

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA FARKLI KOŞU HIZLARININ
ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ VE
AGREGASYONUNA ETKİSİ**

Dr. AYÇA TOPÇU

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Cem Şeref BEDİZ

İZMİR, 2007

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA FARKLI KOŞU HIZLARININ
ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ VE
AGREGASYONUNA ETKİSİ**

Dr. AYÇA TOPÇU

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Cem Şeref BEDİZ

Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından 2006.KB.SAG.032 sayı
ile desteklenmiştir

İÇİNDEKİLER

TABLolar LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET	1
SUMMARY	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. HEMOREOLOJİ-KANIN AKIŞKANLIK ÖZELLİKLERİ	5
2.1.1. TAM KAN VİSKOZİTESİ	5
2.1.1.1. Plazma Viskozitesi	6
2.1.1.2. Hematokrit	6
2.1.1.3. Kayma Stresi ve Kayma Hızı	7
2.1.1.4. Eritrosit Deformabilitesi	7
2.1.1.5. Eritrosit Agregasyonu	9
2.1.1.6. Fibrinojen Konsantrasyonu	10
2.1.1.7 Sıcaklık	10
2.1.2. ERİTROSİT REOLOJİK ÖZELLİKLERİNE ETKİLİ FAKTÖRLER	11
2.1.2.1. pH'nın Etkisi	11
2.1.2.2. Proteinlerin ve Yağların Etkisi	11
2.1.2.3. Minerallerin Etkisi	11
2.1.2.4. Hormon ve Otokoidlerin Etkisi	12
2.1.3. HASTALIKLAR VE HEMOREOLOJİ İLİŞKİSİ	12
2.1.4 EGZERSİZ VE HEMOREOLOJİ	13
2.1.4.1. Fiziksel Egzersizin Hemoreolojik Etkileri	13
2.1.4.2. Süre antrenman ve hemoreoloji	15
2.2. SERBEST RADİKALLER	15
2.2.1. SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI	16
2.2.1.1. Endojen Kaynaklar	16
2.2.1.2. Ekzojen Kaynaklar	16
2.2.3. SERBEST RADİKALLER İLE OLUŞAN HÜCRESEL HASARLAR	17
2.2.4. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	17
2.2.5. OKSİDAN STRES	18
2.2.5.1. Oksidan Stres ve Eritrositler	18
2.2.5.2. Oksidan Stres ve Egzersiz	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. DENEY HAYVANLARI	21
3.2. EGZERSİZ DÜZENİ	21
3.2.1. EGZERSİZ PROGRAMLARI	22
3.3. KAN ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI	22
3.3.1. HEMOREOLOJİK ANALİZLER	22
3.3.1.1. Eritrosit Deformabilite Ölçümü	22
3.3.1.2. Eritrosit Agregasyon Ölçümü	24
3.3.2. BİYOKİMYASAL ANALİZLER	26
3.3.2.1. Laktat Ölçümü	26
3.3.2.1. Eritrosit Paketleme	26
3.3.2.2. Eritrositte MDA (Malondialdehid) ölçümü	26
3.3.2.3. Plazma SH (Sülhidril) ölçümü	27
3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	27

4. SONUÇLAR.....	28
5. TARTIŞMA.....	37
5.1. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ.....	37
5.2. ERİTROSİT AGREGASYONU.....	38
5.3. LAKTAT.....	39
5.4. MDA VE SH DÜZEYLERİ.....	39
5.5. LAKTAT DÜZEYLERİNİN HEMOREOLOJİK ÖZELLİKLERE ETKİSİ.....	40
5.6. OKSİDAN STRESİN HEMOREOLOJİK ÖZELLİKLERE ETKİSİ.....	42
6. KAYNAKLAR.....	45

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Kontrol (K), ve 10 m/dk (A ₁₀), 15 m/dk (A ₁₅), 20 m/dk (A ₂₀), 25 m/da (A ₂₅) hızlarda koşan sıçanların koşu öncesi ağırlıkları (Ortalama±standart sapma)	29
Tablo 2. Kontrol (K), ve 10 m/dk (A ₁₀), 15 m/dk (A ₁₅), 20 m/dk (A ₂₀), 25 m/da (A ₂₅) hızlarda koşan sıçanların 0,3-30 Pa arası 9 farklı kayma hızlarındaki elongasyon indeksleri (ortalama ± standart sapma) (Elongasyon indeksleri x 1000 olarak sunulmuştur)	29
Tablo 3. Kontrol (K), ve 10 m/dk (A ₁₀), 15 m/dk (A ₁₅), 20 m/dk (A ₂₀), 25 m/da (A ₂₅) hızlarda koşan sıçanların agregasyon indeksleri (AI) ve agregasyon yarılanma zamanı (t _{1/2}) (ortalama ± standart sapma)	30
Tablo 4. Kontrol (K), ve 10 m/dk (A ₁₀), 15 m/dk (A ₁₅), 20 m/dk (A ₂₀), 25 m/da (A ₂₅) hızlarda koşan sıçanların laktat, sülfhidril (SH) ve malondialdehit (MDA) değerleri (ortalama ± standart sapma)	30
Tablo 5. A ₁₅ ve A ₂₀ gruplarında ölçülen değişkenler arasındaki anlamlı korelasyonlar “r” değeri olarak verilmiştir	30
Tablo 6. Dolaşım sisteminde farklı damarlarda kanın maruz kaldığı kayma stresleri	38

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Sağda, LORCA tekniğinde farklı kayma hızlarında şekil değiştiren eritrositlerin lazer ışığını kırmalarıyla oluşturulmuş görüntüleri yer almaktadır. Solda, her bir kayma hızı için belirlenen eliptik eritrosit görüntüsünün bilgisayar tarafından ölçülen “A” ve “B” çapları ve bu çaplardan hesaplanan elongasyon indeksleri görülmektedir [109].....	23
Şekil 2. Agregasyon ölçümü sırasında kaydedilen bir silektogramın şematik görüntüsünde önce yüksek hızda, sonra durdurulduğunda elde edilen kayıt değişimi izlenmektedir. Bu kayıttan matematiksel olarak AI hesaplaması yapılmaktadır [109].	25
Şekil 3. 0,3 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.	31
Şekil 4. 0,53 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri	31
Şekil 5. 0,95 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.	32
Şekil 6. 1,69 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.	32
Şekil 7. 3,0 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.	33
Şekil 8. 5,33 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.	33
Şekil 9. 9,49 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.	34
Şekil 10. 16,87 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.	34
Şekil 11. 30,0 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.	35
Şekil 12. Grupların deney sonrası kan laktat düzeyleri.....	35
Şekil 13. Grupların deney sonrası kan sülfhidril (SH) düzeyleri.	36

KISALTMALAR

G3PD	: Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
PUFA	: Yan bağlı çoklu doymamış yağ asidi
MDA	: Malondialdehit
SH	: Sülfhidril
SOD	: Süperoksit dismutaz
GPX	: Glutasyon peroksidaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
PVP	: Polivinilpirolidon
LORCA	: Laser Optical Rotational Cell Analyser
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotid
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
GSSG	:Okside glutasyon
EI	: Elongasyon indeksi
AI	: Agregasyon indeksi
T1/2	: Eritrositlerim kümeleşme yarı zamanı
Amp	: Eritrosit agregat büyüklüğü
DTNB	5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)

ÖZET

SIÇANLARDA FARKLI KOŞU HIZLARININ ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ VE AGREGASYONUNA ETKİSİ

Dr. Ayça Topçu, DEÜTF Fizyoloji AD, İZMİR

Oksijen ihtiyacının karşılanması için kan akımının sağlıklı sürmesi gereklidir. Kanın akışkanlığını plazma içeriği ve kanın hücrelerinin, özellikle eritrositlerin akım sırasındaki davranış özellikleri etkiler. Egzersizde eritrositler yapısal, işlevsel ve biyokimyasal olarak etkilenirler. Bu çalışmada sıçanlarda farklı koşu hızlarında eritrositlerin deformabilite ve agregasyonlarının nasıl etkilendikleri ve bu etkilenmenin laktat yükselmesi ve oksidan stres ile ilişkisi olup olmadığı araştırılmıştır.

Yirmiiki haftalık 32 adet erkek Wistar Albino sıçana 10, 15, 20 ve 25 m/dakika hızlarda 1 saat akut koşu bandı egzersizi yaptırılmıştır. Egzersiz biter bitmez, kan örnekleri alınmış ve hemoreolojik ve biyokimyasal incelemeler yapılmıştır. Eritrosit deformabilite ve agregasyonu, laktat, eritrosit malondialdehit ve plazma sülfhidril düzeyleri ölçülmüştür. Sonuçlar tek yönlü varyans analizi ve Kruskal-Wallis kullanılarak değerlendirilmiştir.

Eritrosit deformabilitelerinin, 10 ve 15 m/dk hızda koşan sıçanlarda, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düştüğü bulunmuştur. Agregasyon indeksi, agregasyon yarı zamanı ve agregat büyüklüğü kontrol grubu ile koşan gruplar arasında farklı bulunmamıştır. 15 m/dk ve yukarısı hızlarda koşan gruplarda laktat düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.01$). Laktat yükselmesinin koşu hızı ile doğru orantılı olduğu gözlenmiştir. Koşan sıçanlarda SH düzeyleri kontrollere göre yüksektir. Kontrol grubu ve koşan grupların MDA düzeyleri arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada eritrosit deformabilitesinin egzersizle azaldığı gözlenmiştir. Eritrositlerin agregasyonunda değişiklik saptanmamıştır. Laktat düzeylerinde artış olduğu ve bu artışın eritrosit deformabilitesindeki azalmayla negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. MDA düzeylerinde gruplar arasında farklılık bulunmamıştır.

Anahtar sözcükler: egzersiz, hemoreoloji, oksidan stres, laktat

SUMMARY

THE EFFECTS OF DIFFERENT RUNNING VELOCITIES ON ERYTHROCYTE DEFORMABILITY AND AGGREGATION IN RATS

Dr. Ayça Topçu, DEÜTF Fizioloji AD, İZMİR

Content of the plasma and properties of the blood cells, especially erythrocytes play an important role in fluidity of the blood in adequate blood supply. It was reported that acute exercise affects structure, function and chemistry of the erythrocytes. In the present study, the effect of different running velocities on erythrocyte deformability and aggregation and the role of lactate and oxidant stress in rats were investigated.

Thirty-two adult male Wistar Albino rats were used in the study. Rats were divided into 4 running groups and a control group. Running speeds were 10, 15, 20, and 25 m/min. Following a one-hour run, rats were sacrificed. Erythrocyte deformability and aggregation, plasma lactate, SH and erythrocyte MDA levels were investigated. Results were analysed by one way ANOVA and post-hoc Kruskal-Wallis.

Erythrocyte deformability decreased significantly in rats that runned in 10 and 15 m/min velocities. There were no significant difference in aggregation. Lactate levels of running groups were significantly higher than those of controls ($P<0.01$). Lactate rise was proportional to the running velocity. SH levels of the exercise groups were higher than those of controls. No significant change were observed in MDA levels in running groups.

Consequently, erythrocyte deformability was decreased after the exercise. Erythrocyte aggregation did not change in the running groups. Lactate levels were significantly rised and they had a negative correlation with erythtocyte deformability. MDA levels were not different among groups.

Key words: exercise, hemorheology, oxidant stress, lactate

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Egzersiz insanlar üzerindeki etkisini araştıran alışmalar spor hekimliğinin kurucusu olarak kabul edilen Galen'e kadar geri gitmektedir. Sportif başarının artırılması yanında hastalıkların tedavisi ve sağlığın kazanılmasında egzersizin kullanılması, egzersizin insan vucudunda neden olduğu değişiklikleri bilmeyi zorunlu hale getirmiştir. Antik ağlardan başlayan bu bilme ihtiyacı, aradan geçen bu kadar uzun zamana rağmen sönmemiş, yapılan onbinlerce araştırmayla kitaplar dolusu bilgi ortaya çıkarken, bir yandan da bilinenlerden çok daha fazla bilinmeyenlerin olduğu fark edilmiştir. Araştırma tekniklerinin hızla ilerlemesi, hüresel, moleküler ve biyokimyasal araştırma yöntemlerinin gelişmesi ile bilindiği düşünölen konularda bile neden sonuç ilişkilerinin daha alt temellerini araştırma olanağı doğmuştur. Egzersiz araştırmalarında hayvan çalışmalarının önemi tartışılmaz derecede büyüktür. Sağlık ve etik kısıtlamalar nedeniyle insanlar üzerinde yapılamayan araştırmalar deney hayvanları üzerinde yapılmış ve bu çalışmaların sonuçları ile edinilen bilgiler, insanlar üzerinde başarıyla kullanılmıştır. Ancak araştırmalar daha ayrıntılı düzeye indikçe, türler arasında hüresel ya da hücre altı düzeyde olan farklılıklar biraz daha keskinleşmektedir. Deney hayvanı araştırmalarından elde edilen bilgilerden yola çıkıp insanlarla ilgili sonuçlara tahmin yoluyla ulaşma (ekstrapolasyon) eskisi kadar kolay olmamaktadır. Ancak sadece insanlar üzerinde çalışmak yine de yeterli ve sağlıklı bilgiye ulaşmaya yetmemektedir. İnsan çalışmalarındaki sağlık ve etik kısıtlılıkları bir yana, insanlar arasındaki bireysel farklılıklar egzersize verilen cevaplarda, kimi araştırmalarda ciddi farklılıklar göstermektedir. Bu yüzden standart yetiştirilmiş hayvanlarda beklenen cevaplar daha benzer olduğu için, bu hayvanlarda yapılan çalışmalara bir süre daha önemli ihtiyaç olduğu görölmektedir.

Doku oksijenlenmesinin sağlanması ve egzersiz gibi koşullarda artan oksijen ihtiyacının karşılanması için kan akımının sağlıklı bir şekilde sürmesi gereklidir. Kan akımının sağlıklı sürdürölmesi ise kana akış ivmesini kazandıran kalbin pompa gücünün yanında, kanın akışkanlığını etkileyen plazma içeriği ve kanın hücrelerinin özelliklerine de bağlıdır. Özellikle eritrositler kan hacminin yarısını kapladıklarından akım sırasındaki özellikleri kan akımının sağlanması büyük önem taşımaktadır. Akut egzersizde eritrositlerin yapısal, işlevsel ve biyokimyasal olarak etkilendikleri insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Ancak hem insan hem de hayvan çalışmalarında birbirine benzemeyen sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmalardaki en önemli metodolojik farklılıklardan birinin uygulanan egzersiz modeli ve şiddeti olduğu göze çarpmaktadır. Özellikle egzersiz şiddeti değiştikçe, enerji metabolizması ve

yan ürünleri değişmekte ve buna bağlı olarak egzersize olan diğer fizyolojik yanıtlar etkilenmektedir.

Bu çalışmada sıçanlarda farklı koşu hızlarında eritrositlerin şekil değiştirebilme (deformabilite) ve küme oluşturma (agregasyon) zelliklerinin nasıl etkilendikleri ve bu etkilenmenin egzersiz ile ortaya çıkan laktat yükselmesi ve oksidan stres ile ilişkisi olup olmadığı araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. HEMOREOLOJİ-KANIN AKIŞKANLIK ÖZELLİKLERİ

İnsan vücudunda dokuların ihtiyacı olan oksijeni sağlamak ve metabolik atıklardan karbondioksiti uzaklaştırmak kan dolaşımının görevidir. Yeterli kan dolaşımının sağlanması için kalbin pompa gücü ve büyük damarların basıncı ile en uygun kan debisinin sağlanması gerekir. Ancak kalbin ve büyük damarların yeterli kan debisini sağlaması periferik dokuların yeterince kan aldığını göstermez. En uç dokulara kadar kanın yeteri kadar ulaşması için periferik dolaşımın, diğer bir deyişle mikro dolaşımın sağlanması gerekir. Aslında dokuların kanla alışverişlerini yaptığı, temasta olduğu yer de periferik dolaşım sistemidir. Periferik dolaşımı sağlayan damarlar, çaplarının küçüklüğü nedeniyle, dolaşıma karşı bir direnç oluştururlar. Ancak vasküler ağaçta kan akımına karşı gelişen total periferal direnç, sadece direnç damarlarının çapıyla değil aynı zamanda kanın akıcılık özellikleriyle de belirlenir. Bu akıcılık özelliklerini kanın reolojik davranışları oluşturur [1].

Bir fizik terimi olan reoloji, uygulanan kuvvetler altında maddelerin hareket ve şekil değişikliklerinin incelenmesi anlamına gelmektedir. Kan dolaşımı sırasında kanın sıvı kısmı, kan hücreleri hatta damar duvarları kan akımının oluşturduğu kuvvetlere maruz kalırlar. Bu kuvvetler dolaşım sistemin farklı yerlerinde farklı büyüklüktedir. Bu kuvvetlere maruz kalan yapıların dolaşımı etkileyebilecek bazı değişikliklere uğraması kaçınılmazdır. Bu değişiklikleri incelemek hemoreolojinin konusudur. Hemoreoloji, canlı organizma içinde kanın, kan hücrelerinin ve damarların işlevlerini ve birbirleriyle olan etkileşimlerini inceler. Mikrodolaşımın özelliklerini fiziksel, kimyasal ve biyolojik yönlerden değerlendiren bir araştırma alanıdır. Bu alanda makroskobik incelemeler kadar mikroskobik ve submikroskobik incelemeler de kullanılmaktadır.

