflamatuar etkiler gösteren interlökin-12 için yapılan bir çalışmada, whey proteininin interlökin-12 seviyelerini artırarak immün sistemi desteklediği bildirilmiştir [264]. Ayrıca bir başka klinik çalışmada direnç egzersizi sonrası takviye edilen whey proteininin IL-10 seviyelerini artırdığı ve inflamatuar süreçlere aracılık etmede rolü olduğu kanıtlanmıştır [265]. İlginçtir ki IL-6 hem pro-inflamatuar hem de antiinflamatuar sitokin olarak işlev görmektedir. IL-6'nın kas hasarı dışında glikojenolizin aktivasyonu yoluyla enerji metabolizmasını düzenleyici etkisi de bulunmaktadır [52]. Önceki çalışmalarda, inflamatuar yanıtın ortaya çıkmasından sonra IL-6 seviyeleri artsa da bunun ROS ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir [266]. Yapılan çalışmalardaki farklı bulgular, kullanılan whey proteinlerinin besin içeriğindeki değişikliklere ve doz farklılıklarına bağlanabilir. Daha güvenilir sonuçlar için inflamatuar hastalıklara odaklanan detaylı tasarımlı gelecekteki araştırmalara ihtiyaç vardır.

Çizelge 5. 1. Biyokimyasal parametrelerde gruplar arası farklılık.

Gruplar	**Parametreler**								
	MDA	SOD	CAT	GSH	CK	LDH	SIRT1	IL-6	IL-10
Kontrol									
Apilarnil			$\uparrow^{a}$	$\uparrow^{a,d}$					
Whey	$\uparrow^{a,b}$		$\uparrow^{a}$	$\uparrow^{a,d}$				$\uparrow^{a}$	
Egzersiz	$\uparrow^{a,b}$				$\uparrow^{a,b}$	$\uparrow^{a,b,c}$			
Egzersiz+Whey	$\uparrow^{a,b}$		$\uparrow^{a,d}$		$\downarrow^{c,d}$	$\downarrow^{d}$		$\uparrow^{a,b}$	
Egzersiz+Apilarnil	$\uparrow^{a,b}$		$\uparrow^{a,d}$	$\uparrow^{a,d}$	$\downarrow^{d}$	$\downarrow^{d}$		$\downarrow^{c,e}$	

a: Kontrol grubuna göre farklı, b: Apilarnil grubuna göre farklı, c: Whey grubuna göre farklı, d: Egzersiz grubuna göre farklı, e: Egzersiz+Whey grubuna göre farklı. Anlamlılık $p<0,05$ değeri baz alınarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada biyokimyasal analizlerden elde edilen bulgular Çizelge 5.1'de özetlenmiştir. Akut egzersizin sebep olduğu kas hasarını apilarnil, whey proteini ile benzer ölçüde azaltmıştır. Whey proteini yalnızca CAT aktivitesini artırırken, apilarnil CAT ve GSH aktivitelerinde önemli düzeyde artış göstermiştir ($p<0.05$). Bu bulgulara göre akut egzersizde apilarnil, kas hasarı onarımını CAT ve GSH aktivitelerini artırmasıyla antioksidan etki sağlayarak ve oksidatif stres oluşumunun önüne geçerek gerçekleştirir. Sporcular arasında yaygın şekilde kullanılan whey proteini, apilarnilin aksine egzersizden bağımsız olarak MDA aktivasyonunda önemli ölçüde artış göstermiştir. Whey proteininde bu artış, apilarnile kıyasla lipit peroksidasyonunu ve oksidatif hasar oluşumunu tetikleyebileceğini göstermektedir. Bu bağlamda antioksidan ajan kullanımı olarak apilarnil, yan etki ve toksik etki bakımından whey proteininden daha güvenilir bir doğal takviye olmaya adaydır. Antiinflamatuar etkisi bulunan ve çeşitli çalışmalarda inflamasyonu önlediği bilinen apilarnilin bu çalışmada IL-10 ve IL-6 parametreleri üzerinde önemli düzeyde bir etki sağlamaması, uygulanan egzersiz modeli, besin takviyelerinin dozları ve besleme süresi ile ilişkilidir. Apilarnilin yanı sıra whey proteininin IL-6 aktivitesinde kontrole göre önemli düzeyde yüksek çıkması IL-6'nın inflamasyon üzerindeki karmaşık sinyal yolakları ilişkili olup, daha net sonuçlar için bu mekanizma ile ilgili daha ayrıntılı analizler yapılması gerekmektedir.

Apilarnil ve whey proteininin kas kütlesi üzerine etkilerini araştırmak amacıyla gastroknemius ve biseps kas ağırlıklarının ölçüldüğü bu çalışmada, apilarnil grubunun gastroknemius kas dokularında kontrole göre önemli düzeyde farklı olduğu saptandı ($p<0.01$). Biseps kas dokusunda anlamlı bir fark olmasa da apilarnil grupları diğer gruplara göre daha yüksek bulundu. Bu veriler, literatürde apilarnil ile ilgili sınırlı çalışmaları destekler niteliktedir. Apilarnilin androjenik aktiviteyi ve testosteronu artırarak iskelet kasında kütle kaybını azalttığı bilinmektedir [183]. Mevcut çalışmanın sonuçları ve literatür birlikte değerlendirildiğinde, apilarnil kullanımına bağlı olarak kas kütlesinin artış göstereceği ve egzersiz performansının destekleneceği söylenebilir. Bu durumda apilarnil, egzersizde kas oluşumunu destekleyen bir doğal ürün olarak sporcularda kullanıma adaydır. Ayrıca çalışmada kullanılan apilarnilin protein değerinin yüksek olması ve daha düşük oranda karbohidrat ve lipit değerine sahip olması, sporda diyeti destekleyen üstün yanları olarak karşımıza çıkmaktadır.

Kas hasarı, kasta meydana gelen morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler incelenerek değerlendirilir. Görüntüleme teknikleri ile kas fibrillerinin histolojik görünümlerindeki

yapısal değişiklikler patolojiyi ve kas hasarını belirlemede kullanılır. Mevcut çalışmada yapılan semikantitatif analizde, her iki kas grubu için de gruplarda inflamasyon tespit edilmemiştir. Histolojik incelemelerde miyonekroz, tüm grupların her iki kas grubunda da gözlenmiştir. Ayrıca diğer parametrelere göre en yüksek skordadır. Deney grupları arasında miyonekroz bakımından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Miyonekroz histolojik olarak şişmiş, eozinofilik ve homojen miyofiberlerle karakterize edilir. Miyonekroza uğrayan lifler çoğunlukla vakuollü olup piknotik çekirdekleri parçalanmış durumdadır [62]. Gruplar arası anlamlı bir fark olmamasıyla beraber whey grubunda diğer gruplara kıyasla daha az gözlenmiştir. Bunun yanı sıra egzersiz gruplarında miyonekroza, diğer gruplara göre daha fazla rastlanmıştır. Bu durum egzersizin yarattığı hafif yaralanma ile ilgilidir. Akut egzersizin iskelet kaslarında miyonekroza öncülük ettiği açıktır. Ancak mevcut çalışmada bu sonuç istatistiki açıdan önemli düzeyde değildir ($p>0.05$). Tüm deney gruplarının iskelet kaslarında oluşan ve birbirine yakın H-skoruna sahip miyonekroz ve dejenerasyon, kontrol grubu da dahil her bir gruptaki sıçanların stresine veya geçmiş yaşantılarındaki travmalarına bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Ödem oluşumu gastroknemius ve biseps kas dokularında gözlenmesine rağmen gruplar arası anlamlılık mevcut değildir ($p>0.05$). Yaygın kas ödemi modeli iskelet kasını etkileyen, bulaşıcı olmayan, immün aracılı bir dizi inflamatuar durumu kapsar. İskelet kasında ödem, histolojik olarak interstisyel dokunun genişlemesiyle tanımlanır. Kas ödemi çok çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir. Kas dokusunda artan sinyal yoğunluğu ile sistemik bağ dokusu bozukluğunun bir parçası olarak ortaya çıkar. Artan sıvı içeriğinin bir sonucu olarak ödemli kasın hacmi artabilir [64]. Mevcut çalışmada bazı gruplarda sıçanların kas dokularında nekrotik fibrilleri çevreleyen ödeme rastlanmıştır. Ancak istatistiki olarak apilarnil ve whey proteini grupları kontrol ve egzersiz grupları ile karşılaştırıldığında ödem oluşumunda farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Histolojik incelemelerde perifasiküler yağ birikimi çok hafif şekilde yalnızca egzersiz gruplarında gözlenmiştir. Deney gruplarının her iki kas grubunda da yok denecek kadar azdır. İskelet kasında yağ birikimi; adipositlerin iskelet kasında birikmesi, yaşlanmayla beraber kas gücü kaybı, azalan insülin duyarlılığı ve artan mortalite ile bağlantılıdır [65]. Direnç egzersiziyle birlikte kasta yağ birikimi azaldığına dair kanıtlar mevcuttur. Mevcut çalışmada yağ birikiminin bazı gruplarda hiç oluşmaması veya çok hafif gözlenmesi, egzersiz modelinin kas dokusunda yağ birikimini tetikleyecek kadar etkili olmamasından kaynaklı veya sıçanların insanlara göre daha dirençli olmalarıyla bağlantılı

olabilir. Ayrıca bu durum, sıçanların akut egzersiz ve besin takviyesinden yarım saat sonra sakrifiye edilmesi ve dokularda yağ birikimi oluşumu için yeterli zaman olmamasından da kaynaklanabilir. Genel olarak iskelet kaslarında hasar durumu incelendiğinde gastroknemius kasının biseps kasından daha fazla dejeneratif görünüme sahip olduğu tespit edilmiştir.

Histolojik incelemelerde kas öncülü hücrelerden oluşan ve rejenerasyon yanıtını temsil eden immatür kas lifleri, küçük boyutlu ve çekirdekli yapıdadır [267]. Yapılan semikantitatif analizde tüm deney grupları arasında immatür kas lifleri açısından önemli düzeyde bir fark belirlenmemiştir ($p>0.05$). Yeni oluşan kas lifleri neredeyse tüm gruplarda rastlanmıştır. Bununla beraber gastroknemius kası için tüm gruplarda izlenen immatür kas lifleri biseps kasına göre daha fazla gözlenmiştir. Gastroknemius kasında tüm gruplarda benzer H-skoru kaydedilmiştir. Biseps kası için ise apilarnil gruplarında ön plana çıkmıştır.

Biyokimyasal analizlerde kas hasarı ve onarımı ile ilgili elde edilen ve istatistiksel olarak anlamlı bulunan sonuçların aksine histolojik analizlerde gruplar arasında farklılık olmaması, çalışmada uygulanan egzersiz modeli, protein takviyelerinin besleme süresi ve dozları, sıçan türünün insanlara göre daha dayanıklı olması ile ilişkilendirilebilir. Bu çalışmada uygulanan akut egzersiz prosedürü ve iki haftalık süre, sıçanlarda hücresel olarak bir etki göstermiş, ancak doku bazında aynı etkiyi göstermemiştir. Akut egzersiz yerine daha uzun sürelerde eksantrik egzersiz uygulanması, histolojik olarak elde edilen sonuçları değiştirebilir. Daha farklı süre ve dozlarda tasarlanan bir deney planında egzersiz grubunda kontrol grubuna göre kronikleşmiş bir hasar gözlenebilir ve besin takviyelerinin iyileştirme şansı daha iyi incelenebilir. Bununla birlikte kas rejenerasyonu için immünohistokimyasal analizlerin yapılması sonuçların daha net olarak ortaya konmasını sağlayabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Apilarnil sağlık, gıda, kozmetik alanlarında kullanılan, sahip olduğu yüksek besin değeri ile gıda takviyesi ve ilaç olarak tasarlanabilme potansiyeli bulunan geleneksel ve tamamlayıcı tıpta yer edinmiş bir doğal üründür. Apilarnil zengin vitamin ve mineral içeriği ile antioksidan bir ajan, yüksek aminoasit ve protein içeriği sayesinde ise sporcular için egzersiz kapsamında bir protein takviyesi ve potansiyel güçlendirici ajan olarak kullanıma adaydır. Şimdiye kadar apilarnilin kullanımına bağlı advers, toksik veya alerjik reaksiyonlar bildirilmemiştir. Bu çalışmada akut egzersiz yaptırılan ve yaptırılmayan sıçanlara apilarnil ve whey proteini ayrı ayrı verilerek kas hasarına karşı etkileri, ayrıca antioksidan ve inflamatuar belirteçler üzerindeki rolleri araştırılmak istenmiştir.

Toplu olarak verilerimiz, akut egzersizde apilarnilin iskelet kası onarımı ve vücut kompozisyonu için faydalı olduğu fikrini desteklemektedir. Ayrıca apilarnil takviyesinin egzersizle beraber veya tek başına kullanımında antioksidan kapasite üzerinde olumlu etkileri olduğu görülmüş, ancak inflamatuar sitokinler üzerinde önemli bir değişiklik sağlamadığı saptanmıştır. Bu durum apilarnilin egzersizle oluşan kas hasarını önleyici etkisini antiinflamatuar rolü ile değil, antioksidan sistemler aracılığı ile oluşturduğunu göstermektedir.

Gelecekte yapılacak çalışmalarda, kas iyileşmesinde zaman çok önemli bir belirleyici olduğundan daha uzun süreli ve yoğun egzersiz modelleri veya daha farklı dozlarda ve kronik besin takviyeleri sonrası kas hasarı analizleri histolojik incelemelerde farklı sonuçlara yol açabilir. Apilarnil tüketiminin oluşturduğu antioksidan ve antiinflamatuar tepkilerle ilgili akut ve kronik mekanizmaların açıklığa kavuşturulması için daha ayrıntılı çalışmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca kas kuvveti ve performansı üzerine apilarnil ile ilgili daha kapsamlı analizlerin yapılması, sinyal yolakları ve etki mekanizmalarının aydınlatılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

[1] L. Zuo, L. Nogueira, ve M. C. Hogan, "Reactive oxygen species formation during tetanic contractions in single isolated Xenopus myofibers", *Journal of Applied Physiology*, c. 111, sayı 3, ss. 898-904, Eyl. 2011.

[2] S. K. Powers, W. B. Nelson, ve M. B. Hudson, "Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences", *Free Radical Biology & Medicine*, c. 51, sayı 5, ss. 942-950, Eyl. 2011.

[3] A. G. Smith ve G. E. O. Muscat, "Skeletal muscle and nuclear hormone receptors: Implications for cardiovascular and metabolic disease", *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, c. 37, sayı 10. ss. 2047-2063, 2005.

[4] T. L. Clanton, "Hypoxia-induced reactive oxygen species formation in skeletal muscle", *Journal of Applied Physiology*, c. 102, ss. 2379-2388, Haz. 2007.

[5] O. Kayapinar, C. Ozde, E. K. Ay, M. Keskin, ve A. Kaya, "Anterior myocardial infarction in a 26-year-old body builder with concomitant use of whey protein powder and amino acid capsules", *Acta Cardiologica Sinica*, c. 34, sayı 4. ss. 359-362, 01 Temmuz 2018.

[6] R. Sawczuk, J. Karpinska, ve W. Miltyk, "What do we need to know about drone brood homogenate and what is known", *Journal of Ethnopharmacology*, c. 245, s. 111581, Ara. 2019.

[7] S. Kogalniceanu, I. Lancrajan, ve G. Ardelean, "Changes of the glucidic metabolism determined by the physical effort of the treatment with the aslavital and apilarnil", *Journal Medical Aradean*, c. 13, sayı 3, ss. 33-41, Ağu. 2010.

[8] Y. Yokoyama, K. Shinohara, N. Kitamura, A. Nakamura, A. Onoue, K. Tanaka, A. Hirayama, W. Aw, S. Nakamura, Y. Ogawa, S. Fukuda, K. Tsubota, ve M. Watanabe, "Metabolic Effects of Bee Larva-Derived Protein in Mice: Assessment of an Alternative Protein Source", *Foods*, c. 10, sayı 11, s. 2642, Kas. 2021.

[9] C. Simioni, G. Zauli, A. M. Martelli, M. Vitale, G. Sacchetti, A. Gonelli, ve L. M. Neri, "Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging", *Oncotarget*, c. 9, sayı 24, ss. 17181-17198, Mar. 2018.

[10] Z. Gerhart-Hines, J. T. Rodgers, O. Bare, C. Lerin, S. H. Kim, R. Mostoslavsky, F. W. Alt, Z. Wu, ve P. Puigserver, "Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1α", *EMBO Journal*, c. 26, sayı 7, ss. 1913-1923, Nis. 2007.

[11] E. Topal, M. Strant, B. Yücel, M. Kösoğlu, R. Margaoan, ve M. Dayıoğlu, "Ana ve erkek arı larvalarının biyokimyasal özellikleri ve apiterapötik kullanımı", *Journal of Animal Production*, c. 59, sayı 2, ss. 77-82, Ara. 2018.

[12] P. Micke, K. M. Beeh, J. F. Schlaak, ve R. Buhl, "Oral supplementation with whey proteins increases plasma glutathione levels of HIV-infected patients", *European Journal of Clinical Investigation*, c. 31, sayı 2, ss. 171-178, Şub. 2001.

[13] D. S. Lazaryan, "Comparative amino acid analysis of bee brood", *Pharmaceutical Chemistry Journal*, c. 36, sayı 12, ss. 680-682, Ara. 2002.

[14] W. L. Haskell, I. M. Lee, R. R. Pate, K. E. Powell, S. N. Blair, B. A. Franklin, C. A. MacEra, G. W. Heath, P. D. Thompson, ve A. Bauman, "Physical activity and public health: Opdated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association", *Medicine and Science in Sports and Exercise*, c. 39, sayı 8, ss. 1423-1434, Ağu. 2007.

[15] D. W. Jenkins ve A. Jenks, "Exercise and diabetes: A narrative review", *Journal of Foot and Ankle Surgery*, c. 56, sayı 5. ss. 968-974, 01 Eylül 2017.

[16] M. Hargreaves, "Skeletal muscle metabolism during exercise in humans", *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, c. 27, sayı 3, ss. 225-228, Mar. 2000.

[17] D. E. R. Warburton, C. W. Nicol, ve S. S. D. Bredin, "Health benefits of physical activity: the evidence", *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, c. 174, sayı 6, ss. 801-809, Mar. 2006.

[18] D. S. Siscovick, R. E. LaPorte, ve J. M. Newman, "The disease-specific benefits and risks of physical activity and exercise", *Public Health Reports (Washington, D.C.: 1974)*, c. 100, sayı 2, ss. 180-188, 1985.

[19] Y. Çınar ve R. Kabakçı, "Egzersiz çeşitlerinin ratlarda uygulama protokolleri ve akut yorucu egzersizin oksidatif stres ile ilişkisi", *Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, c. 1, sayı 2, ss. 126-139, 2021.

[20] A. Oláh, B. T. Németh, C. Mátyás, E. M. Horváth, L. Hidi, E. Birtalan, D. Kellermayer, M. Ruppert, G. Merkely, G. Szabó, B. Merkely, ve T. Radovits, "Cardiac effects of acute exhaustive exercise in a rat model", *International Journal of Cardiology*, c. 182, ss. 258-266, Mar. 2015.

[21] S. Taysi, N. Oztasan, H. Efe, M. F. Polat, K. Gumustekin, E. Siktar, E. Canakci, F. Akcay, S. Dane, ve M. Gul, "Endurance training attenuates the oxidative stress due to acute exhaustive exercise in rat liver", *Acta Physiologica Hungarica*, c. 95, sayı 4, ss. 337-347, Ara. 2008.

[22] D. L. MacIntyre, W. D. Reid, ve D. C. McKenzie, "Delayed muscle soreness", *Sports Medicine*, c. 20, sayı 1, ss. 24-40, Tem. 1995.

[23] J. J. Whyte ve M. H. Laughlin, "The effects of acute and chronic exercise on the vasculature", *Acta Physiologica*, c. 199, sayı 4. ss. 441-450, Ağustos 2010.

[24] C. B. Scott, "Contribution of anaerobic energy expenditure to whole body thermogenesis", *Nutrition and Metabolism*, c. 2. 15 Haziran 2005.

[25] M. Hargreaves ve L. L. Spriet, "Skeletal muscle energy metabolism during exercise", *Nature Metabolism*, c. 2, sayı 9. ss. 817-828, 01 Eylül 2020.

[26] M. Bonora, S. Patergnani, A. Rimessi, E. de Marchi, J. M. Suski, A. Bononi, C. Giorgi, S. Marchi, S. Missiroli, F. Poletti, M. R. Wieckowski, ve P. Pinton, "ATP synthesis and storage", *Purinergic Signalling*, c. 8, sayı 3. ss. 343-357, Eylül 2012.

[27] P. R. Rich, "The molecular machinery of Keilin's respiratory chain", *Biochemical Society Transactions*, c. 31, sayı 6, ss. 1095-1105, Ara. 2003.

[28] G. P. Holloway, “Nutrition and training influences on the regulation of mitochondrial adenosine diphosphate sensitivity and bioenergetics.”, *Sports Medicine*, c. 47, sayı 1, ss. 13-21, Mar. 2017.

[29] C. Scott, “Misconceptions about aerobic and anaerobic energy expenditure”, *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, c. 2, sayı 2, ss. 32-37, 2005.

[30] L. Guimarães-Ferreira, “Role of the phosphocreatine system on energetic homeostasis in skeletal and cardiac muscles.”, *Einstein (Sao Paulo, Brazil)*, c. 12, sayı 1, ss. 126-31, 2014.

[31] F. J. Nagle, “Physiological assessment of maximal performance”, *Exercise Sport Science Reviews*, c. 1, ss. 313-338, 1973.