Kanın reolojik davranışları birbiri ile karşılıklı bağlantılı çeşitli faktörlerle düzenlenir. Tam kan viskozitesi, plazma viskozitesi, hematokrit, eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu, fibrinojen konsantrasyonu bunların içinde en önemli olanlarıdır.

2.1.1. TAM KAN VİSKOZİTESİ

Kan viskozitesi kanın damarlar içindeki davranışını ve akış kolaylığını gösteren genel bir ölçüdür. Viskozite ne kadar yüksekse kan o kadar yavaş akar. Örneğin kanın viskozitesi sudan daha yüksektir. Bu nedenle kanın, akışı sırasında iç tabakalara sürtünmesi daha fazla olur. Bir sıvının iç sürtünmesi ne kadar fazla ise akış hızı da o ölçüde yavaş olur. Farklı sıvılar farklı

viskozitelere ve farklı iç sürtünmelere sahip olduklarından aynı kuvvet uygulandığında her biri farklı hızlarda akarlar. Diğer sıvılarda olduğu gibi, kan, kendisine bir kuvvet uygulandığında akar. İnsan vücudunda kan akım hızı her noktada aynı değildir. Ayrıca, daha sonra açıklanacağı gibi, kanın viskozitesi de her yerde aynı değildir. Tam kan viskozitesini belirleyen faktörler şöyle sıralanabilir:

1. Plazma viskozitesi
2. Hematokrit
3. Kayma stresi ve kayma hızı
4. Eritrosit deformabilitesi
5. Eritrosit agregasyonu
6. Fibrinojen konsantrasyonu
7. Sıcaklık

2.1.1.1. Plazma Viskozitesi

Tam kan viskozitesinin esas belirleyicilerinden biridir. Tüm diğer faktörler sabit iken plazma viskozitesindeki bir artış tam kan viskozitesini artırır. Plazma protein konsantrasyonundaki artış, plazma viskozitesini artırır. Ancak proteinlerin şekil ve boyutlarına bağlı olarak farklı proteinlerin plazma viskozitesi üzerine etkileri farklıdır. Plazma fibrinojen ve globulinleri ile plazma viskozitesi arasında yüksek bir korelasyon olduğu bildirilmiştir; ancak albuminin viskozite üzerine etkisi henüz çok açık belirlenememiştir [2]. Makroglobulinemi [3] ve hiperfibrinojenemi [2] gibi patolojik durumlarda plazma viskozitesinin arttığı bildirilmektedir.

2.1.1.2. Hematokrit

Tam kan içinde eritrositlerin hacminin yüzdesi hematokrit olarak bilinir. Kan viskozitesi ile hematokrit arasında logaritmik doğrusal bir ilişki olduğu bilinmektedir; ancak bu doğrusallık sadece hematokrit % 20 ile 60 arasında iken mevcuttur. Bu oranların dışında, hematokrit arttıkça kan viskozitesi orantısız olarak yükselir. Eğer akış hızı az ise hematokrit artışı ile ortaya çıkan viskozite yükselişi daha fazla olur. Bu duruma “Chien'in etkili hücre hacmi görüşü” adı verilir [4]. Düşük kayma hızlarında eritrosit konsantrasyonundaki artış bu hücreleri agregasyona yönlendirir. Bu durumda etkili hücre hacmi ve buna bağlı olarak da kan viskozitesi yükselir. Yüksek kayma hızlarında ise eritrosit konsantrasyonundaki azalış eritrositleri daha fazla

deformasyona yönlendirir. Bu sayede etkili hücre hacmi azalarak, viskozitedeki hücre artışına bağlı yükselişi kompanse eder [4].

2.1.1.3. Kayma Stresi ve Kayma Hızı

Kan gibi bir sıvının viskozitesini ölçmek için belli bir hacimdeki sıvıya bilinen ölçüde bir kuvvet uygulanması gerekir. Sıvıya uygulanan kuvvete kayma stresi (*shear stress*) denir. Bir sıvıda akışı başlatmak için gerekli en küçük kayma stresi uygulandığında ortaya çıkan akış hızına kayma hızı (*shear rate*) ismi verilir. Böylece sıvıya belli bir kuvvet uygulandığında kuvvetle orantılı olarak belirli bir akış hızı ortaya çıkar [5]. Matematiksel olarak viskozite, kayma stresinin kayma hızına bölünmesine eşittir. Viskozite ne kadar yüksekse belirli bir kayma hızı elde etmek için gereken kayma stresi de o kadar fazladır. Başka bir deyişle, viskozite ne kadar yüksekse uygulanan stres ile oluşturulan kayma hızı o kadar düşük olur. Viskozite kavramı Newton'un “ bir sıvının daha hızlı akması için ona daha fazla kuvvet uygulamak gerekir” kuramına dayanır. Bu nedenle bir sıvının viskozitesi aynı kaldığı sürece kayma hızı, kaydırıcı kuvvet (kayma stresi) ile orantılıdır. Ancak bu durum sadece Newtoniyen sıvılar için geçerlidir. Su ve yağların çoğu Newtoniyen sıvılardır. Kayma hızları değişse bile bu sıvıların viskozitesi değişmez. Bu yüzyılın başında sudan farklı olarak tam kan gibi bazı sıvıların Newtoniyen olmadığı gösterilmiştir. Bu sıvılarda kayma stresinin, kayma hızına oranı akımın hızına göre değişiklik göstermektedir. Örneğin 100/saniyeden daha yüksek bir kayma hızında kanın viskozitesi suyun viskozitesinden 3-5 kat daha fazla olur. Buna karşın, 0.1/saniye gibi yavaş bir kayma hızında kan viskozitesi suyunkinden 50-200 kat fazla olur. Diğer bir deyişle, kanı yavaş akıtmak için gereken kuvvet, hızlı akıtmak için gereken kuvvetten göreceli olarak daha fazladır. Kan damar sistemi içinde çok farklı kayma hızlarında akar. Bu yüzden dolaşım sistemindeki kan akımının özelliklerini tam olarak anlayabilmek için kan viskozitesi birkaç farklı kayma hızında ölçülmelidir [5;6].

2.1.1.4. Eritrosit Deformabilitesi

Dinlenim durumundaki bir eritrosit bikonkav disk şeklindedir. Bu bikonkav disk yapısı, hücrenin kapillerden geçerken karşı karşıya kalacağı streslere mükemmel bir şekilde karşı koyacak biçimde düzenlenmiştir. Eritrosit çapı 7-8 mikrometre iken, kapiller çapları 4 mikrometreye kadar inmektedir [1]. Oksijen taşıyan eritrositlerin kendi çaplarından daha küçük çaptaki kapillere ulaşmaları ve buradaki oksijenlenmeyi sağlıklı olarak sürdürebilmeleri ise şekil değiştirebilme yetenekleri ile mümkündür. Bu yeteneğe eritrositlerin deformabilite özelliği adı verilmektedir. Bu fiziksel özellik, özellikle mikro dolaşım alanlarında kan akışını kolaylaştırmakta önemli bir rol oynar. Eritrositlerin bükülebilirlikleri ve şekil değiştirme, tekrar eski şekline dönebilme yetenekleri sayesinde, yüksek hematokrit değerlerinde bile kan sıvı olma

özelliğini koruyabilmektedir. Eğer eritrositler bükülemez olsaydı, hematokrit yükseldiğinde kan çok daha katı ve yoğun olacaktı. Eritrositlerin bu özelliklerini ölçen bazı yöntemler eritrositleri rijiditeleri (sertlik, şekil değiştirememe) açısından değerlendirmektedir [7]. Buna göre eritrosit rijiditesinin artması, şekil değiştirebilme yeteneklerinin azalması durumunu anlatmaktadır. Azalmış deformabilite eritrositlerin ömürlerinin kısalmasına katkıda bulunarak anemi ortaya çıkmasına neden olabilir. Yüksek kayma hızlarında kan viskozitesinin düşük olması kısmen eritrositlerin şekil değiştirebilmelerine bağlıdır.

Eritrositler plazma içinde iç viskoziteleri düşük sıvı damlaları şeklindedir ve rijit değildir. Sonuç olarak kan bir sıvı içindeki sıvı damlaları emülsiyonu şeklinde görülebilir. Eritrosit deformasyona uğradığı anda membran alanı büyümekte, bu artmış yüzey alanı içinde membran yapıları uzamakta, membran bükülmekte ve hücre içindeki stoplazma yer değiştirmektedir [8]. Eritrositlerin şekil değiştirebilme özelliklerini 3 ana faktör etkiler [9]:

Eritrositin geometrisi

Eritrosit membranının yapısı

Eritrosit içi viskozite

Eritrositler bikonkav disk yapısında en yüksek şekil değiştirebilme yeteneğine sahiptir. Bu şekilden uzaklaştıkça şekil değiştirebilme yeteneği azalır. Eliptik veya sferositik eritrositlerin deformabiliteleri azalmıştır. Hücrenin özel geometrisini sağlayan onun iskeletidir. Hücre iskeleti ağı dendiğinde hem geometrik hem de bikonkav disk yapısı açısından proteinlerin yerleşim biçimleri ile bunların aralarındaki ilişkiler akla gelmektedir. Eritrosit hücre membranı yaklaşık 10 esas polipeptit içerir. Bunların bir kısmı glikozillenmiştir. Bu proteinlerin kenetlenmesi ve hatta bir örgü gibi örülmesi ile kafes görüntüsü meydana gelir. Bilinen esas iskelet proteinleri spektrin, aktin, ankirindir. Band 3 proteini ankirine, ankirin ise spektrine bağlıdır. Tüm proteinler lipid tabakanın altında bir ağ oluştururlar ve buraya ankirin aracılığı ile bağlıdırlar. Spektrin ise anyonik fosfolipidlerle ilişkilidir. Esasen eritrosit deformabilitesinin fizyolojik olarak yeterli düzeyde sürdürülmesi, bu iskelet proteinlerine ve aralarındaki ilişkiye bağlıdır. İki esas integral protein ise glikoforinler ile band 3 dür. Bazı minör glikoproteinlere örnek ise gliserladehit 3 fosfat dehidrogenaz (G3PD) ve aldolazdır [8;10;11].

Eritrosit iskeletinde başrolü oynayan spektrin fibröz yapıdadır ve iskelet proteinlerinin %75'ni oluşturur. Eritrositlerde dimer çiftleri şeklinde tetramerik formda bulunur. Bu yapı uzun esnek moleküler yapıyı sağlar ve deformabilitenin de esas temelini oluşturur. Spektrin sadece eritrositlerde yer almaktadır. Hücre iskeletinin birçok özelliği için spektrin-ankirin-band 3 ilişkisi gereklidir; ancak band 3 yokluğunda bile iskelet sağlam kalmaktadır. Dolayısıyla yapısal

bütünlüğün korunması ile ilgili bütün ayrıntılar bugün için bilinmemektedir. Band 4.1 proteini spektrin-aktin iskeletinin esnekliğini sağlamaktadır [12]. Bu plastisitenin serbest kalsiyuma karşı çok duyarlı olması nedeniyle, stoplazmik kalsiyum artışları membran rijiditesinde artışa neden olur [13].

Eritrosit membranı içindeki elastik kuvvetler, yüzey gerilimi, ozmotik veya hidrostatik basınçlar eritrositin biçimini etkileyebilecek başlıca faktörlerdir. Membran yapısı deformabilitenin sağlanmasında önemli bir rol oynar. Eritrositlerin membranı, diğer hücrelerde de olduğu gibi, hidrofilik başları dışarıya, hidrofobik başları ise içeriye bakan iki katlı fosfolipid tabakasından oluşur. Ancak diğer hücrelerden farklı olarak, eritrosit membrnında bulunan proteinler membrandaki diğer yapılar ile bağlantılar yapar. Bu yüzden de diğer hücrelerin membran proteinleri kadar mobil değildirler. Eritrositlerdeki bazı membran proteinleri çeşitli sitoplazmik proteinler ile ilişkiye girerek hücre iskeletini meydana getirir. Hücre membranı altta daha az hareketli bir ağ olan hücre iskeleti ile desteklenmektedir [14;15].

Hücre içi viskozite eritrositlerin şekil değiştirebilme yeteneğini etkileyen bir diğer faktördür. Hücre sitoplazmasında hücre içi hemoglobin konsantrasyonu arttığında hücre içi viskozite de artmaktadır . Eritrosit içeriğinin yaklaşık % 62'si sudur ve bu suyun çoğu hücre içi proteinlere bağlı şekildedir. Sitoplazma içindeki suyun % 25'i serbest şekildedir [6].

2.1.1.5. Eritrosit Agregasyonu

Eritrosit agregasyonu hücrelerin bir araya gelmeleri, kümeler ya da rulo yapısı oluşturmalarıdır. Eritrositler durgun bir ortama alındıklarında önce üst üste birikerek paralar gibi rulo şeklinde kümeler yapmaya başlar. Bir süre sonra rulo halindeki bu diziler birbirleri ile birleşerek üç boyutlu daha büyük kümeler oluştururlar. Bu kümeleşmeye agregasyon ismi verilir [8]. Sadece duran eritrositlerde değil, yavaş akan kan içinde de eritrositlerin kümeleştiği gösterilmiştir. Eritrositlerde görülen bu kümelene geri dönebilir bir olaydır. Deformabiliteye etki eden faktörler çok daha iyi belirlenmiş olmasına rağmen, agregasyona etkili faktörler çok iyi bilinmemektedir. Plazma proteinleri, özellikle fibrinojen, komşu eritrositler arasında köprüler oluşturarak, düşük akım koşullarında doğrusal agregatlar oluşturur [1]. Eritrosit agregasyonu kayma hızıyla ters ilişkilidir ancak 100/saniye gibi yüksek kayma hızlarında bu ilişki ortadan kalkar [9]. Eritrositlerin geri dönebilir agregat oluşturma eğilimleri tam kan viskozitesini belirleyen esas özelliklerden biridir ve kayma kuvvetlerinin derecesi ile orantılıdır. Her ne kadar kayma kuvvetleri arttığında eritrosit agregatları ayrışsa da düşük akım hızlarında veya staz koşullarında eritrositler tekrar kümeleşirler. Eritrositlerin agregasyonunda artış ve şekil değiştirebilme özelliklerindeki azalış damar tıkanıklıklarına yol açabilir ve kapiller basıncı artırabilir. Bu durum patolojik koşullarda ortaya çıkar. Bir nedenle eritrosit agregasyon

eğiliminde artış olduğunda büyük dolaşımında orta derecedeki kayma hızlarında bile ciddi agregatlar oluşabilir. Bu agregatlar akım hızlansa da parçalanmazlar; viskozite artışına neden olurlar. Özellikle çapraz köprü kurulması (cross-bridging) olarak adlandırılan bu ciddi agregasyon, plazmadaki makromoleküllerin varlığında (antikor, lektin, bakteriyel adezinler, fibrinojen gibi) artmaktadır. Deformabilitedeki bozulma da agregasyonu artıran bir faktördür. Eritrosit agregasyonunda elektrostatik itici potansiyel olarak söylenebilen yüzey yükü önemlidir. Bu yüzey yükünde de membran siyalik asit miktarının katkısı büyüktür. Plazma fibrinojeninin eritrosit yüzeyine yapışması eritrositlerin yüzeyindeki negatif yüklerin oluşturduğu birbirini itme kuvvetini yenerek hücrelerin birbirine eklenmesine neden olur [1;16].

2.1.1.6. Fibrinojen Konsantrasyonu

Fibrinojen plazma proteinlerinin en büyüğü olmakla birlikte total plazma protein konsantrasyonunun sadece % 5.5' ini oluşturur. Ateroskleroz patogenezinde yer aldığı bilinmektedir ve kalp damar hastalıkları için muhtemel bir risk faktörüdür [17]. Fibrinojen, kan hemostatik mekanizmalarında önemli rol oynaması ve eritrosit agregasyonuna etkileri nedeniyle kan reolojisinin ana bileşenlerinden biri sayılır. “*Non-Newtoniyen*” akım davranışını ve sedimentasyon hızını etkiler. Bu nedenle plazma viskozitesine etkisi önemlidir. Fibrinojenin plazma viskozitesine olan etkisi serum ve plazma viskoziteleri karşılaştırılarak görülebilir. Plazmanın viskozitesi serumdan yaklaşık %20 daha fazladır. Eritrosit agregasyonu ve plazma viskozitesine etkilerine ilaveten yüksek fibrinojen konsantrasyonu trombosit-damar duvarı ilişkisini artırarak da hemodinamik bozukluğu tetikler ve aterosklerozun ilerlemesine katkıda bulunur [17].

2.1.1.7 Sıcaklık

Tam kan viskozitesi ölçümü genellikle dolaşım içindeki akış özelliklerini gösterdiği koşullarda yapılmalıdır. Bu nedenle kan viskozitesi fizyolojik sıcaklık olan 37°C' de ölçülür. Sıcaklıktaki bir artış ya da azalma kan viskozitesini artırır. Bu sıcaklık etkisi bir yönüyle de kayma hızıyla bağıntılıdır [18]. Plazma bileşenleri, özellikle plazma proteinleri, plazma viskozitesi üzerine 37°C' de, 0°C' de olduğundan daha büyük etkiye sahiptir.

2.1.2. ERİTROSİT REOLOJİK ÖZELLİKLERİNE ETKİLİ FAKTÖRLER

2.1.2.1. pH'nın Etkisi

pH etkisi eritrositlerin yaşına göre değişir. Örneğin yaşlı eritrositlerin asit ortamda yanıtları daha dinamiktir ve meydana gelen değişiklikler nedeniyle selektif olarak tanınıp dolaşımdan uzaklaştırılırlar. pH ve osmolalitenin deformabilite üzerine etkileri bifaziktir ve “shaped curve” olarak tanımlanır. Deformabilite fizyolojik sınırlar içinde optimaldir. Fizyolojik sınırın çok az da olsa dışına çıktığında deformabilite bozulur.