[32] M. J. Joyner ve E. F. Coyle, “Endurance exercise performance: The physiology of champions”, *Journal of Physiology*, c. 586, sayı 1. ss. 35-44, 01 Ocak 2008.

[33] A. C. Bylund-Fellenius, P. M. Walker, A. Elander, S. Holm, J. Holm, ve T. Scherstén, “Energy metabolism in relation to oxygen partial pressure in human skeletal muscle during exercise”, *The Biochemical Journal*, c. 200, sayı 2, ss. 247-255, Kas. 1981.

[34] K. Wasserman, “The anaerobic threshold: Definition, physiological significance and identification the anaerobic threshold and its relation to lactate metabolism definition”, *Advanced Cardiology*, c. 35, ss. 1-23, 1986.

[35] B. R. MacIntosh, P. F. Gardiner, ve A. J. McComas, *Skeletal Muscle: Form and Function*, 2. Baskı. Human Kinetics, 2006.

[36] F. Bladt, D. Riethmacher, S. Isenmann, A. Aguzzi, ve C. Birchmeier, “Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud”, *Nature*, c. 31, ss. 376-768, 1995.

[37] M. Periasamy, J. L. Herrera, ve F. C. G. Reis, “Skeletal muscle thermogenesis and its role in whole body energy metabolism”, *Diabetes and Metabolism Journal*, c. 41, sayı 5. ss. 327-336, 01 Ekim 2017.

[38] A. R. Saltiel ve C. R. Kahn, “Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism”, *Nature*, c. 414, ss. 799-806, Ara. 2001.

[39] E. Jing, B. T. O’Neill, M. J. Rardin, A. Kleinridders, O. R. Ilkeyeva, S. Ussar, J. R. Bain, K. Y. Lee, E. M. Verdin, C. B. Newgard, B. W. Gibson, ve C. R. Kahn, “Sirt3 regulates metabolic flexibility of skeletal muscle through reversible enzymatic deacetylation”, *Diabetes*, c. 62, sayı 10, ss. 3404-3417, Eki. 2013.

[40] K. Vargas-Ortiz, V. Pérez-Vázquez, ve M. H. Macías-Cervantes, “Exercise and sirtuins: A way to mitochondrial health in skeletal muscle”, *International Journal of Molecular Sciences*, c. 20, sayı 11, Haz. 2019.

[41] W. R. Frontera ve J. Ochala, “Skeletal muscle: A brief review of structure and function”, *Behavior Genetics*, c. 45, sayı 2. ss. 183-195, 04 Mart 2015.

[42] D. R. Swartz, Z. Yang, A. Sen, S. B. Tikunova, ve J. P. Davis, “Myofibrillar troponin exists in three states and there is signal transduction along skeletal

myofibrillar thin filaments", *Journal of Molecular Biology*, c. 361, sayı 3, ss. 420-435, Ağu. 2006.

[43] M. Rasmussen ve J. P. Jin, "Troponin variants as markers of skeletal muscle health and diseases", *Frontiers in Physiology*, c. 12. 27 Eylül 2021.

[44] M. E. Carnes ve G. D. Pins, "Skeletal muscle tissue engineering: Biomaterials-based strategies for the treatment of volumetric muscle loss", *Bioengineering*, c. 7, sayı 3. ss. 1-39, 01 Eylül 2020.

[45] I. Ohtsuki ve S. Morimoto, "Troponin: Regulatory function and disorders", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, c. 369, sayı 1. ss. 62-73, 25 Nisan 2008.

[46] R. H. Fitts ve J. J. Widrick, "Muscle mechanics: Adaptations with exercise-training.", *Exercise and sport sciences reviews*, c. 24, ss. 427-473, 1996.

[47] R. H. Fitts, "The cross-bridge cycle and skeletal muscle fatigue", *J Appl Physiol*, c. 104, ss. 551-558, 2008.

[48] J. Squire, "Special issue: The actin-myosin interaction in muscle: Background and overview", *International Journal of Molecular Sciences*, c. 20, sayı 22. 02 Kasım 2019.

[49] M. C. Gash, P. F. Kandle, I. V. Murray, ve M. Varacallo, *Physiology, Muscle Contraction*. StatPearls Kitabevi, 2023.

[50] G. Q. Wallace ve E. M. McNally, "Mechanisms of muscle degeneration, regeneration, and repair in the muscular dystrophies", *Annual Review of Physiology*, c. 71. ss. 37-57, Mart 2009.

[51] L. Baoge, E. Van Den Steen, S. Rimbaut, N. Philips, E. Witvrouw, K. F. Almqvist, G. Vanderstraeten, ve L. C. Vanden Bossche, "Treatment of skeletal muscle injury: A review", *ISRN Orthopedics*, c. 2012, ss. 1-7, Nis. 2012.

[52] C. Malm, "Exercise immunology: A skeletal muscle perspective", *Exercise Immunology Review*, c. 8, ss. 116-167, 2002.

[53] S. B. P. Chargé ve M. A. Rudnicki, "Cellular and molecular regulation of muscle regeneration.", *Physiological Reviews*, c. 84, sayı 1, ss. 209-238, Oca. 2004.

[54] B. R. McKay, C. E. O'Reilly, S. M. Phillips, M. A. Tarnopolsky, ve G. Parise, "Co-expression of IGF-1 family members with myogenic regulatory factors following acute damaging muscle-lengthening contractions in humans", *Journal of Physiology*, c. 586, sayı 22, ss. 5549-5560, Kas. 2008.

[55] D. L. Lindstedt, P. C. LaStayo, ve T. E. Reich, "When active muscles lengthen: properties and consequences of eccentric contractions.", *News in Physiological Science*, c. 16, ss. 256-261, 2001.

[56] O. Yanagisawa, J. Sakuma, Y. Kawakami, K. Suzuki, ve T. Fukubayashi, "Effect of exercise-induced muscle damage on muscle hardness evaluated by ultrasound real-time tissue elastography", *SpringerPlus*, c. 4, sayı 1, 2015.

[57] P. M. Clarkson ve S. P. Sayers SP, "Etiology of exercise-induced muscle damage.", *Canadian Journal of Applied Physiology*, c. 24, sayı 3, ss. 234-248, 1999.

[58] T. A. H. Järvinen, T. L. N. Järvinen, M. Kääriäinen, H. Kalimo, ve M. Järvinen, "Muscle injuries: Biology and treatment", *American Journal of Sports Medicine*, c. 33, sayı 5. ss. 745-764, Mayıs 2005.

[59] N. Cheema, A. Herbst, D. McKenzie, ve J. M. Aiken, "Apoptosis and necrosis mediate skeletal muscle fiber loss in age-induced mitochondrial enzymatic abnormalities", *Aging Cell*, c. 14, sayı 6, ss. 1085-1093, Ara. 2015.

[60] M. Henriquez, R. Armisen, A. Stutzin, ve A. Quest, "Cell death by necrosis, a regulated way to go", *Current Molecular Medicine*, c. 8, sayı 3, ss. 187-206, May. 2008.

[61] L. Forcina, M. Cosentino, ve A. Musarò, "Mechanisms regulating muscle regeneration: Insights into the interrelated and time-dependent phases of tissue healing", *Cells*, c. 9, sayı 5, s. 1297, May. 2020.

[62] D. Manor ve M. Sadeh, "Muscle fibre necrosis induced by intramuscular injection of drugs", *British Journal of Experimental Pathology*, c. 70, sayı 4, ss. 457-462, Ağu. 1989.

[63] P. Greaves, L. Chouinard, H. Ernst, L. Mecklenburg, I. M. Pruimboom-Brees, M. Rinke, S. Rittinghausen, S. Thibault, J. Von Erichsen, ve T. Yoshida, "Proliferative and non-proliferative lesions of the rat and mouse soft tissue, skeletal muscle and mesothelium", *Journal of Toxicologic Pathology*, c. 26, sayı 3, ss. 1S-26S, 2013.

[64] C. J. McMahon, J. S. Wu, ve R. L. Eisenberg, "Muscle edema", *American Journal of Roentgenology*, c. 194, sayı 4, Nis. 2010.

[65] M. W. Hamrick, M. E. McGee-Lawrence, ve D. M. Frechette, "Fatty infiltration of skeletal muscle: mechanisms and comparisons with bone marrow adiposity", *Frontiers in Endocrinology*, c. 7, s. 69, Haz. 2016.

[66] L. Wu, J. Wang, X. Cao, Y. Tian, ve J. Li, "Effect of acute high-intensity exercise on myocardium metabolic profiles in rat and human study via metabolomics approach", *Scientific Reports*, c. 12, sayı 1, Ara. 2022.

[67] Y. McLeay, S. Stannard, ve M. Barnes, "The effect of taurine on the recovery from eccentric exercise-induced muscle damage in males", *Antioxidants*, c. 6, sayı 4, Ara. 2017.

[68] R. V. Gonçalves, A. M. A. Costa, ve L. Grzeskowiak, "Oxidative stress and tissue repair: Mechanism, biomarkers, and therapeutics", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, c. 2021, ss. 1-3, Şub. 2021.

[69] S. A. Villalta, B. Deng, C. Rinaldi, M. Wehling-Henricks, ve J. G. Tidball, "IFN-γ promotes muscle damage in the mdx mouse model of duchenne muscular dystrophy by suppressing M2 macrophage activation and inhibiting muscle cell proliferation", *The Journal of Immunology*, c. 187, sayı 10, ss. 5419-5428, Kas. 2011.

[70] J. Allen, Y. Sun, ve J. A. Woods, "Exercise and the regulation of inflammatory responses", *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, c. 135, ss. 337-354, Tem. 2015.

[71] B. K. Pedersen, A. Steensberg, ve P. Schjerling, "Muscle-derived interleukin-6: Possible biological effects", *The Journal of Physiology*, c. 536, sayı 2, ss. 329-337, 2001.

[72] A. Steensberg, M. A. Febbraio, T. Osada, P. Schjerling, G. van Hall, B. Saltin, ve B. K. Pedersen, "Interleukin-6 production in contracting human skeletal muscle is influenced by pre-exercise muscle glycogen content", *The Journal of Physiology*, c. 537, sayı 2, ss. 633-639, Ara. 2001.

[73] B. K. Pedersen, "Effects of exercise on lymphocytes and cytokines", *British Journal of Sports Medicine*, c. 34, sayı 4, ss. 246-251, Ağu. 2000.

[74] K. A. Dias, A. R. da Conceição, S. M. S. Pereira, L. A. Oliveira, J. V. da Silva Rodrigues, R. S. Dias, S. O. de Paula, A. J. Natali, S. L. P. da Matta, R. V. Gonçalves, E. Tako, H. S. D. Martino, ve C. M. Della Lucia, "Curcumin-added whey protein positively modulates skeletal muscle inflammation and oxidative damage after exhaustive exercise", *Nutrients*, c. 14, sayı 22, Kas. 2022.

[75] N. Dali-Youcef, M. Lagouge, S. Froelich, C. Koehl, K. Schoonjans, ve J. Auwerx, "Sirtuins: The 'magnificent seven', function, metabolism and longevity", *Annals of Medicine*, c. 39, sayı 5. ss. 335-345, 2007.

[76] A. Kanwal ve L. A. Dsouza, "Sirtuins and diabetes: Optimizing the sweetness in the blood", *Translational Medicine Communications*, c. 4, sayı 1, Ara. 2019.

[77] R. H. Houtkooper, E. Pirinen, ve J. Auwerx, "Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan", *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, c. 13, sayı 4. ss. 225-238, Nisan 2012.

[78] S. Bayod, J. Del Valle, J. F. Lalanza, S. Sanchez-Roige, B. de Luxán-Delgado, A. Coto-Montes, A. M. Canudas, A. Camins, R. M. Escorihuela, ve M. Pallàs, "Long-term physical exercise induces changes in sirtuin 1 pathway and oxidative parameters in adult rat tissues", *Experimental Gerontology*, c. 47, sayı 12, ss. 925-935, Ara. 2012.

[79] Z. Radak, K. Suzuki, A. Posa, Z. Petrovszky, E. Koltai, ve I. Boldogh, "The systemic role of SIRT1 in exercise mediated adaptation", *Redox Biology*, c. 35. 01 Ağustos 2020.

[80] J. T. Rodgers, C. Lerin, W. Haas, S. P. Gygi, B. M. Spiegelman, ve P. Puigserver, "Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1alpha and SIRT1", *Nature*, c. 434, sayı 7029, ss. 113-118, Mar. 2005.

[81] M. Lagouge, C. Argmann, Z. Gerhart-Hines, H. Meziane, C. Lerin, F. Daussin, N. Messadeq, J. Milne, P. Lambert, P. Elliott, B. Geny, M. Laakso, P. Puigserver, ve J. Auwerx, "Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1α", *Cell*, c. 127, sayı 6, ss. 1109-1122, Ara. 2006.

[82] J. Zhang, H. Xiang, J. Liu, Y. Chen, R.-R. He, ve B. Liu, "Mitochondrial Sirtuin 3: New emerging biological function and therapeutic target", *Theranostics*, c. 10, sayı 18, ss. 8315-8342, Tem. 2020.

[83] D. Yeo, C. Kang, ve L. L. Ji, "Aging alters acetylation status in skeletal and cardiac muscles", *GeroScience*, c. 42, sayı 3, ss. 963-976, Haz. 2020.

[84] N. Hart, L. Sarga, Z. Csende, E. Koltai, L. G. Koch, S. L. Britton, K. J. A. Davies, D. Kouretas, B. Wessner, ve Z. Radak, "Resveratrol enhances exercise training responses in rats selectively bred for high running performance", *Food and Chemical Toxicology*, c. 61, ss. 53-59, Kas. 2013.

[85] O. M. Palacios, J. J. Carmona, S. Michan, K. Y. Chen, Y. Manabe, J. L. Ward, L. J. Goodyear, ve Q. Tong, "Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1alpha in skeletal muscle", *Aging*, c. 1, sayı 9, ss. 771-783, Ağu. 2009.

[86] B. A. Edgett, J. T. Bonafiglia, B. L. Baechler, J. Quadrilatero, ve B. J. Gurd, "The effect of acute and chronic sprint-interval training on LRP130, SIRT3, and PGC-1α expression in human skeletal muscle", *Physiological Reports*, c. 4, sayı 17, s. e12879, Eyl. 2016.

[87] X. Wang, C. Niu, J. Lu, N. Li, ve J. Li, "Hydrolyzed protein supplementation improves protein content and peroxidation of skeletal muscle by adjusting the plasma amino acid spectrums in rats after exhaustive swimming exercise: A pilot study", *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, c. 11, sayı 1, Şub. 2014.

[88] S. M. Phillips, K. D. Tipton, A. Aarsland, S. E. Wolf, ve R. R. Wolfe, "Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans", *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, c. 273, sayı 1, ss. E99-E107, Tem. 1997.

[89] K. D. Tipton ve R. R. Wolfe, "Exercise-induced changes in protein metabolism", *Acta Physiologica Scandinavica*, c. 162, sayı 3, ss. 377-387, Şub. 1998.

[90] L. L. Ji, M. Gomezcabrera, N. Steinhafel, ve J. Vina, "Acute exercise activates nuclear factor (NF)-kappaB signaling pathway in rat skeletal muscle", *The FASEB Journal*, c. 18, sayı 13, ss. 1499-1506, Eki. 2004.

[91] P. J. Cribb ve A. Hayes, "Effects of supplement timing and resistance exercise on skeletal muscle hypertrophy", *Medicine and Science in Sports and Exercise*, c. 38, sayı 11, ss. 1918-1925, Kas. 2006.

[92] J. L. Areta, L. M. Burke, M. L. Ross, D. M. Camera, D. W. D. West, E. M. Broad, N. A. Jeacocke, D. R. Moore, T. Stellingwerff, S. M. Phillips, J. A. Hawley, ve V. G. Coffey, "Timing and distribution of protein ingestion during prolonged recovery from resistance exercise alters myofibrillar protein synthesis", *Journal of Physiology*, c. 591, sayı 9, ss. 2319-2331, May. 2013.

[93] E. C. Dahlstrom, "Impact of protein supplementation on muscle recovery after exercise-induced muscle soreness", Yüksek Lisans Tezi, Iowa State University, Ames, 2007.

[94] K. Marshall, "Therapeutic applications of whey protein", *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic*, c. 9, sayı 2, ss. 136-156, Haz. 2004.

[95] S. Pal, V. Ellis, ve S. Dhaliwal, "Effects of whey protein isolate on body composition, lipids, insulin and glucose in overweight and obese individuals", *British Journal of Nutrition*, c. 104, sayı 5, ss. 716-723, Eyl. 2010.

[96] S. Yılmaz, E. Tufan, G. Göksun Sivas, B. Gökmen, E. Dursun, D. Özbeyli, G. Şener, ve T. Tunalı Akbay, "The effect of whey proteins on the brain and small intestine nitric oxide levels: Protein profiles in methotrexate-induced oxidative stress", *Experimed*, c. 12, sayı 3, ss. 113-118, Ara. 2022.

[97] D. González-Weller, S. Paz-Montelongo, E. Bethencourt-Barbuzano, D. Niebla-Canelo, S. Alejandro-Vega, Á. J. Gutiérrez, A. Hardisson, C. Carrascosa, ve C. Rubio, "Proteins and minerals in whey protein supplements", *Foods (Basel, Switzerland)*, c. 12, sayı 11, s. 2238, Haz. 2023.

[98] I. T. Zajac, D. Herreen, K. Bastiaans, V. S. Dhillon, ve M. Fenech, "The effect of whey and soy protein isolates on cognitive function in older australians with low vitamin B 12: A randomised controlled crossover trial", *Nutrients*, c. 11, sayı 1, s. 19, Oca. 2019.

[99] J. E. Tang, J. J. Manolakos, G. W. Kujbida, P. J. Lysecki, D. R. Moore, ve S. M. Phillips, "Minimal whey protein with carbohydrate stimulates muscle protein synthesis following resistance exercise in trained young men", *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, c. 32, sayı 6, ss. 1132-1138, Ara. 2007.

[100] A. P. Wakefield, J. D. House, M. R. Ogborn, H. A. Weiler, ve H. M. Aukema, "A diet with 35% of energy from protein leads to kidney damage in female Sprague-Dawley rats", *The British Journal of Nutrition*, c. 106, sayı 5, ss. 656-663, Eyl. 2011.

[101] R. Deminice, H. Comparotto, ve A. A. Jordao, "Whey protein supplementation increases methionine intake but not homocysteine plasma concentration in rats", *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition et Metabolisme*, c. 40, sayı 1, ss. 46-50, Oca. 2015.

[102] Q. D. J. S. Vasconcelos, T. P. R. Bachur, ve G. F. Aragão, "Whey protein supplementation and its potentially adverse effects on health: a systematic review", *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition et Metabolisme*, c. 46, sayı 1, ss. 27-33, Oca. 2021.

[103] R. Nunes, P. Silva, J. Alves, G. Stefani, M. Petry, C. Rhoden, P. Dal Lago, ve C. D. Schneider, "Effects of resistance training associated with whey protein supplementation on liver and kidney biomarkers in rats", *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition et Metabolisme*, c. 38, sayı 11, ss. 1166-1169, Kas. 2013.

[104] K. H. Cheeseman ve T. F. Slater, "An introduction to free radical biochemistry", *British Medical Bulletin*, c. 49, sayı 3, ss. 481-493, 1993.

[105] A. D. Sarma, A. R. Mallick, ve A. K. Ghosh, "Free radicals and their role in different clinical conditions: An overview 2", *International Journal of Pharma Sciences and Research*, c. 1, sayı 3, ss. 185-192, 2010.

[106] B. Halliwell ve O. I. Aruoma, "DNA damage by oxygen-derived species Its mechanism and measurement in mammalian systems", *FEBS Letters*, c. 281, sayı 1-2, ss. 9-19, Nis. 1991.

[107] V. Sakac ve M. Sakac, "[Free oxygen radiacals and kidney diseases--part I]", *Medicinski Pregled*, c. 53, sayı 9-10, ss. 463-474, 2000.

[108] M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. D. Cronin, M. Mazur, ve J. Telser, "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease", *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, c. 39, sayı 1. ss. 44-84, 2007.

[109] P. A. Southorn ve G. Powis, "Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions", *Mayo Clinic Proceedings*, c. 63, sayı 4, ss. 381-389, Nis. 1988.

[110] J. F. Turrens ve A. Boveris, "Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria", *Biochemical Journal*, c. 191, sayı 2, ss. 421-427, Kas. 1980.

[111] M. M. Islam, T. Imase, T. Okajima, M. Takahashi, Y. Niikura, N. Kawashima, Y. Nakamura, ve T. Ohsaka, "Stability of superoxide ion in imidazolium cation-based room-temperature ionic liquids", *Journal of Physical Chemistry A*, c. 113, sayı 5, ss. 912-916, Şub. 2009.

[112] B. Lipinski, "Hydroxyl Radical and Its Scavengers in Health and Disease", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, c. 2011, ss. 1-9, 2011.

[113] S. K. Bardaweel, M. Gul, M. Alzweiri, A. Ishaqat, H. A. Alsalamat, ve R. M. Bashatwah, "Reactive oxygen species: The dual role in physiological and pathological conditions of the human body", *Eurasian Journal of Medicine*, c. 50, sayı 3. ss. 193-201, 2018.

[114] M. Irshad ve P. S. Chaudhuri, "Oxidant-antioxidant system: Role and significance in human body", *Indian Journal of Experimental Biology*, c. 40, sayı 11, ss. 1233-1239, Kas. 2002.