Bu ilişkilerin çoğu hücresel şekil değişiklikleri ve yüzey, volüm oranı değişiklikleri ile ilgilidir. Aynı etkiler agregasyon için de söylenebilir. Kan pH'sında 7.2'den 7.8'e kadar değişen değerlerde eritrosit agregasyonunun incelendiği bir çalışmada alkalozun agregasyonu artırdığı bildirilmiştir [19].

2.1.2.2. Proteinlerin ve Yağların Etkisi

Proteinler kan reolojisinin bilinen en iyi hümoral düzenleyicileridir. Özellikle fibrinojen eritrosit agregasyonunu etkileyen ana faktörlerden biridir [20-22]. Lipoproteinler ve reoloji arasında da kuvvetli korelasyon vardır. Serum kolesterolünde meydana gelen bir artış plazma viskozitesinin artmasıyla birlikte [19]. Plazma lipid seviyesinde meydana gelebilecek değişiklikler, hücre membran lipid bileşimini etkileyerek eritrosit agregasyonunu değiştirebilir [23].

2.1.2.3. Minerallerin Etkisi

Magnezyum eritrositleri rijidifikasyondan korur [24]. Çinko, invitro olarak eritrosit deformabilitesini artırır. Sporcularda bir dereceye kadar çinko eksikliği görülebilmektedir. Daha düşük serum çinko seviyesi olan sporcularda kan viskozitesi daha yüksektir ve eritrosit deformabilitesi bozulmuştur. Bu da sporcunun performansında azalmaya neden olur [25].

Demir, plazma ferritini düşük olan atletler normal plazma ferritini olan atletlerle karşılaştırıldığında kan viskoziteleri, plazma viskoziteleri ve eritrosit agregabilitelelerinin daha yüksek olduğu görülmüştür [26]. Demir eritrosit membran yapısını bozar ve böylece daha fazla rulo ağı oluşumuna neden olur.

Hidrojen peroksit normalde zararsız bir hücresel metabolittir; fakat demir iyonu varlığında *Fenton* reaksiyonu ile hidroksil radikaline dönüşebilmektedir. Zira yapışık poliansatüre yağ asitleri özellikle hidroksil radikali tarafından saldırıya uğrar ve yağ asiti yan zincirinden (L-H) bir hidrojen atomunun uzaklaşması ile lipit peroksidasyonu başlar.

2.1.2.4. Hormon ve Otokoidlerin Etkisi

Eritropoetin: Kemik iliğinde eritrosit üretimini düzenleyen endojen bir hormondur. Rekombinan insan eritropoetini atletlerde alternatif bir kan dopingi olarak kullanılmaktadır. Hematokritde artışa neden olduğundan kan viskozitesini artırır. Eritropoetine bağlı eritrosit yapımı doza bağlı olmakla birlikte değişkenlik gösterebilir ve son uygulamadan sonra etkisi günlerce devam edebilir ve hematokrit tehlikeli seviyelere yükselebilir.

İnsülin: insülin tedavisinin, diyabete bağlı hemoreolojik bozukluklarda düzelme sağladığı bilinmektedir. Bu olumlu etkilerin, metabolik düzelmelere sekonder olduğu düşünülmektedir. Metabolik sendrom ve hiperinsülinemi hastalarında tedavinin viskoziteyi düşürdüğü ve eritrosit agregasyonunu azalttığı bildirilmektedir [27]. Ancak, in vitro deneylerde insülin tedavisinin doza bağlı olarak sıçanlarda viskoziteyi azalttığı, agregasyonu artırdığı, ancak deformabiliteyi etkilemediği gösterilmiştir [28].

2.1.3. HASTALIKLAR VE HEMOREOLOJİ İLİŞKİSİ

Hipertansiyon, iskemik kalp hastalıkları, periferik arter hastalıkları, Raynoud fenomeni gibi kardiyovasküler sistem hastalıkları ile diabetes mellitus gibi bazı metabolik hastalıklarda hemoreolojik faktörlerin katkısı ya da etkilenme durumlarını araştıran birçok çalışma yapılmıştır [29;30]. Bütünüyle kardiyovasküler hastalıklar hemoreolojik önemi en yüksek olanlar olsa da, temel patolojileri farklı olan ve makro veya mikrodolaşımı etkilediği düşünülen birçok başka hastalık vardır. Obesite [31;32], hiperlipidemi [33], serebrovasküler hastalıklar [34], hematolojik hastalıklar [35], maligniteler [36;37], Raynoud fenomeni [30] vb. bir çok hastalıkta hemoreolojik değişiklikler bildirilmiştir. Hemoreolojik farklılıklar bu hastalıklarda risk faktörü olabileceği gibi, asıl patolojinin yanında prognoz veya komplikasyonlar açısından da belirleyici olabilir.

Egzersizde ortaya çıkan hemoreolojik değişikliklerin genellikle sağlık ve veya egzersiz performansı üzerine olumsuz etkiler yaptığı bildirilmektedir. Bozulmuş hemoreoloji kardiyovasküler riski artırabilir [38;39], pulmoner hipertansiyona neden olabilir [40]. Ancak bu olumsuz etkiler her egzersizden sonra ortaya çıkmamaktadır. Egzersizin şiddeti ve süresi muhtemelen reolojik değişikliklerin ortaya çıkmasında rol oynamaktadır. Hematokrit artışı, eritrosit rijiditesinde artma, plazma viskozitesinde yükselme fizyolojik cevaplardır ve egzersiz sırasında meydana gelen vasodilatasyon bu etkileri dengeleyerek bir riskin ortaya çıkmasını önler. Ancak yine de tüketici şiddetlerde kuvvetli egzersizin belki diğer bazı faktörlerle birleşerek ortaya çıkardığı reolojik değişiklikler egzersize bağlı ani ölümlerde veya myokard enfarktüsünde etkili olabilir [41;42].

2.1.4 EGZERSİZ VE HEMOREOLOJİ

Fiziksel aktivite alışkanlığının kalp hastalıkları riskini azaltması ve sedanter hayatın kalp damar hastalıkları için önemli bir risk faktörü sayılması nedeniyle son yıllarda egzersize karşı büyük bir ilgi gelişmiştir. Kan reolojisinin kardiyovasküler hastalıklarda önemli bir rolü olduğunu gösteren ilk çalışmalardan sonra egzersiz ve spor alanlarında kan reolojisine karşı ilgi artmıştır. Viskozite ölçümü eskiden beri yapılabilen bir inceleme olduğu için ilk çalışmalarda egzersizin kan viskozitesine olan etkisi bakılmıştır. Hem maksimal hem de submaksimal egzersiz plazma viskozitesi ve hematokritte yükselmeye neden olarak tam kan viskozitesini artırır [43-45]. Plazma viskozitesi ve hematokrit artışının egzersizde meydana gelen tam kan viskozitesindeki artışı açıkladığı kabul edilir. Ancak bazı çalışmalarda bu değişiklikler gösterilememiştir. Bu çalışmalardaki protokollere bakıldığında, ölçümlerin uzun süreli toparlanma döneminde yapıldığı ve kısa sürede normale dönen değişikliklerin kaçırılmış olabileceği söylenebilir. Egzersiz sonrası plazma viskozitesi ve hematokritteki yükselme bazen hemokonsantrasyon olarak isimlendirilir [44;45]. Ancak bu açıklama yeterli değildir; çünkü gözlenen değişiklikler en az beş ayrı mekanizma sonucunda ortaya çıkabilir:[6]

- 1) dolaşım sistemindeki eritrositlerin yeniden dağılımı
- 2) splenokontraksiyon ile dolaşımdaki eritrosit sayısının artması
- 3) muhtemelen lenfatik akışın artması nedeniyle plazmada bazı proteinlerin artması
- 4) ısı düzenlenmesi için terle ısı kaybı
- 5) kas hücrelerinde su tutulması

2.1.4.1. Fiziksel Egzersizin Hemoreolojik Etkileri

Birçok egzersiz çalışmasında eritrositlerin reolojik özelliklerinin de değiştiği bildirilmektedir [26;46-57]. Eritrosit deformabilitesinde oluşan akut değişiklik egzersize özgü bir cevap değildir. Birçok stres durumlarında, örneğin emosyonel streste eritrosit deformabilitesinde azalma ortaya çıkar [58]. Eritrositlerde görülen hemoreolojik değişikliklerin egzersiz sırasında yükselen plazma laktatı, ayak tabanında eritrositler üzerine gelen mekanik stres [59], egzersiz sırasında plazma protein konsantrasyonlarının değişmesi, ortaya çıkan bazı oksidan maddelerin etkisiyle ortaya çıkabileceği bildirilmiştir.

Eritrositlerin egzersize karşı cevapları sporcularda sedanterlere göre farklıdır. İyi antrenmanlı 20 sporcunun maksimal oksijen tüketimi (VO₂ max) testleri sırasında eritrosit rijiditelerinin azaldığı bildirilmiştir [60]. İyi antrenmanlı sporculardaki cevapların farklı olabileceğini destekleyen bir başka çalışmada sporcuların ve sedanterlerin kanlarından ayrılan

eritrositler invitro olarak farklı konsantrasyonlarda laktat çözeltilerine konulmuş ve bu eritrositlerin deformabiliteleri ölçülmüştür. Sedanterlerin eritrositlerinde görülen rijidite artışı antrenmanlı sporcularda görülmemiştir [61]. Bu sonuçlara dayanarak, Brun [6] aerobik antrenmanların hemoreolojik cevaplarda değişikliklere yol açtığını öne sürmüştür.

Kesitsel çalışmalar plazma viskozitesi ve hematokritin sporcularda sedanterlere göre daha düşük olduğunu göstermektedir [62-64]. Elit sporcuların plazma viskozitelerinin kontrollere göre daha düşük çıkması nedeniyle bir sporcunun kanında sıvı ne kadar fazlaysa o kadar iyi sporcu olduğu varsayılmıştır [63]. Bu durum fiziksel aktivite süreleri ile düşük plazma viskozitesi arasında ilişki olduğunu bildiren toplum taraması çalışmalarında da gösterilmiştir [65;66]. Antrenmanlarla ortaya çıkan plazma hacmindeki artış vücuttaki su miktarını artırarak dehidratasyondan korunmada fayda sağlar. Bu yüzden plazma artışına bağlı görülen hematokrit azlığı sporcularda kardiyovasküler uygunluk göstergelerinden biri olarak kabul edilir. Antrenmanların eritrosit deformabilitesi ve agregasyonu üzerine etkisi çok açık değildir. Genellikle çalışmalar, antrenmanlarla eritrosit rijiditesinin ve agregasyonunun azaldığını bildirmektedir [6;56;67].

Antrenmanların hemoreolojik özellikler üzerine etkileri tartışılırken sporların ve bu sporlara özgü antrenmanların birbirlerinden çok farklı oldukları göz ardı edilmemelidir. Farklı antrenman modelleri farklı fizyolojik ve fiziksel değişikliklere neden olur. Bu yüzden de antrenmana bağlı hemoreolojik özellikler bütün sporcular için genellenemez [48]. Antrenmanların hangi mekanizmalarla reolojik özellikler üzerine etki yaptığı çok açık değildir. Dayanıklılık antrenmanları vücutta yağ kitlesinin azalmasına, kas kitlesinin artmasına ve kasların yakıt işleyişlerinin iyileşmesine neden olur. İnsülin direnci düşer, lipit profili düzelir. Optimal lipit profili, fibrinojen düzeyi ve glukoz antrenmanlı kişilerde kan reolojisinin daha iyi olmasına neden olabilir [27;46;55;68]. Antrenmanın metabolizmada yaptığı değişikliklerin hemoreolojik özellikler üzerine etkisi ile ilgili çok az çalışma vardır. Düzenli egzersiz yapan koroner hastalarında eritrosit membranlarında trigliseritlerin, kanda fibrinojen ve kolesterol düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir [69]. Bunlardan eritrosit membran trigliserit düzeyi ve kan fibrinojeni hemoreolojide rolü olan özelliklerdir. Lipit metabolizmasında meydana gelen değişiklikler kan reolojisinde olumlu değişikliklere yol açabilir [6].

Uzun süreli egzersizin bir etkisi de insülin duyarlılığına olan etkidir. İnsülin direnci ve anormallikleri ile kan reolojisinde görülen anormallikler arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. İzole obesitenin bile hemoreolojik özellikleri olumsuz yönde değiştirdiği bildirilmiştir [67].

Antrenmanlar ile lipitler, fibrinojen ve glukoz düzenleme mekanizmaları en uygun duruma getirildiğinde sporcularda hemoreolojik özelliklerinin de daha iyi duruma geldiği

söylenbilir. Kan reolojisini bozduğu bilinen lipitler, fibrinojen, glukoz yüksekliği gibi parametreler düzenli egzersiz ile belli ölçüde düzelmektedir. Ayrıca egzersiz vücut yağ yüzdesinin de iyileşmesinde esas rolü oynuyor olabilir.

2.1.4.2. Sürantrenman ve hemoreoloji

Sürekli yüksek şiddetde antrenmanlar başta kas hasarları, endokrin ve hematolojik bozukluklar olmak üzere çeşitli fiziksel ve psikolojik yıpranmalara neden olarak sporcunun hem performansını düşürür hem de sağlığını tehlikeye sokar. Bu tabloda sporcularda hemoreolojik parametrelerin de bozulduğu gösterilmiştir.

Genel bir kanı olarak kan viskozitesi ve eritrosit agregasyonu düşük kişilerin fiziksel uygunluklarının daha iyi olduğu düşünülür. Hemoreolojik parametreler ile fitness arasındaki korelasyonlar çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir.

Egzersiz kapasitesinin eritrosit bükülebilirliğinin değişmesinden etkilendiği de gösterilmiştir. Omega 3 yağ asidi ile eritrosit rijiditesi azaltıldığında aerobik kapasite daha yüksek bulunmuştur. Orak hücreli anemisi olan hastalarda egzersiz sırasında kaslara oksijen taşımada görülen azalma bu sayede önlenmiştir.

Egzersiz sırasında kaslara oksijen taşınmasında kan reolojisi birkaç yol ile etkili olabilir. Egzersizdeki etkilerden biri kan laktatı üzerindedir. Egzersiz ve hemoreoloji üzerine ilk çalışmalarda kan laktat seviyesi ile eritrosit agregasyonu arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Agregasyon artışı kaslarda mikro dolaşımı bozar ve fizyolojik sınırlardaki bir agregasyon artışı bile egzersiz sırasında kaslara oksijen iletimini sınırlandırabilir [5]. Kaslarda oksijenin yetersiz olması da laktik asit üretiminin artışına yol açabilir. Agregasyon artışı egzersiz sırasında doku hipoksisine, buna bağlı olarak da laktik asit üretiminde artışa neden olabilir.

2.2. SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller biyolojik sistemlerde çok çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde sürekli üretilen oldukça reaktif molekül veya moleküler parçalardır. [70]. Bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektronu bağımsız bulundurma yeteneği olan herhangi bir molekül, iyon ya da bileşik serbest radikal olarak adlandırılır. En basit serbest radikal sadece bir eşleşmemiş elektron içermesi nedeniyle hidrojen atomudur. Biyolojik moleküllerin çoğu eşleşmiş elektron içerdiğinden radikal değildir. Radikaller, eşleşmemiş elektronlarını paylaşmak için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerek bu moleküllerden elektron alır ya da verirler [71;72].

Organizmada bulunan moleküllerin çoğu eşleşmemiş elektron içermez, bu nedenle serbest radikaller çoğu zaman radikal olmayan maddelerle tepkimeye girer ve yeni serbest radikaller oluşturur. Bu olaylar, zincir tepkimeler olarak devam eder. Oksijen merkezli serbest radikaller; süperoksit radikali, hidroksil radikali, alkoksil radikali, peroksil radikali, hidroperoksil radikali'dir [70;72;73]. Ozon, hidrojen peroksit, hipoklorik asid, singlet oksijen, peroksinitrit gibi radikal olmayan bazı moleküller de reaktif oksijen türlerindedir. Bu türler arasında biyolojik olarak en fazla öneme sahip olanlar; moleküler oksijene tek elektron eklenmesiyle ortaya çıkan süperoksit radikali, hücre içindeki tüm moleküller ile reaksiyona girebilen ve bilinen en reaktif oksijen radikali olan hidroksil radikali, eşleşmemiş elektron içermediğinden radikal olmayan ancak oksijenin neden olduğu doku hasarında rol alan metabolitlerinden biri olan hidrojen peroksit, aynı şekilde eşleşmemiş elektronu olmadığından radikal olmayan ancak çok reaktif olması ve üretimi sırasında bazı radikal tepkimeleri oluşturması nedeniyle serbest radikal sayılan singlet oksijen ve hücre zarlarından kolaylıkla geçebilen, renksiz bir gaz olan nitrik oksitdir.