[115] E. Birben, U. M. Sahiner, C. Sackesen, S. Erzurum, ve O. Kalayci, "Oxidative stress and antioxidant defense", *World Allergy Organization Journal*, c. 5, sayı 1, ss. 9-19, 2012.

[116] B. Halliwell, "Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?", *Journal of Neurochemistry*, c. 97, sayı 6, ss. 1634-1658, Haz. 2006.

[117] A. Koçyiğit ve S. Selek, "Exogenous antioxidants are double-edged swords", *Bezmialem Science*, c. 4, sayı 2, ss. 70-75, Eyl. 2016.

[118] C. R. Wheeler, J. A. Salzman, N. M. Elsayed, S. T. Omaye, ve D. W. Korte, "Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity", *Analytical Biochemistry*, c. 184, sayı 2, ss. 193-199, Şub. 1990.

[119] R. A. Weisiger ve I. Fridovich, "Superoxide dismutase. Organelle specificity", *The Journal of Biological Chemistry*, c. 248, sayı 10, ss. 3582-3592, May. 1973.

[120] C. M. C. Andrés, J. M. Pérez de la Lastra, C. Andrés Juan, F. J. Plou, ve E. Pérez-Lebeña, "Superoxide anion chemistry—its role at the core of the innate immunity", *International Journal of Molecular Sciences*, c. 24, sayı 3. s. 1841, 01 Şubat 2023.

[121] T. Doğan ve Z. B. Ogel, "The effects of hydrogen peroxide, gallic acid and resveratrol on growth and catalase production of aspergillus fumigatus", Yüksek Lisans Tezi, The Middle East Technical University, Ankara, 2008.

[122] S. M. Zimatkin ve R. A. Deitrich, "Ethanol metabolism in the brain.", *Addiction biology*, c. 2, sayı 4, ss. 387-400, Eki. 1997.

[123] R. Radi, J. S. Beckman, K. M. Bush, ve B. A. Freeman, "Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, c. 288, sayı 2, ss. 481-487, Ağu. 1991.

[124] R. Radi, J. F. Turrens, L. Y. Chang, K. M. Bush, J. D. Crapo, ve B. A. Freeman, "Detection of catalase in rat heart mitochondria", *The Journal of Biological Chemistry*, c. 266, sayı 32, ss. 22028-22034, Kas. 1991.

[125] A. Marciniak, J. Brzeszczyńska, K. Gwoździński, ve A. Jegier, "Antioxidant capacity and physical exercise", *Biology of Sport*, c. 26, sayı 3, ss. 197-213, Eyl. 2009.

[126] J. D. Hayes, J. U. Flanagan, ve I. R. Jowsey, "Glutathione transferases", *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, c. 45, ss. 51-88, 2005.

[127] A. Moure, J. M. Cruz, D. Franco, J. M. Domínguez, J. Sineiro, H. Domínguez, M. José Núñez, ve J. C. Parajó, "Natural antioxidants from residual sources", *Food Chemistry*, c. 72, sayı 2, ss. 145-171, Şub. 2001.

[128] D. V. Ratnam, D. D. Ankola, V. Bhardwaj, D. K. Sahana, ve M. N. V. R. Kumar, "Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective", *Journal of Controlled Release*, c. 113, sayı 3, ss. 189-207, Tem. 2006.

[129] A. Meister ve M. E. Anderson, "Glutathione", *Annual Review of Biochemistry*, c. 52, ss. 711-760, 1983.

[130] B. Bukowska, "[Glutathione: Its biosynthesis, induction agents and concentrations in selected diseases].", *Medycyna Pracy*, c. 55, sayı 6, ss. 501-509, 2004.

[131] S. C. Lu, "Regulation of hepatic glutathione synthesis: Current concepts and controversies", *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, c. 13, sayı 10, ss. 1169-1183, Tem. 1999.

[132] A. Chatterjee, "Reduced glutathione: A radioprotector or a modulator of DNA-repair activity?", *Nutrients*, c. 5, sayı 2. ss. 525-542, 07 Şubat 2013.

[133] D. P. Jones, "Redefining oxidative stress", *Antioxidants & Redox Signaling*, c. 8, sayı 9-10, ss. 1865-1879, 2006.

[134] M. A. Birch-Machin ve A. Bowman, "Oxidative stress and ageing", *The British Journal of Dermatology*, c. 175 Suppl 2, ss. 26-29, Eki. 2016.

[135] S. K. Powers ve M. J. Jackson, "Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and impact on muscle force production", *Physiological Reviews*, c. 88, sayı 4. ss. 1243-1276, Ekim 2008.

[136] F. He, J. Li, Z. Liu, C. C. Chuang, W. Yang, ve L. Zuo, "Redox mechanism of reactive oxygen species in exercise", *Frontiers in Physiology*, c. 7, sayı 486. 07 Kasım 2016.

[137] C. Leeuwenburgh, J. Hollander, S. Leichtweis, M. Griffiths, M. Gore, ve L. L. Ji, "Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and

muscle fiber specific", *The American Journal of Physiology*, c. 272, sayı 1 Pt 2, ss. R363-369, Oca. 1997.

[138] A. H. Goldfarb, "Exercise physiology: Human bioenergetics and its application", *Quest*, c. 37, sayı 2, ss. 215-216, Tem. 1985.

[139] J. Keul, E. Doll, ve Keppler D, *Energy Metabolism of Human Muscle*. University Park Press, 1972.

[140] R. B. Child, D. M. Wilkinson, J. L. Fallowfield, ve A. E. Donnelly, "Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run", *Medicine and Science in Sports and Exercise*, c. 30, sayı 11, ss. 1603-1607, Kas. 1998.

[141] S. Chevion, D. S. Moran, Y. Heled, Y. Shani, G. Regev, B. Abbou, E. Berenshtein, E. R. Stadtman, ve Y. Epstein, "Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, c. 100, sayı 9, ss. 5119-5123, Nis. 2003.

[142] J. M. Sacheck ve J. B. Blumberg, "Role of vitamin E and oxidative stress in exercise", *Nutrition*, c. 17, sayı 10, ss. 809-814, Eki. 2001.

[143] M. L. Urso ve P. M. Clarkson, "Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation", *Toxicology*, c. 189, sayı 1-2. ss. 41-54, 15 Temmuz 2003.

[144] C. K. Sen, "Oxidants and antioxidants in exercise", *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, c. 79, sayı 3, ss. 675-686, Eyl. 1995.

[145] H. M. Alessio, "Exercise-induced oxidative stress", *Medicine and Science in Sports and Exercise*, c. 25, sayı 2, ss. 218-224, Şub. 1993.

[146] T. A. Watson, R. Callister, R. D. Taylor, D. W. Sibbritt, L. K. Macdonald-Wicks, ve M. L. Garg, "Antioxidant restriction and oxidative stress in short-duration exhaustive exercise", *Medicine and Science in Sports and Exercise*, c. 37, sayı 1, ss. 63-71, Oca. 2005.

[147] A. Aguiló, P. Tauler, M. Pilar Guix, G. Villa, A. Córdova, J. A. Tur, ve A. Pons, "Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists", *The Journal of Nutritional Biochemistry*, c. 14, sayı 6, ss. 319-325, Haz. 2003.

[148] K. J. Davies, L. Packer, ve G. A. Brooks, "Biochemical adaptation of mitochondria, muscle, and whole-animal respiration to endurance training", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, c. 209, sayı 2, ss. 539-554, Tem. 1981.

[149] S. Kaur, C. Trainee, S. Guru, H. Sahib, A. Mirza, ve J. Singh, "Recent advances of honey in modern medicines: A review", *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, c. 6, sayı 4, ss. 2063-2067, 2017.

[150] S. Bogdanov, "Royal Jelly, Bee Brood: Composition, Nutrition, Health", içinde *The Royal Jelly*, Bee Product Science, 2016.

[151] J. M. Sforcin, V. Bankova, ve A. K. Kuropatnicki, "Medical benefits of honeybee products", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, c. 2017, ss. 1-2, 2017.

[152] R. Guine, "Bee pollen: Chemical composition and potential beneficial effects on health", *Current Nutrition & Food Science*, c. 11, sayı 4, ss. 301-308, Eyl. 2015.

[153] A. M. Ali ve H. Kunugi, "Apitherapy for age-related skeletal muscle dysfunction (sarcopenia): A review on the effects of royal jelly, propolis, and bee pollen", *Foods*, c. 9, sayı 10. 01 Ekim 2020.

[154] A. K. Kuropatnicki, E. Szliszka, ve W. Krol, "Historical aspects of propolis research in modern times", *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, c. 2013. 2013.

[155] V. R. Pasupuleti, L. Sammugam, N. Ramesh, ve S. H. Gan, "Honey, propolis, and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, c. 2017, ss. 1-21, 2017.

[156] C. Eleazu, J. B. Suleiman, Z. A. Othman, Z. Zakaria, V. U. Nna, ve M. Mohamed, "Effect of bee bread on some biochemical parameters and skeletal muscle histology of high-fat diet-induced obese Sprague-Dawley rats", *Journal of Food Biochemistry*, c. 45, sayı 2, Şub. 2021.

[157] H. Kunugi ve A. Mohammed Ali, "Royal jelly and its components promote healthy aging and longevity: From animal models to humans", *International Journal of Molecular Sciences*, c. 20, sayı 19, Eyl. 2019.

[158] R. Balkanska ve B. Kashamov, "Composition and physico-chemical properties of lyophilized royal jelly", *Bee Science*, c. 11, sayı 4, ss. 114-117, Kas. 2011.

[159] T. Nagai, R. Inoue, N. Suzuki, ve T. Nagashima, "Antioxidant properties of enzymatic hydrolysates from royal jelly", *Journal of Medicinal Food*, c. 9, sayı 3, ss. 363-367, 2006.

[160] Y. Takahashi, K. Hijikata, K. Seike, S. Nakano, M. Banjo, Y. Sato, K. Takahashi, ve H. Hatta, "Effects of royal jelly administration on endurance training-induced mitochondrial adaptations in skeletal muscle", *Nutrients*, c. 10, sayı 11, s. 1735, Kas. 2018.

[161] K. Niu, H. Guo, Y. Guo, S. Ebihara, M. Asada, T. Ohrui, K. Furukawa, M. Ichinose, K. Yanai, Y. Kudo, H. Arai, T. Okazaki, ve R. Nagatomi, "Royal jelly prevents the progression of sarcopenia in aged mice in vivo and in vitro", *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, c. 68, sayı 12, ss. 1482-1492, Ara. 2013.

[162] M. Bakır ve T. Ö. Bakır, "The role of royal jelly on exhaustive exercise-induced oxidative stress", *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, c. 12, sayı 2, ss. 1-7, Haz. 2023.

[163] T. Nagai, R. Inoue, H. Inoue, ve N. Suzuki, "Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis", *Food Chemistry*, c. 80, sayı 1, ss. 29-33, Oca. 2003.

[164] S. Boisard, Y. Shahali, M. Aumond, S. Derbré, P. Blanchard, M. Dadar, A. Le Ray, ve P. Richomme, "Anti-AGE activity of poplar-type propolis: mechanism of action of main phenolic compounds", *International Journal of Food Science & Technology*, c. 55, sayı 2, ss. 453-460, Şub. 2020.

[165] M. Blonska, J. Bronikowska, G. Pietsz, Z. P. Czuba, S. Scheller, ve W. Krol, "Effects of ethanol extract of propolis (EEP) and its flavones on inducible gene

expression in J774A.1 macrophages", *Journal of Ethnopharmacology*, c. 91, sayı 1, ss. 25-30, Mar. 2004.

[166] S. Tian, H. Zhao, J. Liu, X. Ma, L. Zheng, H. Guo, ve Y. Jiang, "Metabolomics reveals that alcohol extract of propolis alleviates D-gal-induced skeletal muscle senescence in mice", *Food Bioscience*, c. 49, s. 101885, Eki. 2022.

[167] T. D. Kwon, M. W. Lee, ve K. H. Kim, "The effect of exercise training and water extract from propolis intake on the antioxidant enzymes activity of skeletal muscle and liver in rat", *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*, c. 18, sayı 1, ss. 9-17, Mar. 2014.

[168] Y.-C. Shen, J.-C. Yen, ve K.-T. Liou, "Ameliorative effects of caffeic acid phenethyl ester on an eccentric exercise-Induced skeletal muscle injury by down-regulating NF-kB mediated inflammation", *Pharmacology*, c. 91, sayı 3-4, ss. 219-228, 2013.

[169] D. Soleimani, M. Miryan, V. Hadi, J. Gholizadeh Navashenaq, J. Moludi, S. M. Sayedi, M. Bagherniya, G. Askari, S. M. Nachvak, E. Sadeghi, A. A. Rashidi, ve S. Hadi, "Effect of propolis supplementation on athletic performance, body composition, inflammation, and oxidative stress following intense exercise: A triple-blind randomized clinical trial", *Food Science & Nutrition*, c. 9, sayı 7, ss. 3631-3640, Tem. 2021.

[170] J. Chen ve W. R. Lariviere, "The nociceptive and anti-nociceptive effects of bee venom injection and therapy: A double-edged sword", *Progress in Neurobiology*, c. 92, sayı 2, ss. 151-183, Eki. 2010.

[171] J. E. Lee, V. K. Shah, E.-J. Lee, M.-S. Oh, ve J. J. Choi, "Melittin – A bee venom component – Enhances muscle regeneration factors expression in a mouse model of skeletal muscle contusion", *Journal of Pharmacological Sciences*, c. 140, sayı 1, ss. 26-32, May. 2019.

[172] A. Senturk, B. Dalkiran, B. Acikgoz, I. Aksu, O. Acikgoz, ve M. Kiray, "The effects of bee venom on liver and skeletal muscle in exhaustive swimming rats", *Biologia Futura*, c. 73, sayı 2, ss. 237-244, Haz. 2022.

[173] S. Žilić, J. Vančetović, M. Janković, ve V. Maksimović, "Chemical composition, bioactive compounds, antioxidant capacity and stability of floral maize (Zea mays L.) pollen", *Journal of Functional Foods*, c. 10, ss. 65-74, Eyl. 2014.

[174] R. J. Maughan ve S. P. Evans, "Effects of pollen extract upon adolescent swimmers", *British Journal of Sports Medicine*, c. 16, sayı 3, ss. 142-145, Eyl. 1982.

[175] J. Salles, N. Cardinault, V. Patrac, A. Berry, C. Giraudet, M.-L. Collin, A. Chanet, C. Tagliaferri, P. Denis, C. Pouyet, Y. Boirie, ve S. Walrand, "Bee pollen improves muscle protein and energy metabolism in malnourished old rats through interfering with the mtor signaling pathway and mitochondrial activity", *Nutrients*, c. 6, sayı 12, ss. 5500-5516, Ara. 2014.

[176] S. Ketkar, A. Rathore, A. Kandhare, S. Lohidasan, S. Bodhankar, A. Paradkar, ve K. Mahadik, "Alleviating exercise-induced muscular stress using neat and processed bee pollen: oxidative markers, mitochondrial enzymes, and myostatin

expression in rats", *Integrative Medicine Research*, c. 4, sayı 3, ss. 147-160, Eyl. 2015.

[177] T. Eteraf-Oskouei ve M. Najafi, "Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: A review", *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, c. 16, sayı 6, ss. 731-742, Haz. 2013.

[178] A. Yusof, N. S. Ahmad, A. Hamid M.S., ve T. K. Khong, "Effects of honey on exercise performance and health components: A systematic review", *Science & Sports*, c. 33, sayı 5, ss. 267-281, Eki. 2018.

[179] A. M. Ali, E. M. Ali, A. A. Mousa, M. E. Ahmed, ve A. O. Hendawy, "Bee honey and exercise for improving physical performance, reducing fatigue, and promoting an active lifestyle during COVID-19", *Sports Medicine and Health Science*, c. 3, sayı 3, ss. 177-180, Eyl. 2021.

[180] F. K. Ooi, O. Krasilshchikov, S. S. Tavafzadeh, S. A. Sulaiman, K. Chan, ve L. Hung, ve W. Hung, "The beneficial effects of combined jumping exercise and honey supplementation on bone mineral density and geometry in young female rats", içinde *Abstract book of Joint Conference: 4th Asia Pacific Conference on Exercise and Sports Science & 8th International Sports Science Conference*, Tem. 2009.

[181] K. Sorkun, *Türkiye'nin Nektarlı Bitkileri, Polenleri ve Balları*, Palme Yayıncılık. İstanbul, 2008.

[182] B. Yücel, Z. Açıkgöz, H. Bayraktar, ve C. Seremet, "The effects of apilarnil (drone bee larvae) administration on growth performance and secondary sex characteristics of male broilers", *Journal of Animal and Veterinary Advances*, c. 10, ss. 1163-2266, 2011.

[183] A. Özkök ve B. Erdem, "Can food supplement produced from apilarnil be an alternative to testosterone replacement therapy", *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, c. 4, sayı 45, ss. 635-638, Ara. 2017.

[184] M. D. Finke, "Nutrient composition of bee brood and its potential as human food", *Ecology of Food and Nutrition*, c. 44, sayı 4, ss. 257-270, Tem. 2005.

[185] V. A. Isidorov, S. Bakier, ve M. Stocki, "GC-MS investigation of the chemical composition of honeybee drone and queen larvae homogenate", *Journal of Apicultural Science*, c. 60, sayı 1, ss. 111-120, Haz. 2016.

[186] S. Silici, "Chemical content and bioactive properties of drone larvae (Apilarnil)", *Mellifera*, c. 19, sayı 2, ss. 14-22, 2019.

[187] A. Meda, C. E. Lamien, J. Millogo, M. Romito, ve O. G. Nacoulma, "Therapeutic uses of honey and honeybee larvae in central Burkina Faso", *Journal of Ethnopharmacology*, c. 95, sayı 1, ss. 103-107, Kas. 2004.

[188] Yu. K. Vasilenko, O. V. Klimova, ve D. S. Lazaryan, "Biological effect of drone brood under chronic hyperlipidemia conditions", *Pharmaceutical Chemistry Journal*, c. 36, sayı 8, ss. 434-436, 2002.

[189] M. Kekeçoğlu, T. Çaprazlı, ve K. Ağan, "Erkek arı larvasının sağlık üzerine etkisi", *Kadirli Uygulamalı Bilimler Fakültesi Dergisi*, c. 1, sayı 2, ss. 139-153, 2021.

[190] N. A. Iliesiu, "A modern preparation of bees 'Apilarnil'", *Inf. Reg. Zrzesz. Pszczel. Apipol.*, c. 10, ss. 15-20, 1988.

[191] V. N. Iliescu, "Preparation based on medicinal plants, bee product, apilarnil and pollen", *Roma-nian Apicola*, c. 1, s. 8, 1993.

[192] D. Constantin, "Rezultate obpinute in tratamentul cu apilarnil potent a tulburarilar de dinamicamsexuale", *Romanian Apicultura*, c. 10, s. 21, 1989.

[193] K. S. Bolatovna, A. Rustenov, N. Eleuqalieva, T. Omirzak, ve U. K. Akhanov, "Improving reproductive qualities of pigs using drone brood homogenate", *Biology and Medicine*, c. 7, s. 2, 2015.

[194] K. B. Shoinbayeva, T. Omirzak, T. Bigara, A. Abubakirova, ve A. Dauylbay, "Biologically active preparation and reproductive function of stud rams", *Asian Journal of Pharmaceutics*, c. 11, sayı 3, ss. 184-191, 2017.

[195] T. M. Czuchraj, "Bee as much in this word", *In Beekeeping, Apitherapy and Phytotherapy in Human Hands; Pchelovod: Simferopol, Russia*, ss. 47-57, 2012.

[196] Z. Doğanyiğit, A. Okan, E. Kaymak, D. Pandır, ve S. Silici, "Investigation of protective effects of apilarnil against lipopolysaccharide induced liver injury in rats via TLR 4/ HMGB-1/ NF-κB pathway", *Biomedicine and Pharmacotherapy*, c. 125, May. 2020.

[197] C. V. Andritoiu, C. Lungu, M. Danu, B. Ivanescu, C. E. Andriescu, L. Vlase, C. Havarneanu, C. E. Iurciuc (Tincu), ve M. Popa, "Evaluation of the healing effect of ointments based on bee products on cutaneous lesions in Wistar rats", *Pharmaceuticals*, c. 14, sayı 11, s. 1146, Kas. 2021.

[198] C. V. Andritoiu, V. Andritoiu, G. I. Zonda, L. Foia, M. Carlan, ve M. Costuleanu, "Experimental treatment involving apitherapy in hereditary hemolytic anemia", *Romanian Journal of Medical and Dental Education*, c. 1, ss. 34-37, 2012.

[199] M. Hamamci, Z. Doganyigit, S. Silici, A. Okan, E. Kaymak, S. Yilmaz, A. Tokpinar, ve L. E. Inan, "Apilarnil: A novel neuroprotective candidate", *Acta Neurol Taiwan*, c. 29, sayı 2, ss. 33-45, 2020.

[200] E. Sidor, M. Miłek, M. Tomczyk, ve M. Dżugan, "Antioxidant activity of frozen and freeze-dried drone brood homogenate regarding the stage of larval development", *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, c. 10, sayı 5, Nis. 2021.

[201] A. Seres, "Sexual hormone effects of honeybee (Apis mellifera) drone milk in male and female rats", Szegedi Tudományegyetem, Szeged, Hungary, 2014.

[202] D. M. Kelly ve T. H. Jones, "Testosterone: a metabolic hormone in health and disease", *Journal of Endocrinology*, c. 217, sayı 3, ss. R25-R45, Haz. 2013.

[203] E. Sidor, M. Miłek, G. Zaguła, A. Bocian, ve M. Dżugan, "Searching for differences in chemical composition and biological activity of crude drone brood and royal jelly useful for their authentication", *Foods*, c. 10, sayı 9, Eyl. 2021.