2.2.1. SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI

2.2.1.1. Endojen Kaynaklar

İnsan vücudu tarafından alınan oksijenin yaklaşık % 85-90'ı mitokondrial elektron transport zincirinde kullanılmaktadır. Aerobik organizmalar, anaerobik organizmalarla karşılaştırıldığında, mitokondrial solunum zinciri yardımıyla, çok daha fazla enerji üretebilirler. Enerji metabolizması esnasında mitokondride tüketilen oksijenin çoğu hidrojen ile birleşerek suyu meydana getirir ancak mitokondriyal ATP sentezi sırasında elektron transfer zincirinin değişik basamaklarında sürekli elektron sızıntısı olması aerobik solunumun bir dezavantajıdır. Aerobik metabolizmada total oksijenin % 1-5'i oksijenin ilk indirgenme ürünü olan süperoksit radikallerini oluşturur [74;75]. Oksidatif fosforilasyona ilaveten, peroksizomlarda, sitokrom P450 sistemi ve nötrofil, eosinofil, makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerde de sürekli, düşük seviyelerde reaktif oksijen türleri oluşur. Ayrıca, biyolojik olarak öneme sahip, gliseraldehit, adrenalin, noradrenalin, dopamin gibi birçok molekül, demir ve bakır gibi geçiş metallerinin katalizörlüğünde moleküler oksijen tarafından otooksidasyona uğrar ve süperoksit radikali oluşturur [76;77]

2.2.1.2. Ekzojen Kaynaklar

İyonizan radyasyon, ultraviyole ışınları, hepatotoksinler (karbon tetraklorür), ksenobiyotikler, redoks siklusu yapan maddeler(paraquat, nitrofurantoin), kemoterapötikler (adriamisin), hava kirliliği, sigara, marihuana, alkol, aşırı kalsiyum ve demir alımı, çok yanmış gıdaların tüketimi [73] canlı organizmada serbest radikal oluşturan ekzojen kaynaklardır.

2.2.3. SERBEST RADİKALLER İLE OLUŞAN HÜCRESEL HASARLAR

Serbest radikaller, nükleik asitler, lipitler, serbest amino asitler ve karbonhidratlar ile reaksiyona girerek hücresel hasar oluşturabilirler. Serbest radikal hasarının esas süreci lipit peroksidasyonu olarak kabul edilmektedir. Biyolojik zarlar büyük miktarlarda yan bağlı çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) içerirler ve serbest radikal hasarına karşı çok hassastırlar. Hücre zarının işlevlerini gerçekleştirebilmesi akışkanlığına bağlıdır. Akışkanlık ise büyük ölçüde PUFA varlığıyla sağlanmaktadır. PUFA'ların hasarında zarın akışkanlığının da azaldığı gösterilmiştir [78]. Lipit peroksidasyonu zar yapısında ve enzimlerinde, zar bütünlüğünün kaybı, hücre ölümü ve doku nekrozuna giden hasarlara neden olabilir [79]. Lipit peroksidasyonu, lipit peroksitlerinin malondialdehit (MDA) ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona erer [78;80]. MDA ölçümü lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [81].

Proteinler ve proteinlerin yapıtaşı olan aminoasitler de serbest radikallerin hedeflerindedir. Reaktif oksijen türleri, direk olarak proteinlerde hasara neden olabildiği gibi, lipit peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit ile ikincil hasara da neden olabilir [73]. Oksidan hasarda özellikle transport proteinleri, reseptörler ve enzimler önemlidir. Protein hasarı, hücre içi ve dışı iyon dengesini etkileyebilir ve bu da sonuçta hücre hacim değişikliklerine neden olur [82]. Proteinlerdeki karbonil grupları oksidatif hasarın göstergesi olarak kabul edilmektedir. Serbest radikal hasarının bir göstergesi olarak protein oksidasyon ürünleri, spektrofotometrik yöntemle doku veya plazma örneklerinde ölçülebilmektedir [77].

Serbest radikaller, baz lezyonları, şeker lezyonları, tek zincir kırılması, DNA-protein çapraz bağlar oluşturma gibi çok değişik yollarla DNA ve nükleoproteinlerde hasarlara neden olabilmektedir [83].

2.2.4. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Oksijenin redüksiyonu ve serbest radikallerin oluşumu hiçbir şekilde engellenemez ancak; bu radikallerin yıkıcı etkilerine karşı oluşturulmuş, hücrenin sitozolü ve mitokondrisinde yer alan doğal savunma sistemleri etkin bir şekilde çalışır. Bu etkilere karşı ilk koruyucu sistem, antioksidanlar ve diğer redoks dengesini sağlayan enzim sistemleridir. Bu enzimlerin en önemlileri; süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz ve peroksiredoksinlerdir. Glutatyon, transferin, ferritin, serüloplazmin diğer antioksidan moleküller arasında sayılabilir [73].

Ayrıca besinlerle aldığımız besin indirgeyici ajanlar örneğin A, C ve E vitaminleri ile A vitamini prekürsörü olan β -karoten de önemli koruyucu fonksiyonlar üstlenmektedir. Bu

antioksidan vitaminler, serbest radikallerle reaksiyona girerek onları uzaklaştırmakta ve zincir reaksiyonunu kırmaktadırlar.

2.2.5. OKSİDAN STRES

Sağlıklı organizmalarda serbest radikal oluşması ve antioksidan sistemlerin buna karşı savunması yaklaşık olarak dengededir. Oksidan stres; hücrel antioksidan savunmanın reaktif oksijen türlerinin seviyesini toksik eşiğin altında tutmakta yetersiz kalması olarak tanımlanabilir [84;85] Redoks dengesinin bozulması, tüm hücrel makromoleküllere zarar verebilir [70]. Oksidan stres reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi, antioksidan savunmanın yetersizliği veya her iki durumun birlikte bulunması ile oluşabilir [84].

Fizyolojik şartlarda, normal hızda üretilen serbest radikallerin zararlı etkileri antioksidan savunma sistemleri tarafından azaltılır. Ancak antioksidan sistemlerin büyük bir yedeği yoktur. Hafif bir oksidan stresde hasarlı moleküller uzaklaştırılıp yenileri yapılabilirken, şiddetli oksidan stres durumlarında hücre hasarlanması meydana gelir [80].

2.2.5.1. Oksidan Stres ve Eritrositler

Eritrositlerde iki önemli metabolik yol vardır. Glukoz, anaerobik olarak Embden-Mayerhof (glikoliz) yoluyla metabolize olur. Bu yol ATP için tek kaynaktır ve methemoglobinin hemoglobine indirgenmesinde gerekli olan indirgenmiş NADH üretilir. Anaerobik metabolik yol ara ürünlerinden biri glukoz-6fosfat dehidrogenaz (G6PD) için bir substrattır. G6PD oksidatif heksos monofosfat (pentoz fosfat) yolunda hız kısıtlayıcı enzimdir ve okside glutasyonu indirgenmiş glutatyona (GSH) çevirir. GSH hücrel redoks durumunun devamını sağlamada merkezi bir rol oynar.

Pentoz fosfat yolunun çok önemli bir ürünü, indirgenmiş NADPH'dır. İndirgenmiş NADPH okside glutasyonun (GSSG) indirgenmesinde kofaktör olarak görev alır. Hb doğal olarak oluşan oksidanların en çok bulunan ve önemli hedefidir.

Reaktif oksijen türevlerinin aşırı üretimi veya redoks durumunu devam ettirmekte ihtiyaç duyulan kritik enzimlerde meydana gelen bir defekt eritrositlerin oksidatif hasara uğramasına neden olur. Bu durumda oksidatif denaturasyon devam eder ve methemoglobin hemikromlara dönüşür. Hemikromlar, süperoksit ve hidrojen peroksit radikalleriyle etkileşir ve hidroksil radikalleri oluşumu meydana gelir. GSH yetersiz kaldığında globin yapısı değişir ve sülfhidril grupları korunmasız kalır ve okside olur. Sonuçta polipeptid zincirlerinde başlayıp monomerlere kadar giden ayrılmalar meydana gelir. Bu değişikliklerin sonucunda hemikromlar çöker, ayrılmış globin parçalarıyla birlikte Heinz cisimciklerini oluşturur. Bu süreçlerde oluşan maddeler;

serbest demir, hemikromlar, Heinz cisimcikleri direk olarak veya membran protein ve lipitlerinin oksidasyonu yoluyla membran fonksiyonlarını bozarlar [86]

Eritrositler tüm vücuttaki antioksidan kapasitede majör rol oynar. Eritrositlerin antioksidan özellikleri ve metabolizmaları arasındaki güçlü ilişki, yaşamları için çok kritik öneme sahiptir. Eritrosit membranı oksijen radikallerine karşı geçirgendir ve hücre içinde oldukça yüksek antioksidan enzim aktivitesi bulunur. Bu nedenle eritrositler, hücre dışı oksidanların indirgenmesinde çok önemli role sahiptir [87]. Ayrıca transmembran elektron transportu aracılığıyla hem hücre içi hem de hücre dışı redoks tamponlanmasını sağlar. Bunlardan başka kanın enzimatik olmayan antioksidan kapasitesinin çoğu da eritrositlerde bulunur. Eritrositlerin serbest radikallere karşı koruyucu mekanizmaları; katalaz, SOD, GpX, glutatyon redüktaz gibi enzimler ve hücrede üretilen düşük molekül ağırlıklı GSH, NADH/NADPH gibi antioksidanlar ve alfa tokoferol, askorbat, biyoflavonoidler, selenyum gibi hücre tarafından alınan moleküllerdir.

2.2.5.2. Oksidan Stres ve Egzersiz

Fiziksel aktivitenin olumlu etkileri iyi bilinmekle beraber, literatürde olası negatif etki potansiyelini de görmek mümkündür [64]. Egzersiz sırasında meydana gelen metabolik hız artışı sonucunda iskelet kasında, kalpte ve diğer dokularda oksijen tüketimi belirgin olarak artar. Tüm vücutta egzersiz sırasında oksijen tüketim hızının 10–15 kat artabileceği, aktif kaslarda artan kan akımı nedeniyle artışın 100 kat olabileceği bildirilmiştir [88]. Egzersiz sırasında meydana gelen bir takım fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklerin altta yatan mekanizmasının reaktif oksijen radikallerinin oluşumu olduğuna inanılmaktadır ve bunlar oksidan stresin belirleyicileridirler [89]. Egzersiz sırasında artan oksijen tüketimi serbest radikal oluşumunu açıklayan tek mekanizma değildir. Ağırlık kaldırma ya da yüksek yoğunlukta aerobik çalışmanın yarattığı geçici doku hipoksisi hidrojen iyonlarının artmasına yol açabilir. Hidrojen, süperoksit anyonları ile reaksiyona girerek ilave reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olabilir. Doku hipoksisi, demir ve bakır gibi geçiş metallerinin serbest kalmasına yol açarak bu metallerin katalizdeği serbest radikal reaksiyonlarını olaya ilave etmektedir [90]. Fagositik beyaz kan hücreleri de güçlü oksidanlar üretirler. Yorucu ya da akut tüketici egzersizi takiben hücre hasarlanması nedeni ile nötrofiller hasarlı iskelet kasına infiltre olabilirler [54]. Dolaşımdaki kateşolamin seviyeleri uzun süren egzersizle artmaktadır. Kateşolaminler myokard ve iskelet kasında beta adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu aracılığı ile oksidatif metabolizmayı artırmaktadır. Bu durum mitokondride reaktif oksijen türlerinin artımı için bir potansiyeldir. Epinefrinin otooksidasyonu sırasında süperoksit oluşur. Yine de egzersiz sırasında üretilen reaktif oksijen türlerine nicel olarak kateşolamin katkısı gösterilememiştir [91].

Fiziksel egzersiz sırasında meydana gelen oksidan hasarın büyüklüğü sadece serbest radikal oluşumuna değil aynı zamanda antioksidan savunma sistemlerinin kapasitesine de bağlıdır. Tek seferlik akut egzersizin iskelet kası, kalp ve karaciğerde SOD, GPx ve katalazi içeren antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı bilinmektedir [92]. Aktivasyonun başlangıcı ve büyüklüğü çeşitli enzim ve dokularda farklılıklar göstermektedir. Değişen egzersiz sürelerinde hangi antioksidan enzimin aktive olacağını mekanizması bilinmemektedir.

Egzersizin hemoreolojik etkilerinde oksidan stresin önemli bir rolü vardır. Oluşum mekanizması ne olursa olsun akut egzersiz sırasında ortaya çıkan oksidatif stres hemoreolojik bozulma ile ilişkilidir [47]. Oksidatif stres eritrosit membran proteinlerine hasar verir [93–95]. Eritrosit membran protein hasarı ve membran-hemoglobin bağlantıları eritrosit rijidite artışının nedeni olabilir. Lipid peroksidasyonu ile ölçülebilen oksidatif hasar tam kan viskozitesi, eritrosit rijiditesi, MCV, eritrosit agregasyonu, plazma viskozitesi, fibrinojen gibi hemoreolojik parametrelerde bozulmaya neden olabilir [85;96;97]. Egzersizin neden olduğu oksidatif stres hem direk etkileriyle hem de hemoreolojik parametrelerin bozulmasına neden olarak potansiyel bir risk faktörüdür. Hemoreolojik bozulmalar, mikrosirkülasyonu olumsuz yönde etkiler [98]. Oksidatif hasar sonucunda eritrosit rijiditesinde artış meydana gelir ve eritrosit deformabilitesi azalır, sonuçta eritrositler, çapları kendilerinden daha küçük olan mikrodamarlardan geçemezler. Oksijen dağılımının birincil olarak mikrosirkülasyonda olmasından dolayı eritrosit rijidite artışı, tam kan viskozitesi artışından olasılıkla daha önemlidir.

Egzersiz bittikten hemen sonra hemodinamik faktörler istirahat seviyelerine döner ancak hemoreolojik değişiklikler bir süre daha devam eder ve doku kanlanma problemlerine yol açabilir. Bu değişikliklerin zaman içerisinde seyirleri çok detaylı çalışılmamıştır. Ancak, hemoreolojik değişikliklerin devam ettiği süre boyunca oksidatif hasar göstergesi olan parametrelerin de saptanmış olması, egzersizin geç dönem etkilerinde oksidatif hasarın etkisi olabileceğini düşündürmektedir [54;56;57].

Egzersizin neden olduğu oksidatif hasar ve ilişkili hemoreolojik bozukluklar antrenman düzeyleri ile yakından ilgilidir. [53;99]. Antrene kişilerde eritrosit turnoverı artar ve dolaşımdaki eritrosit popülasyonu genç eritrositler olur [59;100]. Genç eritrositler oksidatif hasara daha dirençlidirler [101], deformabilite özellikleri daha fazladır ve 2,3-difosfogliserat içerikleri daha fazladır, antioksidan savunma sistemleri daha etkilidir. Antrenmanların eritrositlerin antioksidan enzim aktivitelerini etkilediği gösterilmiştir [102]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Yapılan tüm deneyler için; Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu'ndan 22.04.2005 tarihinde 05/07/48 nolu toplantıda 48 protokol numarasıyla, yapılması etik açıdan uygundur onayı alınmıştır.

3.1. DENEY HAYVANLARI

Bu çalışmada erişkin (22 haftalık) $202,9 \pm 28,2$ g (Ortalama \pm Standart Sapma) ağırlığında erkek Wistar Albino sıçanlar kullanılmıştır. Çalışmaya katılan 32 adet deney hayvanı Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden sağlanmıştır. Sıçanlar Fizyoloji Anabilim Dalı'na ulaştırıldıktan sonra yeni ortama uyum sağlamaları için iki hafta standart koşullarda barındırılmıştır. Tüm sıçanlar her kafeste üç ya da dört hayvan olacak şekilde, standart pellet yemlerine ve suya serbestçe erişebilecekleri konumda bulundurulmuştur. Hayvanlar 5 gruba ayrılmıştır. Gruplar için hayvan seçimi rasgele yapılmıştır.

Deney grupları aşağıdaki gibidir:

1. Kontrol grubu (K): Bir saat süre ile küçük hayvan koşu bandında duran sıçanlardan oluşmuştur (n=6).
2. Akut egzersiz grubu 1 (A₁₀): 10 m/dak hızda küçük hayvan koşu bandında bir saat egzersiz yapan sıçanlardan oluşmuştur (n=8).
3. Akut egzersiz grubu 2 (A₁₅): 15 m/dak hızda küçük hayvan koşu bandında bir saat egzersiz yapan sıçanlardan oluşmuştur (n=7).
4. Akut egzersiz grubu 3 (A₂₀): 20 m/dak hızda küçük hayvan koşu bandında bir saat egzersiz yapan sıçanlardan oluşmuştur (n=6).
5. Akut egzersiz grubu 4 (A₂₅): Akut tüketici egzersiz yapan sıçanlardan oluşmuştur (n=5).

3.2. EGZERSİZ DÜZENEGİ

Uygulanan tüm egzersiz programlarında *May TME 0804 Treadmill Exerciser* marka dört kulvarlı küçük deney hayvanı koşu bandı kullanılmıştır. Koşu bandı 0,1 km/saat adımlarla ayarlanabilir hız göstergesine, 1-6 kademe arası devamlı ya da istenildiğinde kullanılabilen elektrik şoku anahtarına ve -10° ile $+20^{\circ}$ değerleri arasında açılabilir mekanizmaya sahiptir. Tüm egzersiz programları sırasında havalandırma için koşu bandının fanı açık tutulmuştur. Her bir koşu sonrasında, koşu kayışı idrar ve dışkı artıklarından temizlenmiştir.