[204] L. L. Ji ve S. Leichtweis, "Exercise and oxidative stress: Sources of free radicals and their impact on antioxidant systems.", *Age*, c. 20, sayı 2, ss. 91-106, Nis. 1997.

[205] H. J. Bello, A. Caballero-García, D. Pérez-Valdecantos, E. Roche, D. C. Noriega, ve A. Córdova-Martínez, "Effects of Vitamin D in Post-Exercise Muscle

Recovery. A Systematic Review and Meta-Analysis.", *Nutrients*, c. 13, sayı 11, Kas. 2021.

[206] P. B. Tomlinson, C. Joseph, ve M. Angioi, "Effects of vitamin D supplementation on upper and lower body muscle strength levels in healthy individuals. A systematic review with meta-analysis", *Journal of Science and Medicine in Sport*, c. 18, sayı 5, ss. 575-580, Eyl. 2015.

[207] C. Sale ve K. J. Elliott-Sale, "Nutrition and Athlete Bone Health.", *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, c. 49, sayı Suppl 2, ss. 139-151, Ara. 2019.

[208] Y. Zhang, P. Xun, R. Wang, L. Mao, ve K. He, "Can Magnesium Enhance Exercise Performance?", *Nutrients*, c. 9, sayı 9, Ağu. 2017.

[209] O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, ve R. J. Randall, "Protein measurement with the Folin phenol reagent", *The Journal of Biological Chemistry*, c. 193, sayı 1, ss. 265-275, Kas. 1951.

[210] R. Mărgăoan, L. Al MĂRGHITAŞ, D. S. Dezmirean, O. Bobiş, V. Bonta, C. Cătană, A. Urcan, C. I. Mureşan, ve M. G. Margin, "Comparative Study on Quality Parameters of Royal Jelly, Apilarnil and Queen Bee Larvae Triturate", *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, c. 74, sayı 1, ss. 1843-536, 2017.

[211] G. Sesta, "Determination of sugars in royal jelly by HPLC", *Apidologie*, c. 37, sayı 1, ss. 84-90, Oca. 2006.

[212] L.-I. BărnuĠiu, L. A. Mărghitaú, D. Dezmirean, O. Bobiú, C. Mihai, ve C. Pavel, "Physico-chemical composition of apilarnil (Bee drone larvae)", *Lucrări ùtiinĠifice-Seria Zootehnie*, c. 59, ss. 199-202, May. 2013.

[213] K. Y. Wonders, D. S. Hydock, C. M. Schneider, ve R. Hayward, "Acute exercise protects against doxorubicin cardiotoxicity", *Integrative Cancer Therapies*, c. 7, sayı 3, ss. 147-154, Eyl. 2008.

[214] A. Ascensão, J. Lumini-Oliveira, N. G. Machado, R. M. Ferreira, I. O. Gonçalves, A. C. Moreira, F. Marques, V. A. Sardão, P. J. Oliveira, ve J. Magalhães, "Acute exercise protects against calcium-induced cardiac mitochondrial permeability transition pore opening in doxorubicin-treated rats", *Clinical Science*, c. 120, sayı 1, ss. 37-49, Oca. 2011.

[215] Y. Shimizu, H. Hara, ve T. Hira, "Glucagon-like peptide-1 response to whey protein is less diminished by dipeptidyl peptidase-4 in comparison with responses to dextrin, a lipid and casein in rats", *The British Journal of Nutrition*, c. 125, sayı 4, ss. 398-407, Şub. 2021.

[216] A. Civan, T. Kececi, ve E. Cakmakci, "The effects of ginseng and exercise applications in sedentary individuals in women athletes on lipid hydroperoxide and nitric oxide", *Ovidius University Annals, Series Physical Education & Sport/Science, Movement & Health*, c. 10, sayı 2, ss. 774-777, 2010.

[217] L. J. Marnett, "Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde", *Mutation Research*, c. 424, sayı 1-2, ss. 83-95, Mar. 1999.

[218] H. M. Alessio, A. H. Goldfarb, ve R. G. Cutler, "MDA content increases in fast- and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat", *The American Journal of Physiology*, c. 255, sayı 6 Pt 1, ss. 874-877, Ara. 1988.

[219] M. Gul, B. Demircan, S. Taysi, N. Oztasan, K. Gumustekin, E. Siktar, M. F. Polat, S. Akar, F. Akcay, ve S. Dane, "Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart", *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, c. 143, sayı 2, ss. 239-245, 2006.

[220] K. Fisher-Wellman ve R. J. Bloomer, "Acute exercise and oxidative stress: A 30 year history", *Dynamic Medicine*, c. 8, sayı 1, s. 1, Ara. 2009.

[221] J. C. Quindry, W. L. Stone, J. King, ve C. E. Broeder, "The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress", *Medicine & Science in Sports & Exercise*, c. 35, sayı 7, ss. 1139-1145, Tem. 2003.

[222] S. Algul, S. Ugras, ve M. Kara, "Comparative evaluation of mda levels during aerobic exercise in young trained and sedentary male subjects", *Eastern Journal of Medicine*, c. 23, sayı 2, ss. 98-101, 2018.

[223] D. M. Bailey, B. Davies, ve I. S. Young, "Intermittent hypoxic training: Implications for lipid peroxidation induced by acute normoxic exercise in active men", *Clinical Science (London, England: 1979)*, c. 101, sayı 5, ss. 465-475, Kas. 2001.

[224] M. G. Tozzi-Ciancarelli, M. Penco, ve C. Di Massimo, "Influence of acute exercise on human platelet responsiveness: Possible involvement of exercise-induced oxidative stress", *European Journal of Applied Physiology*, c. 86, sayı 3, ss. 266-272, Oca. 2002.

[225] F. Marzatico, O. Pansarasa, L. Bertorelli, L. Somenzini, ve G. Della Valle, "Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes", *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, c. 37, sayı 4, ss. 235-239, Ara. 1997.

[226] K. Veera Reddy, T. Charles Kumar, M. Prasad, ve P. Reddanna, "Exercise-induced oxidant stress in the lung tissue: Role of dietary supplementation of vitamin E and selenium", *Biochemistry International*, c. 26, sayı 5, ss. 863-871, Nis. 1992.

[227] A. Rosignoli Da Conceição, K. A. Dias, S. Michelin Santana Pereira, L. C. Saraiva, L. Alves Oliveira, E. C. Gomes De Souza, R. Vilela Gonçalves, S. L. Pinto Da Matta, A. J. Natali, H. S. D. Martino, ve C. Mattos Della Lucia, "Protective effects of whey protein concentrate admixtured of curcumin on metabolic control, inflammation and oxidative stress in Wistar rats submitted to exhaustive exercise", *British Journal of Nutrition*, c. 127, sayı 4, ss. 526-539, Şub. 2022.

[228] M. Żebrowska-Gamdzyk, M. Maciejczyk, A. Zalewska, K. Guzińska-Ustymowicz, A. Tokajuk, ve H. Car, "Whey protein concentrate WPC-80 intensifies glycoconjugate catabolism and induces oxidative stress in the liver of rats", *Nutrients*, c. 10, sayı 9, s. 1178, Ağu. 2018.

[229] A. M. Özercan, "Whey proteini izolatının deneysel kronik pankreatit modelinde koruyucu etkilerinin araştırılması", Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi, Elazığ, 2015.

[230] G. Fisher, D. D. Schwartz, J. Quindry, M. D. Barberio, E. B. Foster, K. W. Jones, ve D. D. Pascoe, "Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress

following high-intensity interval exercise", *Journal of Applied Physiology*, c. 110, sayı 3, ss. 730-737, Mar. 2011.

[231] K. Sahlin, K. Ekberg, ve S. Cizinsky, "Changes in plasma hypoxanthine and free radical markers during exercise in man", *Acta Physiologica Scandinavica*, c. 142, sayı 2, ss. 275-281, Haz. 1991.

[232] T. Ashton, C. C. Rowlands, E. Jones, I. S. Young, S. K. Jackson, B. Davies, ve J. R. Peters, "Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise", *European Journal of Applied Physiology*, c. 77, sayı 6, ss. 498-502, May. 1998.

[233] P. M. Tiidus, J. Pushkarenko, ve M. E. Houston, "Lack of antioxidant adaptation to short-term aerobic training in human muscle", *The American Journal of Physiology*, c. 271, sayı 4 Pt 2, ss. R832-836, Eki. 1996.

[234] L. Rokitzki, E. Logemann, A. N. Sagredos, M. Murphy, W. Wetzel-Roth, ve J. Keul, "Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress", *Acta Physiologica Scandinavica*, c. 151, sayı 2, ss. 149-158, Haz. 1994.

[235] P. Tauler, I. Gimeno, A. Aguiló, M. P. Guix, ve A. Pons, "Regulation of erythrocyte antioxidant enzyme activities in athletes during competition and short-term recovery", *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, c. 438, sayı 6, ss. 782-787, Kas. 1999.

[236] T. Thirumalai, S. V. Therasa, E. Elumalai, ve E. David, "Intense and exhaustive exercise induce oxidative stress in skeletal muscle", *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, c. 1, sayı 1, ss. 63-66, Mar. 2011.

[237] P. Tauler, A. Aguiló, I. Gimeno, P. Guix, J. A. Tur, ve A. Pons, "Different effects of exercise tests on the antioxidant enzyme activities in lymphocytes and neutrophils", *The Journal of Nutritional Biochemistry*, c. 15, sayı 8, ss. 479-484, Ağu. 2004.

[238] M. D. Ferrer, P. Tauler, A. Sureda, J. A. Tur, ve A. Pons, "Antioxidant regulatory mechanisms in neutrophils and lymphocytes after intense exercise", *Journal of Sports Sciences*, c. 27, sayı 1, ss. 49-58, Oca. 2009.

[239] J. Viña, M. C. Gomez-Cabrera, A. Lloret, R. Marquez, J. B. Miñana, F. V Pallardó, ve J. Sastre, "Free radicals in exhaustive physical exercise: Mechanism of production, and protection by antioxidants", *IUBMB Life*, c. 50, sayı 4-5, ss. 271-7, 2000.

[240] P. M. Clarkson, "Antioxidants and physical performance", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, c. 35, sayı 1-2, ss. 131-141, Oca. 1995.

[241] I. Manna, K. Jana, ve P. K. Samanta, "Intensive swimming exercise-induced oxidative stress and reproductive dysfunction in male wistar rats: Protective role of alpha-tocopherol succinate", *Canadian Journal of Applied Physiology = Revue Canadienne de Physiologie Appliquee*, c. 29, sayı 2, ss. 172-185, Nis. 2004.

[242] K. Higashida, S. H. Kim, M. Higuchi, J. O. Holloszy, ve D.-H. Han, "Normal adaptations to exercise despite protection against oxidative stress", *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, c. 301, sayı 5, ss. 779-784, Kas. 2011.

[243] A. Ayala, M. F. Muñoz, ve S. Argüelles, "Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, c. 2014, s. 360438, 2014.