3.2.1. EGZERSİZ PROGRAMLARI

Bütün sıçanlara koşu bandında 10 m/dak. hızda, 10 dakika, haftada 5 gün, 1 hafta süresince koşmaya alıştırmaya egzersizleri yaptırılmıştır [103;104] Alıştırmanın son iki gününde deney gruplarındaki hayvanlar ek olarak 5 dakika süre ile testte koşacakları hızda koşturulmuşlardır. Alıştırma egzersizinin etkilerinin deney protokolüne yansımaması amacı ile akut egzersiz protokolleri son alıştırmaya egzersizinden 3 gün sonra uygulanmıştır. Özellikle alışma sürecinde ve sonra da gerekli olduğunda, sıçanları koşmaya teşvik etmek için düşük şiddette elektrik şoku kullanılmıştır. A₁₀ grubuna 10 m/dak., A₁₅ grubuna 15 m/dak., A₂₀ grubuna 20 m/dak. hızda 1 saatlik koşma egzersizi, A₂₅ grubuna ise 25 m/dak. hızda tükeninceye kadar koşma egzersizi yaptırılmıştır [105]. K grubu koşturulmaksızın 1 saat süre ile koşu bandında tutulmuştur.

A₂₅ grubuna uygulanan koşma egzersizi tüketici bir egzersiz protokolüdür. Sıçanın fiziksel teşvike rağmen elektrikli ızgaradan bant üzerine dönmemesi durumunda tükenmiş kabul edilmiş ve egzersizleri sonlandırılmıştır [104;106].

Tüm alıştırmaya ve test koşulları 09:00, 12:00 saatleri arasında yapılmıştır.

3.3. KAN ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI

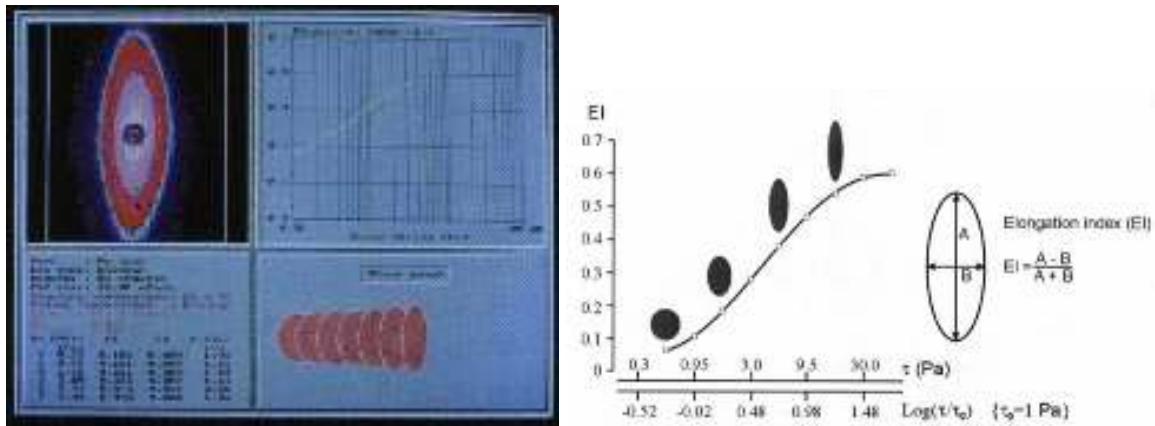
Akut egzersiz programı uygulanan sıçanların egzersizi biter bitmez, eter anestezisi altında kalpten kan alınarak yaşamlarına son verilmiştir. Ortalama 5 mL kadar alınan kan hemoreolojik, hematolojik ve biyokimyasal incelemeler için üçe ayrılmıştır. Hemoreolojik incelemeler için ayrılan kan EDTA'lı tüp içine konulmuş ve bir saat içinde analiz edilmiştir. Biyokimyasal incelemeler için ayrılan kandan santrifüj ile plazması ayrılmış ve -80 °C'da saklanmıştır. Hematolojik incelemeler için ise 2 mL EDTA'lı kan 1 saat içinde ulaştırılmış ve analizleri yapılmıştır.

3.3.1. HEMOREOLOJİK ANALİZLER

3.3.1.1. Eritrosit Deformabilite Ölçümü

EDTA'lı tüplere ayrılan 2 mL kandan 7,5 µL kan alınıp, 1,5 mL polivinilpirolidon (PVP) solusyonuna eklenmiştir. Kan PVP içinde süspansiyon şeklinde dağıldıktan sonra önceden izotonik NaCl çözeltisi ile temizlenmiş kupa içine pipetle konulmuştur. Eritrosit deformabilitesi değişik kayma hızlarında lazer difraksiyon metodu kullanılarak incelenmiştir (Laser Assisted Optic Rotational Cell Analyser, LORCA, RR Mechatronics, Hoorn, The Netherlands) [107;108]. Dokuz farklı kayma stresi uygulanarak bu stresler altında eritrositlerin elongasyon indeksleri hesaplanmıştır.

Lorca yönteminde, bir cam kupa içine daldırılmış bir statik metal silindir kullanılır. Cam kupa ile silindir arasında kan koymak için çok dar bir aralık vardır. Cam kupanın döndürülmesiyle silindir ile kupa arasındaki bu dar aralıkta sıvılar için basit bir kayma stresi yaratılır. Kupanın dönme hızı değiştirilerek istenen kayma stresi aralıkta döndürülen kana uygulanır. Eritrositler nedeniyle kan aslında *non-Newtoniyen* bir sıvıdır ve uygulanan kayma hızına göre viskozitesi değişir. Deformabilite ölçümleri sırasında kanın maruz kaldığı kayma stresini hesaplayabilmek için kan yüksek viskozitedeki bir ortamda dilüe edilir. Hücreler bu ortamda süspansiyon halinde kaldıkları için bu şekilde dilüe edilmiş kan Newtoniyen bir sıvı olur [109]. EDTA'lı kan 30 mPa.sn viskozitede PVP solüsyonunda dilüe edilir. Bu süspansiyon kupa ile silindir arasına konur. Ortam sıcaklığı 37°C'ye getirilir. Bilgisayar kontrollü olarak 0.01-100 Pa arasında belirlenen, istenen kayma stresleri uygulanır. Metal silindir içinden cam kupa aralığına konulmuş kan örneğine lazer ışını gönderilir. Kan süspansiyonunun içinden geçen lazer ışınları eritrositler tarafından kısmen kırılır. Cam kupa dışına yerleştirilmiş bir alıcı lazer ışınlarını bir projeksiyon ekranına aktarır. Kayma stresi altında eritrositler şekil değiştirir (elongasyon). Eritrositlerin kırıdıkları ışınlar göre projeksiyon ekranında eritrositlere ait bir yansıma oluşur. Bu yansımaları kaydeden bir kamera verileri bilgisayara aktarır. Bilgisayar bu yansıma verilerine uyan en iyi elipsi çizdirir. Bu elipsin uzun ve kısa çapları ölçülerek eritrositlerin elongasyon indeksleri şu formül ile (EI) hesaplanır: $EI = (A-B)/(A+B)$ (Şekil 1). Seçilen her kayma stresi için ayrı ayrı EI hesaplanır. Her strese eritrositlerin verdiği şekil değiştirme cevabı ölçülmüş olur.



Şekil 1. Sağda, LORCA tekniğinde farklı kayma hızlarında şekil değiştiren eritrositlerin lazer ışığını kırılmalarıyla oluşturulmuş görüntüleri yer almaktadır. Solda, her bir kayma hızı için belirlenen eliptik eritrosit görüntüsünün bilgisayar tarafından ölçülen “A” ve “B” çapları ve bu çaplardan hesaplanan elongasyon indeksleri görülmektedir [109].

3.3.1.2. Eritrosit Agregasyon Ölçümü

Eritrosit agregasyonu lazer difraksiyon metodu kullanılarak LORCA cihazında ölçülmüştür (Laser Assisted Optic Rotational Cell Analyser, LORCA, RR Mechatronics, Hoorn, The Netherlands) [107;108]. Agregasyon için 1,5 mL EDTA'lı kan silindir ve kupa aralığına konulmuş ve yüksek hızlarda kaydırıldıktan sonra aniden durdurulmuş, saçılan lazer ışınları değişimleri silektogram şeklinde kaydedilerek agregasyon parametreleri cihazın yazılımı tarafından hesaplanmıştır. Bu çalışmada Agregasyon indeksi (AI) Amp ve t1/2 parametreleri kullanılmıştır.

Agregasyon ölçümünde tam kanın yeterince oksijenlenmiş olması gerekir. 2-4 mL kan içinde 40 mL hava bulunan bir tüpe konarak en az 15 dakika “yuvarlanma” şeklinde hareket ettirilir.

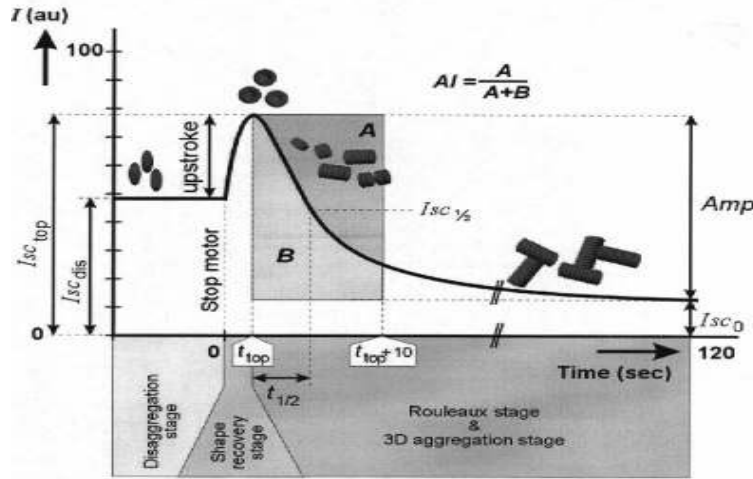
Arkaya saçılan (yansıyan) ışınların ölçülmesi ile tam kanda çok çeşitli agregasyon göstergeleri ölçülebilir. Bob denen metal silindirin içine yerleştirilmiş bir diot lazer ışık kaynağı kullanılır. Silindir ve kupa arasındaki kan tabakasından arkaya geçebilen ışık iki foto-diyot alıcı tarafından toplanır ve elektriksel sinyallere dönüştürülür. Kan tabakasından arkaya geçebilen ışınların oluşturduğu elektrik sinyalleri bir şekil çizgisi şeklinde yazdırılır. Bu elektriksel sinyal değişimi kaydına “Silektometri” (Syllectometry) denir. Silektometri eritrosit agregasyonunu çalışmak için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. İn-vitro ölçümlerde eritrositlerin agregasyon ve disagregasyon durumları kayma hızına bağlıdır. Ölçümün başında kana yüksek kayma hızı uygulanır. Bu hızda bütün hücreler dağılır ve deforme olur. Daha sonra hız aniden düşürülür. Düşük kayma hızlarında veya stazda ise agregatlar oluşur (*Rouleaux* formasyonu). Bu hızlanma-yavaşlama süreçleri sırasında arkaya saçılan ışık şiddetinin zamana göre değişiminin kaydı ve çizdirilmesine “Silektogram” denir. Bu şekilde görülen yüksek şiddet piki hücrelerin orijinal bikonkav şekillerine dönüş noktası olarak kabul edilir. Agregasyon oluştuğu anda arkaya saçılan ışık miktarında azalma olur. Bu silektogramdan elde edilen matematiksel hesaplamalar eritrosit agregabilitesini gösteren agregasyon parametreleri olarak kullanılır (Şekil 2).

Bir silektogramda 4 eritrosit davranış değişikliği aşaması belirlenir:

1) Disagregasyon dönemi: Dönüşle beraber kayma stresi başladığında, elonge olmuş ve akış yönüne göre düzene girmiş eritrositlerden arkaya saçılan ışık miktarı bir plato gösterir. Bu aşamada agregasyon yoktur.

- 2) Şekil toparlanma dönemi: Dönüş durduğu anda, hücreler hızla kazandıkları o düzeni kaybederek bikonkav dinlenim şekillerine dönerler. Bu aşamada arkaya saçılan ışık miktarı da hızlı bir artış gösterir. Silektogramda bu dönem ani bir pik olarak izlenir.
- 3) Rouleaux formasyonu dönemi: Eritrositlerin dinlenim şekillerine dönmesiyle birlikte, onları birbirlerinden uzaklaştıracak dış kuvvetler de olmadığı için agregasyon başlar. Eritrositler bozuk paralar gibi yan yana kümeleşmeye başlar. Rouleaux formasyonu denen ve 1-3 saniye süren bu süreç içinde arkaya saçılan ışık miktarı azalır.
- 4) Üç boyutlu kümeleşme dönemi: Rouleaux formasyonundan hemen sonra oluşan kümeler yan-yanaya veya yan-uca şeklinde 3 boyutlu kümeleşmeye geçerler. Normal insan kanında 3 boyutlu agregat oluşma süreci oldukça yavaştır; 10–25 saniye kadar sürer (Şekil 2).

Silektogram sunumundan konvansiyonel ve exponansiyel matematiksel hesaplamalar ile birçok parametre hesaplanabilmektedir. Bilgisayar yazılımı sayesinde hesap ile bulunan bu parametrelerden en yaygın kullanılanları agregasyon indeksi (AI), agregat oluşumu yarı zamanı ($t_{1/2}$) ve agregat büyüklüğüdür (Amp).



Şekil 2. Agregasyon ölçümü sırasında kaydedilen bir silektogramın şematik görüntüsünde önce yüksek hızda, sonra durdurulduğunda elde edilen kayıt değişimi izlenmektedir. Bu kayıttan matematiksel olarak AI hesaplaması yapılmaktadır [109].

3.3.2. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

3.3.2.1. Laktat Ölçümü

Laktat analizleri düz kandan hemen yapılmıştır. Bu analiz için YSI 1500 Sport Laktat Analizörü kullanılmıştır. Bu analizörün probunda sabitlenmiş laktat oksidaz enzimi bulunmaktadır. Kan örneği analizöre verildiğinde bu membran ile temas eden kandaki laktat hızla okside olarak hidrojen peroksitler oluşturmaktadır. Hidrojen peroksit de platin bir anod üzerinde okside olarak elektronlar oluşturmaktadır. Elektron akışı prob üzerinden elektriksel sinyallere çevrilmekte ve bu sinyaller referans laktat solüsyonlarının sinyalleri ile karşılaştırılarak örnekteki laktat düzeyi belirlenmektedir. Analizör her test öncesi konsantrasyonu önceden bilinen iki laktat çözeltisi ile kalibre edilmiştir.

3.3.2.1. Eritrosit Paketleme

Kan dakikada 3000 devirde 10 dakika santrüfjü edildi. Plazma ve hemen altındaki lökosit katmanı otomatik pipetle çekildi. Çekilen kadar serum fizyolojik tüpe eklenip karıştırıldı. 3000 devirde 10 dakika tekrar santrüfjü edildi. Toplam 3 kez serum fizyolojik eklenerek aynı işlemler yinelenildi. Son santrüfjüden sonra üstte kalan sıvı kısım tamamıyla alınarak tüpte yalnızca eritrositlerin kalması sağlandı. Oluşturulan eritrosit paketleri biyokimyasal analizler yapılmaya dek derin dondurucuda -85°C' ta saklandı.

3.3.2.2. Eritrositte MDA (Malondialdehid) ölçümü

Yöntem MDA'nın asidik ortamda ısı etkisi ile tiyobarütirik asit ile floresan MDA-TBA kompleksi oluşturması temeline dayanır. Oluşturulan kompleks HPLC (high-performance liquid chromatography) kolonunda ayrılarak kantite edilir [110].

40 mikrolitre, paket eritrosit üzerine 100 mikrolitre, saf su, 20 mikrolitre, 2.8 mmol/L BHT, 600 mikrolitre, 8 g/L TBA+Asetik asit karışımı (TBA, 200 mL/L asetik asit ile 1:1 dilue edilip, 2 M NaOH pH NaOH ile 3.5'a ayarlanmıştır) eklenerek 95 °C'de 1 saat bekletildikten sonra buz üzerinde soğutulmuştur. Daha sonra 200 mikrolitre, saf su ve 1000 mikrolitre, butanol: piridin (15:1) eklenerek 1 dakika vortekslenerek karıştırılmış, renkli üst (organik) fazın kendiliğinden ayrıldığı gözlenene dek 2-3 dakika bekletilmiştir. Üst fazlar eppendorf tüplerine alınarak 10.000 rpm 'de 10 dakika santrifjü edilmiştir. Mobil faz için KH_2PO_4 (1,361 g/L 0,6805g/500 mL* %30 metanol içerecek biçimde hazırlanmıştır (0,01M) ve K_2HPO_4 1,7418g/L 0,8709g/500 mL* %30 metanol içerecek biçimde hazırlanmıştır (0,01M).

MDA sonuçları gram hemoglobin başına verilmiştir (nmol/gHb).

3.3.2.3. Plazma SH (Sülhidril) ölçümü

Plazma sülhidril düzeyleri kolorimetrik yöntem ile, SHIMADZU UV-1201 V spektrofotometre cihazı kullanılarak ölçülmüştür [111;112].

0,25 M Tris baz ve 20 mM EDTA ile Tris Tanpon hazırlanmış, tamponun pH' sı HCL ile 8,2 ye ayarlanmıştır. 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) 4 mg/mL olacak şekilde metanol içinde çözdürülerek Elman reaktifi hazırlanmıştır.

İki mL tris tampon üzerine 100 mikrolitre saf su ve 40 mikrolitre DTNB eklenerek DTNB körü hazırlanmıştır. Spektrofotometre 412 nm de suya karşı sıfırlanarak DTNB körü okunmuş ve B değeri olarak kaydedilmiştir. 2 mL tris tampon üzerine 100 mikrolitre plazma eklenerek tüm örneklerin absorbanları okunmuş ve A1 değeri olarak kaydedilmiştir. Daha sonra tüm örneklere 40 mikrolitre DTNB reaktifi eklenerek oda sıcaklığında 15 dk bekletildikten sonra tekrar absorbanları okunarak A2 değerleri kaydedilmiştir. A2-A1-B formülü ile total sülhidril hesaplanmıştır.