[244] K. Aoyama ve T. Nakaki, "Inhibition of GTRAP3-18 may increase neuroprotective glutathione (GSH) synthesis", *International Journal of Molecular Sciences*, c. 13, sayı 12, ss. 12017-12035, Eyl. 2012.

[245] F. K. Haraguchi, M. E. Silva, L. X. Neves, R. C. Dos Santos, ve M. L. Pedrosa, "Whey protein precludes lipid and protein oxidation and improves body weight gain in resistance-exercised rats", *European Journal of Nutrition*, c. 50, sayı 5, ss. 331-339, Ağu. 2011.

[246] R. Zimmer, "Whey protein-The role of protein supplementation in resistance training publication date", *Nutrition Bytes*, c. 10, sayı 2, May. 2005.

[247] R. Xu, N. Liu, X. Xu, ve B. Kong, "Antioxidative effects of whey protein on peroxide-induced cytotoxicity", *Journal of Dairy Science*, c. 94, sayı 8, ss. 3739-3746, Ağu. 2011.

[248] G. D. Wadley, M. A. Nicolas, D. S. Hiam, ve G. K. McConell, "Xanthine oxidase inhibition attenuates skeletal muscle signaling following acute exercise but does not impair mitochondrial adaptations to endurance training", *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, c. 304, sayı 8, ss. 853-862, Nis. 2013.

[249] S. Sorichter, B. Puschendorf, ve J. Mair, "Skeletal muscle injury induced by eccentric muscle action: Muscle proteins as markers of muscle fiber injury", *Exercise Immunology Review*, c. 5, ss. 5-21, 1999.

[250] M. B. Cooke, E. Rybalka, C. G. Stathis, P. J. Cribb, ve A. Hayes, "Whey protein isolate attenuates strength decline after eccentrically-induced muscle damage in healthy individuals", *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, c. 7, s. 30, Eyl. 2010.

[251] F. Turgay, H. İşlekel, O. Karamızrak, H. T. Sessiz, ve Ş. Acarbay, "Aerobik ve anaerobik eşik hızlarında yapılan iki değişik steady-State egzersizin serum CK ve LDH aktiviteleri üzerine etkileri", *Spor Hekimliği Dergisi*, c. 35, ss. 35-49, 2000.

[252] J. Viña, A. Gimeno, J. Sastre, C. Desco, M. Asensi, F. V Pallardó, A. Cuesta, J. A. Ferrero, L. S. Terada, ve J. E. Repine, "Mechanism of free radical production in exhaustive exercise in humans and rats; role of xanthine oxidase and protection by allopurinol", *IUBMB Life*, c. 49, sayı 6, ss. 539-544, Haz. 2000.

[253] M. Malaguti, C. Angeloni, N. Garatachea, M. Baldini, E. Leoncini, P. S. Collado, G. Teti, M. Falconi, J. Gonzalez-Gallego, ve S. Hrelia, "Sulforaphane treatment protects skeletal muscle against damage induced by exhaustive exercise in rats", *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, c. 107, sayı 4, ss. 1028-1036, Eki. 2009.

[254] K. R. Teixeira, M. E. Silva, W. G. de Lima, M. L. Pedrosa, ve F. K. Haraguchi, "Whey protein increases muscle weight gain through inhibition of oxidative effects induced by resistance exercise in rats", *Nutrition Research*, c. 36, sayı 10, ss. 1081-1089, Eki. 2016.

[255] J. Farup, S. K. Rahbek, I. S. Knudsen, F. de Paoli, A. L. Mackey, ve K. Vissing, "Whey protein supplementation accelerates satellite cell proliferation during recovery from eccentric exercise", *Amino Acids*, c. 46, sayı 11, ss. 2503-2516, Kas. 2014.

[256] C.-C. Huang, T. Wang, Y.-T. Tung, ve W.-T. Lin, "Effect of exercise training on skeletal muscle SIRT1 and PGC-1α expression levels in rats of different age.", *International Journal of Medical Sciences*, c. 13, sayı 4, ss. 260-270, 2016.

[257] A. P. Russell, J. Feilchenfeldt, S. Schreiber, M. Praz, A. Crettenand, C. Gobelet, C. A. Meier, D. R. Bell, A. Kralli, J.-P. Giacobino, ve O. Dériaz, "Endurance training in humans leads to fiber type-specific increases in levels of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in skeletal muscle", *Diabetes*, c. 52, sayı 12, ss. 2874-2881, Ara. 2003.

[258] A. P. Russell, M. K. C. Hesselink, S. K. Lo, ve P. Schrauwen, "Regulation of metabolic transcriptional co-activators and transcription factors with acute exercise.", *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, c. 19, sayı 8, ss. 986-988, Haz. 2005.

[259] B. J. Gurd, "Deacetylation of PGC-1a by SIRT1: Importance for skeletal muscle function andexercise-induced mitochondrial biogenesis", *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, c. 36, sayı 5. ss. 589-597, Ekim 2011.

[260] S. Lensu, S. P. Pekkala, A. Mäkinen, N. Karstunen, A. T. Turpeinen, J. J. Hulmi, M. M. Silvennoinen, H. Ma, U. M. Kujala, S. Karvinen, L. G. Koch, S. L. Britton, ve H. Kainulainen, "Beneficial effects of running and milk protein supplements on Sirtuins and risk factors of metabolic disorders in rats with low aerobic capacity", *Metabolism Open*, c. 4, s. 100019, Ara. 2019.

[261] J. M. Peake, O. Neubauer, P. A. Della Gatta, ve K. Nosaka, "Muscle damage and inflammation during recovery from exercise", *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, c. 122, sayı 3, ss. 559-570, Mar. 2017.

[262] S. Adler, W. Olsen, B. Rackerby, R. Spencer, ve D. C. Dallas, "Effects of whey protein supplementation on inflammatory marker concentrations in older adults", *Nutrients*, c. 15, sayı 18, s. 4081, Eyl. 2023.

[263] K. Prokopidis, M. Mazidi, R. Sankaranarayanan, B. Tajik, A. McArdle, ve M. Isanejad, "Effects of whey and soy protein supplementation on inflammatory cytokines in older adults: A systematic review and meta-analysis", *The British Journal of Nutrition*, c. 129, sayı 5, ss. 759-770, Mar. 2023.

[264] R. Celik, M. S. Kaymakci, D. Akalin, E. Karademir, B. Tuncer, G. Bicim, A. M. Yilmaz, ve A. Suha Yalcin, "Effect of casein and whey proteins on examination stress", *Marmara Medical Journal*, c. 32, sayı 2, ss. 58-61, May. 2019.

[265] B. J. McKinlay, A. Theocharidis, T. Adebero, N. Kurgan, V. A. Fajardo, B. D. Roy, A. R. Josse, H. M Logan-Sprenger, B. Falk, ve P. Klentrou, "Effects of post-exercise whey protein consumption on recovery indices in adolescent swimmers", *International Journal of Environmental Research and Public Health*, c. 17, sayı 21, s. 7761, Eki. 2020.

[266] R. A. Muluye, Y. Bian, L. Wang, P. N. Alemu, H. Cui, X. Peng, ve S. Li, “Placenta peptide can protect mitochondrial dysfunction through inhibiting ROS and TNF-α generation, by maintaining mitochondrial dynamic network and by increasing IL-6 level during chronic fatigue”, *Frontiers in Pharmacology*, c. 7, s. 328, Eyl. 2016.

[267] J. J. McCarthy, J. Mula, M. Miyazaki, R. Erfani, K. Garrison, A. B. Farooqui, R. Srikuea, B. A. Lawson, B. Grimes, C. Keller, G. Van Zant, K. S. Campbell, K. A. Esser, E. E. Dupont-Versteegden, ve C. A. Peterson, “Effective fiber hypertrophy in satellite cell-depleted skeletal muscle”, *Development*, c. 138, sayı 17, ss. 3657-3666, Eyl. 2011.

8. EKLER

8.1. EK 1: ETİK KURUL BELGESİ

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ / DÜZCE UNIVERSITY

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI
LOCAL ETHICS COMMITTEE PRESIDENCY ON ANIMAL TESTINGS

ETİK KURUL BAŞVURU KARARI / ETHICS COMMITTEE'S DECISION ON APPLICATION

Doç. Dr. Meral KEKEÇOĞLU tarafından kurulumuza sunulan **"Akut Egzersiz Yaptırılan Ratlarda Erkek Arı Larvası Takviyesinin Kas Hasarı Üzerine Etkisinin Araştırılması"** isimli araştırma başvuru projesi etik yönden değerlendirilmiş olup; yönergemiz ilkelerine göre proje etiği açısından "**UYGUN OLDUĞUNA**" oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile karar verilmiştir.

The research project entitled **"Investigation of the Effect of Drone Larvae Supplementation on Muscle Damage in Rats Undergoing Acute Exercise"** submitted to our committee by **Assoc. Prof. Dr. Meral KEKEÇOĞLU** has been evaluated. According to the principles stated in our directive and the related ethical standards and codes, it has been decided unanimously / ~~by majority vote~~ that the research project is appropriate to be conducted.

Toplantı Tarihi / Meeting Date: 21.12.2022
Karar No / Decisions No: 2022/12/02

Unvan / Title, Adı / Name, Soyadı / Surname, Görevi / Position	Karar / Decision	İmza / Signature
Assoc.Prof.Dr. Merve ALPAY Başkan / Chairman	Uygundur / Appropriate	
Prof.Dr. Şerif DEMİR Başkan Vekili / Deputy Chairman	Uygundur / Appropriate	
Ali GÖK Veteriner Hekim / Veterinary Physician	Uygundur / Appropriate	
Assoc.Prof.Dr. Murat KABAKLIOĞLU Üye / Member	Uygundur / Appropriate	
Assoc.Prof.Dr. Akif KETEN Üye / Member	Uygundur / Appropriate	
Assoc.Prof.Dr. Emel ÇALIŞKAN Üye / Member	Uygundur / Appropriate	
Assoc.Prof.Dr. Meral KEKEÇOĞLU Üye / Member	Araştırmacıdır / Researcher	----------
Prof.Dr. Şengül CANGÜR Üye / Member	Uygundur / Appropriate	
Assoc.Prof.Dr. Pınar GÖÇ RASGELE Üye /Member	Uygundur / Appropriate	
Dr. Recep ERGÜL Sivil Üye / Civil Member	Uygundur / Appropriate	
Aykut EKİNCİ STK Üyesi / CSO Member	Uygundur / Appropriate	

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER:

Adı Soyadı : Cemre BAŞOL

Yabancı Dili : İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Doktora	Doğal, Bitkisel ve Kozmetik Ürünler	Düzce Üniversitesi	2024
Y. Lisans	Farmakoloji Anabilim Dalı	Ege Üniversitesi	2020
Lisans	Biyomühendislik	Ege Üniversitesi	2017
Lise	Fen Bilimleri	Buca Anadolu Lisesi	2012