Standart eğri 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700 ve 750 Molar konsantrasyonlarda glutatyon çözeltilerinin absorbanları ölçülerek hazırlanmıştır. Örneklerin SH değerleri eğriden bulunup sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak hesaplanmıştır.

3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Bütün ölçümlerin sonuçları ortalama \pm standart sapma şeklinde sunulmuştur. Grupların ortalamaları arasındaki fark SPSS programında non parametrik Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. $p < 0,05$ anlamlılık düzeyi esas alınmıştır. Kruskal-Wallis testi anlamlı bulunduğu anda hangi gruplar arasında fark olduğunu belirleyebilmek için Mann-Withney U testi uygulanmıştır. P anlamlılık değeri 0,05 olarak kabul edilmiştir [113].

4. SONUÇLAR

Bu çalışmaya katılan sıçanların 5 gruptaki ağırlık ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı (Tablo 1). Bütün sıçanlar 5 günlük koşu alıştırmalarına uyum gösterdiler. Deney sırasında 10, 15, 20 m/dk hızda 60 dakikalık koşu süresini tamamladılar. Koşuları sırasında hayvanlar arasında büyük farklılıklar göstermeden en çok 3-4 kez fiziksel temas ile koşmaya teşvik edilmiştir. 25 m/dk hızda koşan sıçanlar tükeninceye kadar koşturulmuşlardır. Fiziksel uyarı ve düşük şiddette elektrik uyarısına rağmen koşmaya devam etmeyen sıçanlar tükenmiş kabul edilmiştir. Bu gruptaki sıçanlar ortalama $62,2 \pm 11,4$ dakika koşmuşlardır.

Kontrol grubu ve koşan diğer 4 gruptan alınan kan örneklerinden yapılan deformabilite ölçümleri ortalamaları tablo 2’de sunulmuştur. Dokuz ayrı kayma hızında elongasyon indeksleri ölçülmüş ve ortalamaları karşılaştırılmıştır.

0,3 Pa kayma stresinde yapılan ölçümlerde A_{15} grubunun koşu sonrasındaki elongasyon indeksleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($P= 0,022$) (Şekil 3).

0,53 Pa kayma stresinde yapılan ölçümde A_{10} ve A_{15} gruplarında elongasyon indeksleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (sırasıyla, $P= 0,013$ ve $P=0,035$) (Şekil 4).

0,95 Pa kayma stresinde A_{10} ve A_{15} gruplarında elongasyon indeksleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (sırasıyla, $P= 0,05$ ve $P=0,02$) (Şekil 5).

1,69 Pa kayma stresinde A_{15} ve A_{20} gruplarında elongasyon indeksleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (sırasıyla, $P= 0,005$ ve $P=0,002$) (Şekil 6).

3,0 Pa kayma stresinde A_{15} grubunda elongasyon indeksleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($P= 0,04$) (Şekil 7).

5,33 Pa kayma stresinde A_{10} grubunda elongasyon indeksleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($P= 0,01$) (Şekil 8).

9,49 Pa kayma stresinde A_{10} grubunda elongasyon indeksleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($P= 0,01$) (Şekil 9).

16,87 Pa kayma stresinde A_{10} grubunda elongasyon indeksleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($P= 0,003$) (Şekil 10).

3,0 Pa kayma stresinde elongasyon indeksleri gruplar arasında anlamlı fark göstermemiştir (Şekil 11).

Eritrosit agregasyonuna ait ölçülen parametreler tablo 3’de sunulmuştur. Buna göre agregasyon indeksi, agregasyon yarı zamanı ve agregat büyüklüğü açısından kontrol grubu ile koşan sıçanların grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Kontrol grubu ve koşan diğer 4 gruptan alınan kan örneklerinde laktat, sülfhidril ve malondialdehit ölçümleri tablo 4’de sunulmuştur. A₁₅, A₂₀, A₂₅ gruplarında koşu sonrası laktat düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla, P= 0,02, P= 0,006 ve P= 0,003). Laktat yükselmesinin koşu hızı ile doğru orantılı olarak yükseldiği gözlenmiştir (Şekil 12).

Koşan sıçanlarda iki grupta (A₁₀ ve A₂₀) SH düzeyleri değişmemiştir. A₁₅ ve A₂₅ gruplarındaki SH yüksekliği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur (sırasıyla, P= 0,02 ve P= 0,02) (Şekil 13).

Kontrol grubu ve koşan grupların MDA düzeyleri arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (Tablo 4).

Tablo 1. Kontrol (K), ve 10 m/dk (A₁₀), 15 m/dk (A₁₅), 20 m/dk (A₂₀), 25 m/da (A₂₅) hızlarda koşan sıçanların koşu öncesi ağırlıkları (Ortalama±standart sapma)

	K (n=6)	A ₁₀ (n=8)	A ₁₅ (n=7)	A ₂₀ (n=6)	A ₂₅ (n=5)
Ağırlık (g)	208±24,7	193±30,9	182,9±18	221±20,7	218±31,1

Tablo 2. Kontrol (K), ve 10 m/dk (A₁₀), 15 m/dk (A₁₅), 20 m/dk (A₂₀), 25 m/da (A₂₅) hızlarda koşan sıçanların 0,3-30 Pa arası 9 farklı kayma hızlarındaki elongasyon indeksleri (ortalama ± standart sapma) (Elongasyon indeksleri x 1000 olarak sunulmuştur)

Kayma Stresleri (Pa)	K (n=6)	A ₁₀ (n=8)	A ₁₅ (n=7)	A ₂₀ (n=6)	A ₂₅ (n=5)
0,3	95±11	80±14	78±12 *	85±8	138±49
0,53	149±11	130±13 *	131±14 *	139±10	190±51
0,95	236±10	217±14 *	220±13 *	231±10	277±57
1,69	335±11	318±18	313±7 *	302±6 *	369±48
3	424±10	409±18	414±10 *	410±8	443±33
5,33	496±7	478±16 *	489±6	499±6	501±22
9,49	546±5	530±12 *	541±6	550±5	542±16
16,87	582±4	569±10 **	577±6	586±5	572±14
30	610±6	602±9	603±9	612±4	596±15

* P< 0,05, ** P<0,01 kontrol grubuna göre fark anlamlı

Tablo 3. Kontrol (K), ve 10 m/dk (A₁₀), 15 m/dk (A₁₅), 20 m/dk (A₂₀), 25 m/da (A₂₅) hızlarda koşan sıçanların agregasyon indeksleri (AI) ve agregasyon yarılanma zamanı (t_{1/2}) (ortalama ± standart sapma) ve agregat büyüklüğü göstergesi (Amp) (ortalama ± standart sapma).

	K (n=6)	A₁₀ (n=8)	A₁₅ (n=7)	A₂₀ (n=6)	A₂₅ (n=5)
AI (%)	59,3±7,9	54,0±6,5	46,8±11,5	45,5±14,4	58,6±11,0
t ½ (s)	2,3±1,3	3,6±2,2	5,6±3,5	5,8±4,3	2,7±2,1
Amp (au)	5,4±0,9	6,1±1,4	6,1±1,4	6,3±0,9	4,7±1,2

Tablo 4. Kontrol (K), ve 10 m/dk (A₁₀), 15 m/dk (A₁₅), 20 m/dk (A₂₀), 25 m/da (A₂₅) hızlarda koşan sıçanların laktat, sülfhidril (SH) ve malondialdehit (MDA) değerleri (ortalama ± standart sapma)

	K (n=6)	A₁₀ (n=8)	A₁₅ (n=7)	A₂₀ (n=6)	A₂₅ (n=5)
Laktat (mMol/L)	2,7±0,9	3,5±0,6	3,8±0,5 *	5,2±0,6 **	7,9±2,4 **
SH (µmol/L)	470±84	555±82	597±82 *	568±94	597±127 *
MDA (nmol/gHb)	5,4±0,9	6,1±1,4	6,1±1,4	6,3±0,9	4,7±1,2

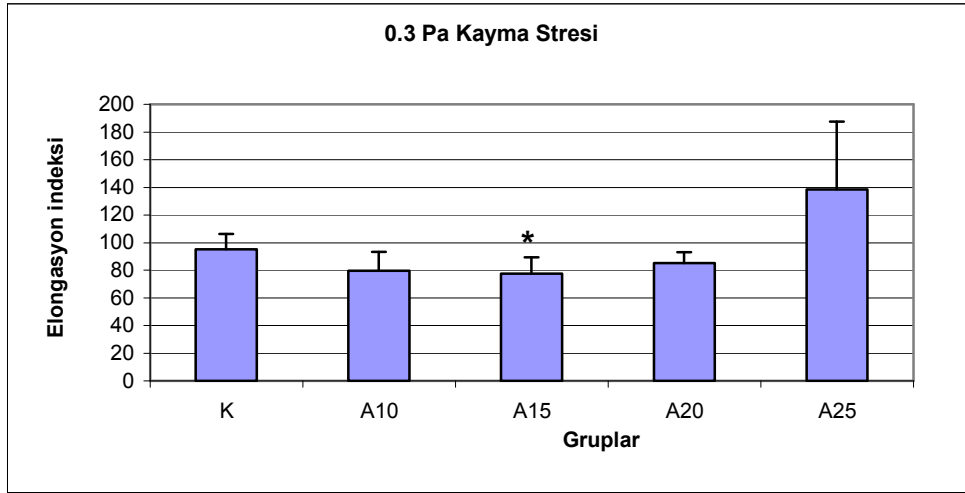
* P< 0,05, ** P<0,01 kontrol grubuna göre fark anlamlı

Tablo 5. A₁₅ ve A₂₀ gruplarında ölçülen değişkenler arasındaki anlamlı korelasyonlar “r” değeri olarak verilmiştir.

		Elongasyon İndeksleri				
		0,3 Pa	0,53 Pa	0,95 Pa	1,69 Pa	3,0 Pa
	Kayma stresleri					
A₁₅ Grubu	Laktat	-0,89 **	-0,73 *	-0,82 *	-0,76 *	-0,89 **
A₂₀ Grubu	Laktat			-0,79 *	-0,81 *	-0,87 **

* P<0,05, ** P<0,01

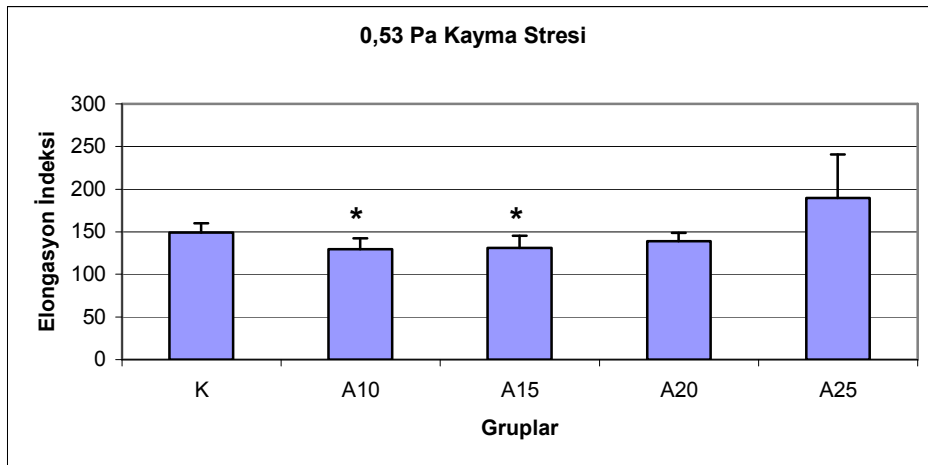
Deney sonrası alınan kanlarda eritrositlerin deformabiliteleri 9 ayrı kayma stresinde ölçülmüştür. Her kayma stresinde alınan sonuçlar ayrı şekiller halinde sunulmuştur.



Şekil 3. 0,3 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.

K: Kontrol (n=6), A10: 10m/dk hızda koşan grup (n=8), A15: 15 m/dk hızda koşan grup (n=7), A20: 20 m/dk hızda koşan grup (n=6), A25: 25 m/dk hızda koşan grup (n=5).

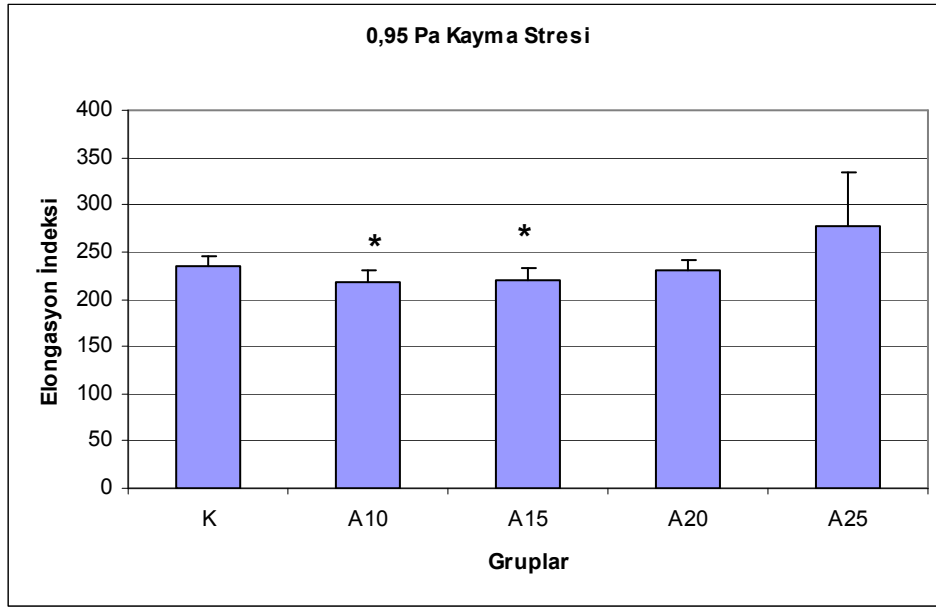
* P< 0,05, kontrol grubuna göre.



Şekil 4. 0,53 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.

K: Kontrol (n=6), A10: 10m/dk hızda koşan grup (n=8), A15: 15 m/dk hızda koşan grup (n=7), A20: 20 m/dk hızda koşan grup (n=6), A25: 25 m/dk hızda koşan grup (n=5).

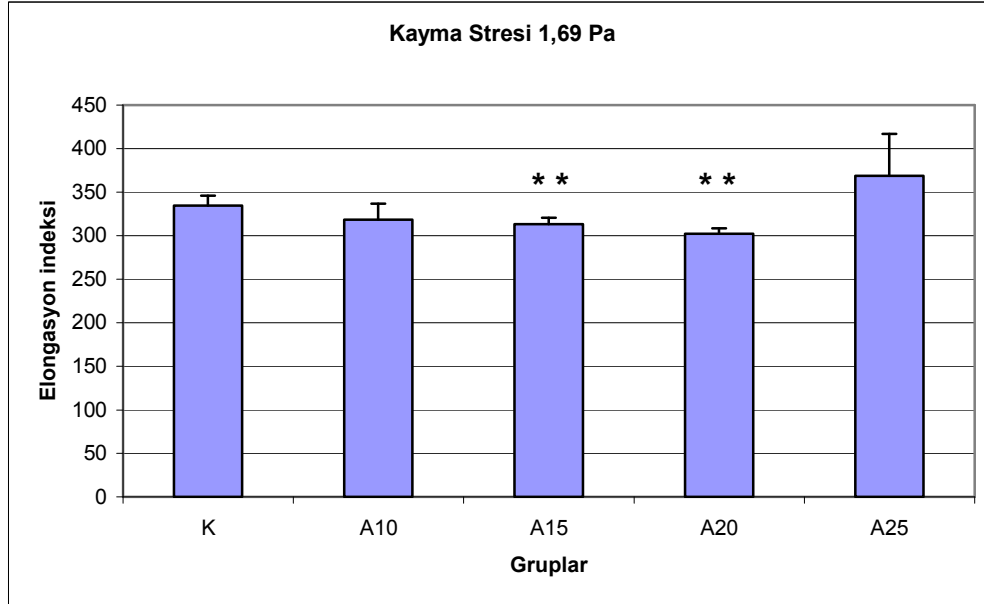
* P< 0,05, kontrol grubuna göre.



Şekil 5. 0,95 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.

K: Kontrol (n=6), A10: 10m/dk hızda koşan grup (n=8), A15: 15 m/dk hızda koşan grup (n=7), A20: 20 m/dk hızda koşan grup (n=6), A25: 25 m/dk hızda koşan grup (n=5).

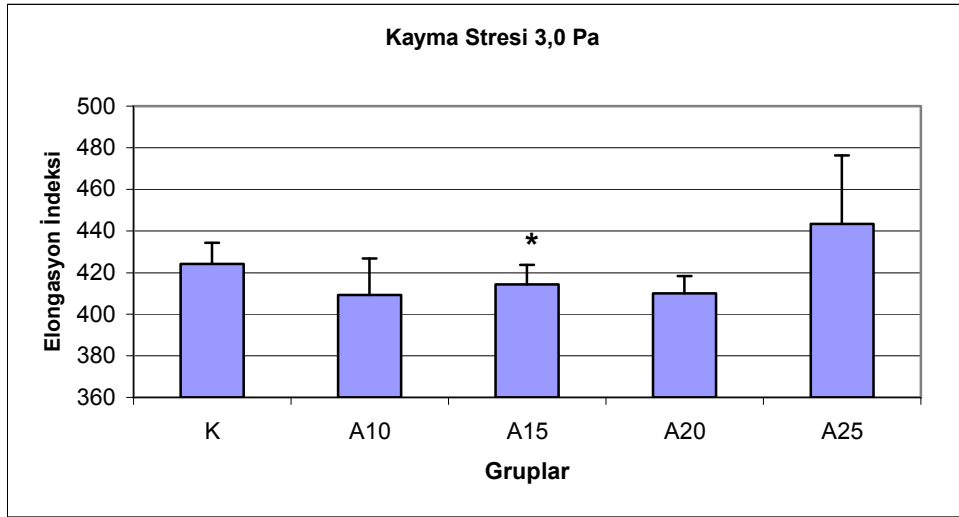
* $P < 0,05$, kontrol grubuna göre.



Şekil 6. 1,69 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.

K: Kontrol (n=6), A10: 10m/dk hızda koşan grup (n=8), A15: 15 m/dk hızda koşan grup (n=7), A20: 20 m/dk hızda koşan grup (n=6), A25: 25 m/dk hızda koşan grup (n=5).

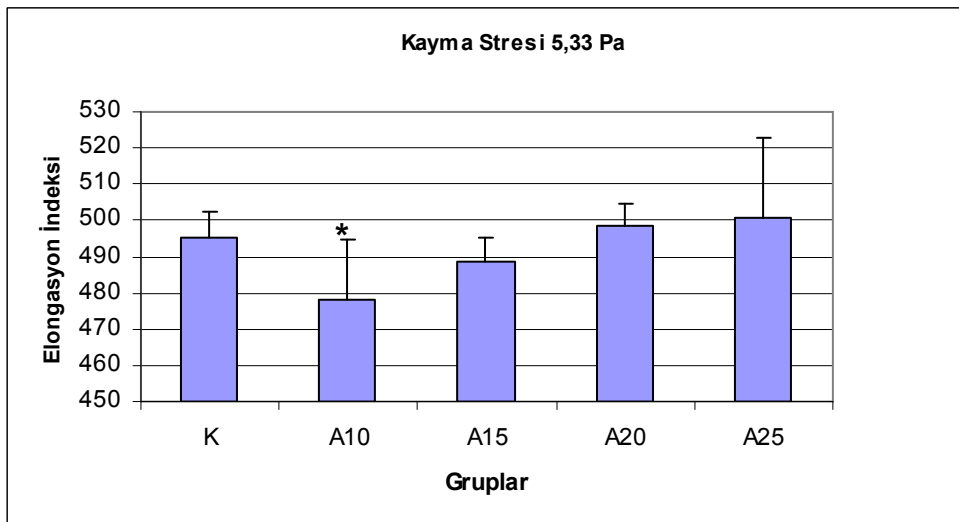
** $P < 0,01$, kontrol grubuna göre.



Şekil 7. 3,0 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.

K: Kontrol (n=6), A10: 10m/dk hızda koşan grup (n=8), A15: 15 m/dk hızda koşan grup (n=7), A20: 20 m/dk hızda koşan grup (n=6), A25: 25 m/dk hızda koşan grup (n=5).

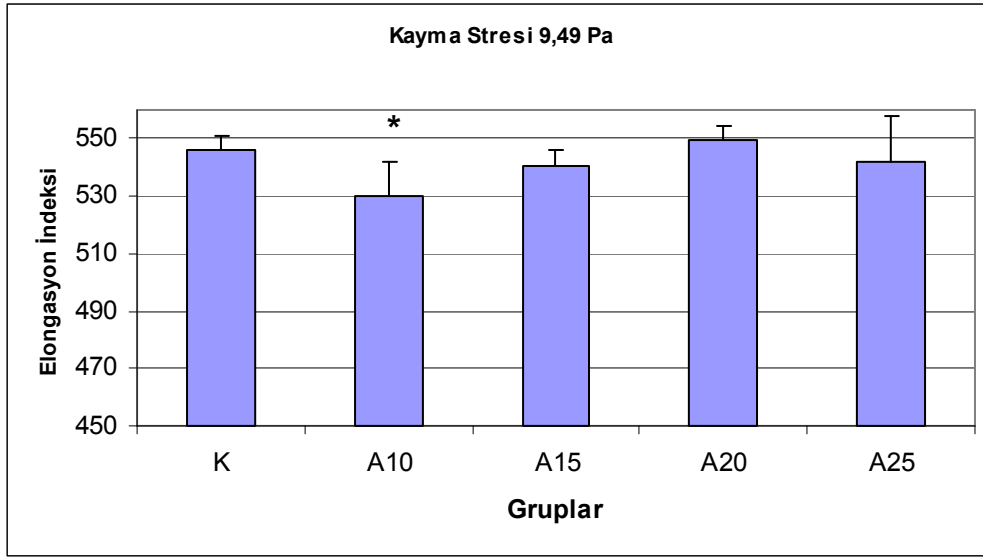
* P< 0,05, kontrol grubuna göre.



Şekil 8. 5,33 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.

K: Kontrol (n=6), A10: 10m/dk hızda koşan grup (n=8), A15: 15 m/dk hızda koşan grup (n=7), A20: 20 m/dk hızda koşan grup (n=6), A25: 25 m/dk hızda koşan grup (n=5).

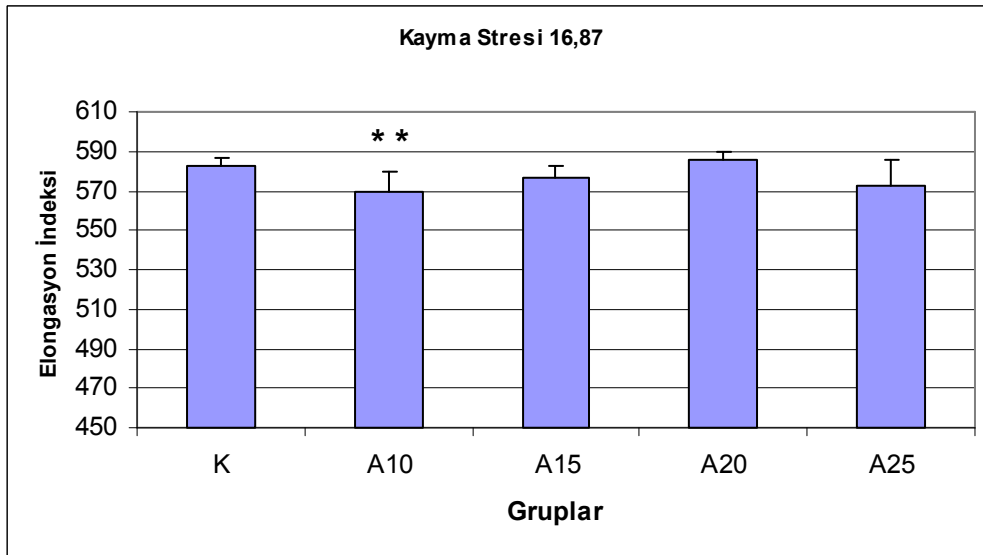
* P< 0,05, kontrol grubuna göre.



Şekil 9. 9,49 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.

K: Kontrol (n=6), A10: 10m/dk hızda koşan grup (n=8), A15: 15 m/dk hızda koşan grup (n=7), A20: 20 m/dk hızda koşan grup (n=6), A25: 25 m/dk hızda koşan grup (n=5).

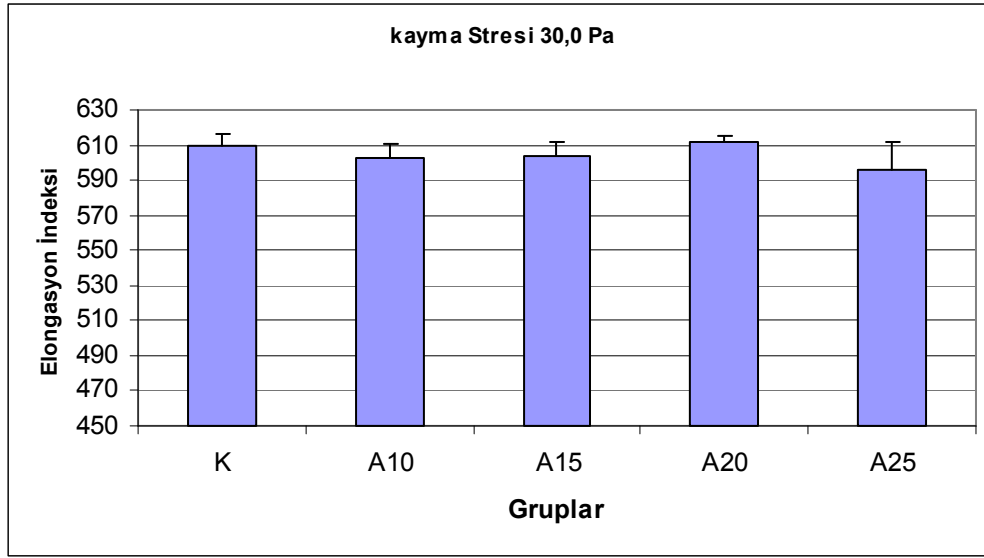
* $P < 0,05$, kontrol grubuna göre.



Şekil 10. 16,87 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.

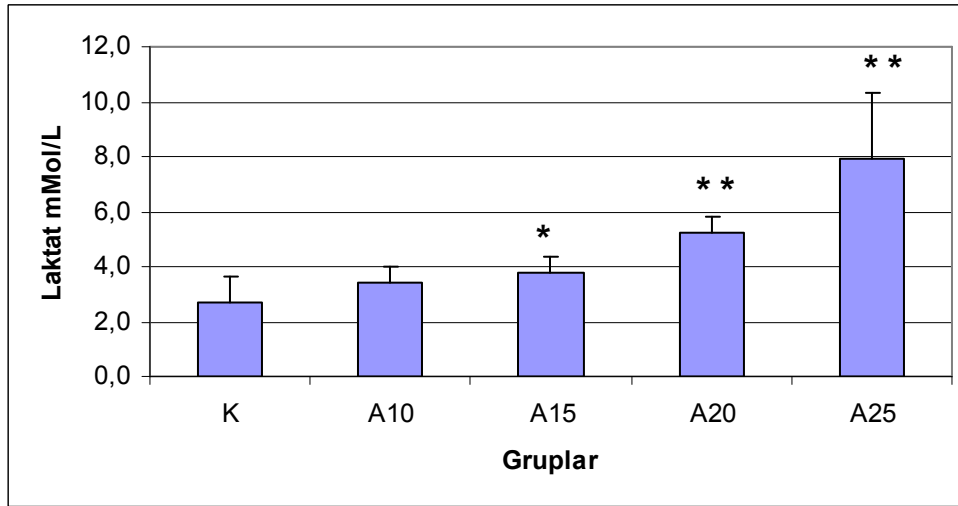
K: Kontrol (n=6), A10: 10m/dk hızda koşan grup (n=8), A15: 15 m/dk hızda koşan grup (n=7), A20: 20 m/dk hızda koşan grup (n=6), A25: 25 m/dk hızda koşan grup (n=5).

** $P < 0,01$, kontrol grubuna göre.



Şekil 11. 30,0 Pa kayma stresinde eritrositlerin elongasyon indeksleri.

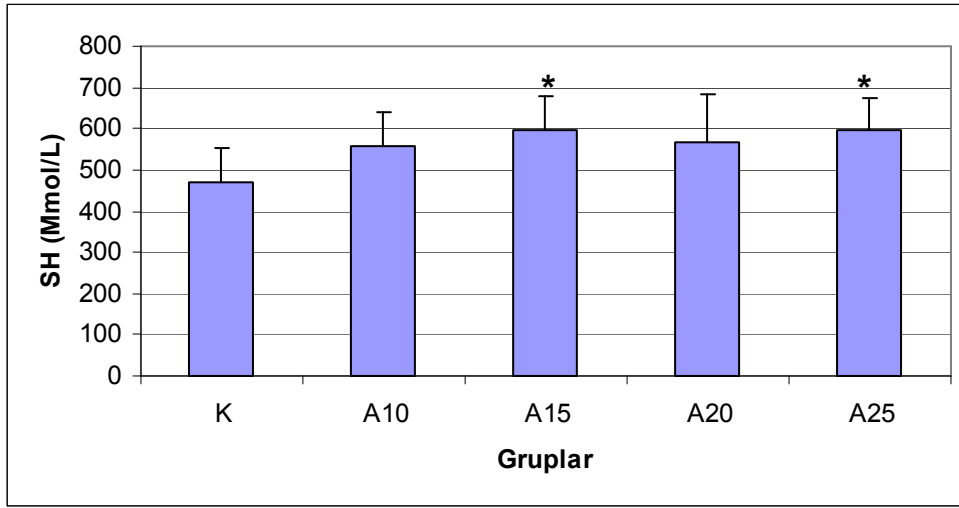
K: Kontrol (n=6), A10: 10m/dk hızda koşan grup (n=8), A15: 15 m/dk hızda koşan grup (n=7), A20: 20 m/dk hızda koşan grup (n=6), A25: 25 m/dk hızda koşan grup (n=5).



Şekil 12. Grupların deney sonrası kan laktat düzeyleri.

K: Kontrol (n=6), A10: 10m/dk hızda koşan grup (n=8), A15: 15 m/dk hızda koşan grup (n=7), A20: 20 m/dk hızda koşan grup (n=6), A25: 25 m/dk hızda koşan grup (n=5).

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, kontrol grubuna göre.



Şekil 13. Grupların deney sonrası kan sülfhidril (SH) düzeyleri.

K: Kontrol (n=6), A10: 10m/dk hızda koşan grup (n=8), A15: 15 m/dk hızda koşan grup (n=7), A20: 20 m/dk hızda koşan grup (n=6), A25 25 m/dk hızda koşan grup (n=5).

* P< 0,05, kontrol grubuna göre.

5. TARTIŞMA

5.1. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ

Bu çalışmada deney gruplarında koşu sonrasında, özellikle 10 ve 15 m/dk hızda koşan sıçanlarda, eritrosit deformabilite indekslerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düştüğü bulunmuştur. Bu düşüklük 0,3 ile 16,87 Pa kayma arasındaki kayma streslerinin hemen hemen hepsinde görülmüştür (Tablo 2). Bu kayma stresleri dolaşım sistemindeki farklı kan damarlarında kanın maruz kaldığı farklı kayma stresleri ile uyumludur (Tablo 6). Kan akımı dolaşım sisteminin farklı bölmelerinde büyük farklılıklar gösterebilmektedir. Özellikle, dolaşım sisteminin çapları daha küçük damarlarındaki bu farklılıklar dokulara eritrositlerin ve buna bağlı olarak oksijenin ulaşmasını etkileyebilmektedir.

Akut egzersizin eritrositlerin şekil değiştirebilme özelliklerini etkilediği bir çok başka çalışmada gösterilmiştir. İnsanlar üzerindeki çalışmalarda bir çok farklı şiddette ve şekilde egzersizden sonra eritrosit reolojisindeki değişiklikler incelenmiştir. Yang ve arkadaşları [114], 5000 m koşu sonrası eritrosit deformabilitesinde azalma olduğunu saptamışlardır. Yalçın ve arkadaşları [57], kısa süreli ancak yüksek şiddette (supramaksimal) bir egzersizden sonra eritrosit deformabilitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlara benzer şekilde koşu bandında [47] ve bisiklet ergometrede [115] yapılan maksimal testlerden sonra, 400 metre yüzme yarışından sonra [116] eritrosit deformabilitesinin azaldığı bildirilmiştir.

Egzersizin eritrosit reolojisine etkilerini inceleyen insan çalışmaları olduğu kadar deney hayvanları üzerinde yapılmış çalışmalar da mevcuttur. Yalçın ve arkadaşları [56], antrene olan ve olmayan sıçanlarda yüzme egzersizinin eritrosit reolojisine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, antrene olmayan ratlarda bir saatlik yüzme egzersizinin eritrosit deformabilitesinde azalmaya yol açtığını göstermişlerdir. Benzer şekilde, Temiz ve arkadaşları [54] koşu egzersizi sonrasında sıçanların eritrosit şekil değiştirebilme yeteneklerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Tablo 6. Dolaşım sisteminde farklı damarlarda kanın maruz kaldığı kayma stresleri [1].

DAMAR TİPİ	KAYMA STRESİ (Pa)
Aorta	2,5
Büyük arterler	2,4
Ana arter dalları	4,3
Küçük arterler	3,8
Arteriyoller	7,5
Kapillerler	11,1
Post kapiller venül	0,5
Küçük venler	0,6
Büyük venler	0,4
Vena cava	1,3

5.2. ERİTROSİT AGREGASYONU

Bu çalışmada koşan sıçanların eritrosit agregasyonuna ait parametreleri kontrol grubundakilerden farklı çıkmamıştır. Farklı koşu hızlarında egzersiz yapan sıçanların agregasyon parametreleri birbirlerinden farklı bulunmamıştır. Egzersizin eritrosit agregasyonu üzerine etkilerinden söz eden çalışmaların sonuçları dikkat çekici şekilde birbirlerinden farklıdır. Egzersiz sonrasında agregasyonun arttığını [6;48] bildiren çalışmaların yanında, değişmediğini [5;47;117] hatta azaldığını [56] bildiren çalışmalar da mevcuttur. Eritrosit agregasyonunu etkileyen bilinen birçok faktör vardır: sıcaklık, fibrinojen konsantrasyonu, kan protein profilinin değişmesi, laktat düzeyi bunlardan sadece birkaçıdır. Bilinen bu faktörlerden başka bugün için etkisi henüz kesinleşmemiş, eritrosit yapısını veya eritrositlerin asılı buldukları ortamı değiştirerek agregasyonu etkileyebilecek başka etkenler de olabilir. Bu çalışmanın sonuçları egzersiz sonrasında agregasyonun değişmediğini bildiren çalışmalarla benzerdir. Hem insan hem

de hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalardaki sonuçlar bu konuda farklılıkların nedenini çözmeye yönelik araştırmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

5.3. LAKTAT

Bu çalışmada koşu hızına bağlı olarak sıçanların kan laktat düzeyleri yükselmiştir (Tablo 4, Şekil 12). Koşu hızı 10 m/dk olan grupta kan laktat düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı bulunmamış; ancak daha yüksek koşu hızlarında sıçanların laktat düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Koşu hızı arttıkça laktat düzeyi de anlamlı şekilde artmıştır. Sıçanlara koşu bandında yaptırılan egzersizlerde egzersiz şiddetinin belirlenmesi konusunda literatürde kesin bilgiler bulunmamaktadır. İnsanlarda laktat eşiği ile belirlenen anaerobik eşik egzersiz şiddetini belirlemede kullanılan geçerli bir yöntemdir. Buna göre, yaklaşık 4 mMol/L laktat seviyesini sağlayan egzersiz şiddeti anaerobik eşik sınırı olarak kabul edilir. Bu belirlenen şiddetin altındaki egzersizler hafif veya orta şiddette kabul edilir ve bu şiddetteki egzersizin aerobik enerji metabolizmasıyla uzun süre devam ettirilebileceği varsayılır. Bu şiddetteki egzersizde egzersiz boyunca laktat seviyelerinin aynı kaldığı gözlenir. Buna laktatın kararlı durumu (steady state) adı verilir. Bu eşiğin üzerinde şiddetteki egzersizlerde ise aerobik metabolizmadaki artışın gerekli enerjinin tümünü sağlayamadığı ve anaerobik metabolizmada daha fazla artışın meydana geldiği kabul edilir. Yüksek şiddetteki egzersiz boyunca laktat seviyesi sabit kalmaz ve sürekli yükselir. [16;118-121]. Manchado ve arkadaşları [122] sıçanlarda da koşu hızına bağlı olarak laktat seviyelerinin yükseldiğini ve belli bir koşu hızına kadar laktat seviyesinde kararlı durum gözlendiğini, bu koşu hızının üzerinde ise laktat seviyelerinin çok yükseldiğini gözlemişlerdir. Bahsedilen bu çalışmada sıçanların 20 m/dk hızda 3,9 mMol/L kan laktat seviyelerinde kararlı durum gösterdikleri bulunmuştur. Bu laktat düzeyinin ve bu koşu hızındaki egzersiz şiddetinin sıçanlarda anaerobik eşik sınırı olarak kabul edilebileceğini öne sürmüşlerdir. Bu çalışmada ise, 15 m/dk hızda sıçanların kan laktat seviyelerinin ortalama 3,8 mMol/L düzeyine çıktığı gözlenmiştir. Manchado ve arkadaşlarının çalışması göz önüne alındığında, 15 m/dk koşu hızında sıçanların laktat eşiği seviyesinde koştukları, 20 ve 25 m/dk hızlarda ise anaerobik eşiklerinin üzerindeki şiddette koştukları düşünülebilir.

5.4. MDA VE SH DÜZEYLERİ

Bu çalışmada koşan sıçanların koşu sonrası SH düzeyleri A₁₅ ve A₂₅ gruplarında yükselmemiştir. A₁₅ ve A₂₅ gruplarında ise SH düzeylerinin kontrollerden yüksek olduğu gözlenmiştir. (P<0,05) (Tablo 4, Şekil 13). MDA düzeyleri ise koşan sıçanlarda kontrollere göre

farklı bulunmamıştır. İnsanlarda ve hayvanlarda çeşitli şiddet ve türlerdeki egzersizlerden sonra kanda ve dokularda oksidatif stresin ortaya çıktığını gösteren birçok çalışma mevcuttur. Oksidatif stresin en yaygın kullanılan göstergelerinden biri lipit peroksidasyonunu gösteren MDA düzeyidir. Uzun süreli egzersizlerde, yarışma koşuları sonrasında, direnç egzersizlerinden sonra, laboratuvardaki bisiklet ve koşu bandı testlerinden sonra, insanlarda MDA düzeylerinin arttığı bildirilmiştir [123-125]. Benzer şekilde, hayvan deneylerinde de egzersiz sonrasında sıçanlarda MDA düzeyleri artmaktadır [53;56]. Buna karşın, bazı çalışmalarda da akut egzersizden sonra MDA düzeylerinin değişmediği bildirilmektedir [116;147]. Bu çalışmadaki koşan sıçan gruplarında MDA düzeylerinin farklı çıkmaması lipit peroksidasyonunun artmadığını gösteren çalışmaların bulguları ile uyumludur.

Koşan sıçanların iki grubunda SH düzeyleri değişmezken, diğer iki grupta SH düzeylerinin kontrollere göre yüksek olduğu gözlenmiştir. SH sistein, albumin ve diğer protein yapılarında bulunur ve proteinler parçalandıkça SH uzantıları ortadan kalkar. Bu yüzden protein oksidasyonunda kanda ölçülen SH düzeyleri azalır [111;112]. Akut egzersizden sonra oksidan strese bağlı protein oksidasyonu olduğunda SH düzeyleri azalmaktadır [88]. Bunun yanında, akut egzersiz sonrasında protein oksidasyonunun görülmediğini bildiren çalışmalar da mevcuttur [89;116]. Bu çalışmada diğer iki koşu grubunda SH düzeylerinin yüksek bulunması açıklanamamıştır.

5.5. LAKTAT DÜZEYLERİNİN HEMOREOLOJİK ÖZELLİKLERE ETKİSİ

A₁₅ ve A₂₀ gruplarında koşan sıçanların laktat düzeyleri ile 0,3 ve 3.0 Pa kayma streslerinde ölçülen deformabilite indeksleri arasında anlamlı negatif korelasyon olduğu belirlenmiştir. Deformabilite indekslerinin azalmasıyla laktat seviyesinin yükselmesi arasında anlamlı bir ilişki vardır.

Kas çalışmasıyla laktik asit oluşumu ve kandaki laktat miktarının yükselmesi ilk defa 1807'de açıklanmıştır [126]. Kas çalışması ve enerji metabolizması arasındaki ilişki hakkında birçok bilgiye ulaşılmıştır. Egzersiz sırasında kan laktatındaki artışın öncelikli kaynağı anaerobik glikolizdir. Hızlı kasılan beyaz iskelet kası fibrillerinde yapılır ya da egzersizin başlangıcında geçici olarak aerobik metabolizmayı daha etkin kullanan kırmızı fibrillerde de yapılır. Eğer kaslara yeterli oksijen sağlanamazsa laktat oluşumu hızlanmaya başlar ve kaslarda birikir. Yüksek şiddetli egzersizlerde kaslarda meydana gelen yanma hissinin nedeninin bu laktat birikimi olduğuna inanılır. Ayrıca laktat birikimi kasların en iyi şekilde çalışmalarını da önler [127]. Laktik asit, deneysel olarak eritrositlerin, büzülmelerine, küçülmelerine neden olur ve

bükülebilirliklerini azaltır. Çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir ki kanda invitro ya da invivo laktat artışı, osmolaritede artışa neden olur. Yüksek osmolarite şartlarında eritrositler su kaybederler ve internal viskoziteleri artar; böylece deformabiliteleri azalır [128]. Ancak, laktatın eritrosit rijiditesine etkisi sadece osmolarite ile açıklanamaz. Osmolaritenin sabit tutulduğu invitro bir çalışmada, osmolarite değişikliği olmaksızın, laktat artışının eritrosit rijiditesini arttırdığı gösterilmiştir [61]. Egzersiz sırasında kan laktat artışı ve eritrosit rijiditesi arasındaki ilişkiye dayanarak, egzersiz sırasında eritrositlerde meydana gelen rijiditede kısmen de olsa laktik asitin de etkisi olduğu söylenebilir [129]. Hemoreolojik değişikliklerin ortaya çıkması için belli bir laktat düzeyinin gerekli olduğu öne sürülmüş ve bu etki için bir eşik saptanmıştır. Bir çalışmada kan laktatının 4 mmol/L seviyesinin üstüne çıktığında eritrositlerdeki değişikliklerin ortaya çıktığını gösterilmiştir ki, bu nokta laktatın asidoza neden olduğu noktadır [130]. Bu çalışmada da laktat düzeylerinin yükselmesi ile eritrositlerde deformabilitenin azalması arasında anlamlı bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Negatif korelasyon şeklindeki bu ilişki sadece A₁₅ ve A₂₀ gruplarında koşan sıçanlarda ortaya çıkmıştır. Bu sıçanların laktat düzeylerine bakıldığında, eşik olarak kabul edilen 4 mMol/L düzeyinin üstünde oldukları görülmektedir. Laktatın 4 mMol/L düzeyinin üstüne çıktığı koşullarda eritrosit deformabilitesinin azalmış olması “hemoreolojik eşik” varsayımını destekleyebilecek bir bulgu olabilir. Ancak, düşük şiddetli egzersiz sırasında meydana gelen orta derecede bir laktat artışının da eritrositlerde geçici bir rijiditeye neden olduğunu gösteren çalışmalar da vardır [131].

Hardeman ve ark [132] ve Connes ve ark. [133] dayanıklılık atletlerinde, maksimal egzersiz sonrasında eritrosit deformabilitesinde paradoksal bir artış bildirmişlerdir. Bu çalışmada egzersiz öncesi ve sonrası laktat seviyeleri anlamlı farklılık göstermektedir. Bir başka çalışmada antrene atletlerde submaksimal egzersiz sonrası eritrosit deformabilitesinde, laktat artışına rağmen bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir [134]. Eritrosit deformabilitesi ve laktat ilişkisi kişilerin antrenman derecelerine bağlı olabilir. Bu hipotez üzerine kurgulanan invitro bir çalışmada 2, 4, 10 mmol/L gibi fizyolojik dozlarda laktatın, sedanter kişilerde alınan kanlarda eritrosit deformabilitesini azalttığı ancak antrene kişilerde tam tersi olarak deformabiliteyi arttırdığı gösterilmiştir [61]. Laktat ve eritrosit deformabilitesi arasındaki ilişki oldukça karmaşık gözükmektedir. Bir çalışmada, aerobik olarak antrene kişilerde, sedanterlere ya da sürat koşucularına göre eritrositlere daha hızlı bir laktat akış hızı olduğu bildirilmiştir [135]. Bu araştırmacılar, aerobik antrene kişilerin eritrositlerine laktat girişinin daha fazla olacağı için bu sporcularda egzersiz sonrası eritrosit rijiditesinin daha fazla olabileceği öne sürülmüştür.

Bu çalışmada koşan sıçanlardaki eritrosit agregasyonlarında bir farklılık ortaya çıkmamıştır. Ancak, başka çalışmalarda egzersiz ile agregasyonun değiştiği ve bunun laktat

seviyeleri ile ilişkili olabileceğine dair bulgular vardır. Bu çalışmaların bildirdiğine göre, başlangıç eritrosit agregabilitesi ile egzersiz sırasında laktat artışı arasında bir ilişki olabilir. Egzersiz öncesi agregabilite düşük olduğunda kan laktat artışının da daha düşük olduğu gösterilmiştir [136;137]. Eritrosit agregasyonunun artması, kas mikrodolaşımında oksijen dağılımını bozabilir [138;139]. Agregasyonun fizyolojik sınırlar içinde dahi artışı, kasların aerobik metabolizmasını bozabilir ve sonuçta kan laktat seviyesi yükselir. Bu hipotez göre, klasik olarak anaerobik süreçlerle tariflenen [16;118;119] ancak son zamanlarda yakıt oksidasyonu dengesindeki bir kaymayla açıklanan [120;121] laktat birikimi, mikrodolaşımdaki oksijen dağılımında agregasyonun neden olduğu değişikliklerden etkileniyor olabilir. Teorik olarak, yüksek laktat cevabı iki mekanizmayla açıklanabilir; artmış laktat üretimi veya azalmış laktat uzaklaştırılması. Brun ve ark. egzersiz sonrası laktat kinetiklerini inceledikleri çalışmalarında, laktat uzaklaştırılmasının, egzersiz sonu eritrosit agregasyonu ile negatif korelasyonu olduğunu göstermişlerdir. Bu ters ilişki, agregasyonun mikrodolaşıma etkileri aracılığıyla, laktat uzaklaştırılmasını yönettiğini gösteriyor olabilir [49].

Sonuçta, tüm bu insan çalışmaları, eritrosit agregabilitesi ile kas laktat metabolizmasının birbirlerini karşılıklı etkileyebileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada akut egzersiz sonrası agregasyonda değişiklik bulunmamıştır. Agregasyon ile laktat düzeyleri arasında anlamlı ilişki gözlenmemiştir. Akut egzersizden sonra agregasyonun etkilenmesine ilişkin çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmektedir [5;6]. Bu çalışmanın sonuçları agregasyonun değişmediğini bildiren çalışmalarla uyumludur.

5.6. OKSİDAN STRESİN HEMOREOLOJİK ÖZELLİKLERE ETKİSİ

Bu çalışmadaki akut egzersizde eritrosit deformabilitesi azalmıştır. Ancak, bu akut egzersizin oksidan strese yol açarak lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonuna neden olduğu saptanamamıştır. Bu çalışmadaki hemoreolojik değişikliklerde oksidan stresin katkısı olduğu gösterilememiştir.

Eritrosit mekanik özellikleri birçok fizyolojik, patofizyolojik süreçlerden etkilenir [9;140;141]. Oksidan hasar bu süreçler içinde en önemlilerinden biridir. Literatürde serbest radikal saldırısı ve eritrosit mekanik değişiklikleri ilişkisini gösteren çalışmalar vardır [142-144]. Sürekli oksijen maruziyeti, membranlarının poliansatüre yağ asitlerinden zengin oluşu, membran iskelet proteinleri ve hem içerikleri nedeniyle eritrositler oksidatif hasara karşı oldukça duyarlıdır [143]. Egzersizin hemoreolojik değişikliklere olan etkilerinde oksidan stresin önemli bir rolü

vardır. Oluşum mekanizması ne olursa olsun akut egzersiz sırasında ortaya çıkan oksidatif stres hemoreolojik bozulma ile ilişkilidir [47]. Oksidatif strese maruz kalındığında eritrositlerin yapısal ve işlevsel olarak nasıl etkilendikleri konusunda çeşitli görüşler vardır. Yang ve arkadaşları [114], ağır egzersiz sonrasında eritrosit deformabilitesinde saptadıkları azalmanın, eritrosit membran MDA seviyesindeki % 47 artış ve eritrosit şekil bozukluğu ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Smith ve arkadaşları da [99] tek seferlik submaksimal egzersizin eritrositlerin oksidatif strese maruziyetini arttırdığını ve sonuçta eritrosit yapısının bozulduğunu göstermişlerdir. Akut ve maksimal aerobik egzersiz sonrasında, lipid peroksidasyonunda artışla birlikte, eritrosit hasarını gösteren eritrosit rijiditesinde artış, eritrosit membranı ve hemoglobin arasındaki etkileşimde artış gibi bazı parametrelerde artış saptanmıştır. Egzersizin neden olduğu oksidatif stres aynı zamanda ortalama eritrosit hacmi ve plazma fibrinojen seviyelerinde artışa neden olarak agregasyonu da artırır [47]. Oksidatif stres eritrosit membran proteinlerine hasar verir [93-95]. Eritrosit membran protein hasarı ve membran-hemoglobin bağlantıları eritrosit rijidite artışının nedeni olabilir. Lipid peroksidasyonu ile ölçülebilen oksidatif hasar tam kan viskozitesi, eritrosit rijiditesi, MCV, eritrosit agregasyonu, plazma viskozitesi, fibrinojen gibi hemoreolojik parametrelerde bozulmaya neden olabilir [85;96;97]. Egzersizin neden olduğu oksidatif stres hem doğrudan etkileriyle hem de hemoreolojik parametrelerin bozulmasına neden olarak potansiyel bir risk faktörüdür. Hemoreolojik bozulmalar, mikrosirkülasyonu olumsuz yönde etkiler [98]. Oksidatif hasar sonucunda eritrosit rijiditesinde artış meydana gelir ve eritrosit deformabilitesi azalır, sonuçta eritrositler, çapları kendilerinden daha küçük olan mikrodamarlardan geçemezler. Oksijen dağılımının birincil olarak bu mikro-dolaşıma bağlı olmasından dolayı eritrosit rijidite artışı, tam kan viskozitesi artışından olasılıkla daha önemlidir. Bu değişikliklerin fonksiyonel önemi Rifkind ve arkadaşlarının [145] eritrosit rijiditesinin ratlarda kognitif fonksiyonlarla negatif korelasyon gösterdiği çalışmalarında da gösterilmiştir.

Egzersiz ve oksidan stres ilişkisi antrenmanlardan etkilenir. Özellikle aerobik türde antrenman yapanlarda eritrosit yapımı artar ve dolaşımdaki eritrosit popülasyonu daha çok genç eritrositler olur [59;146] genç eritrositler oksidatif strese daha dirençlidirler [101], deformabilite özellikleri daha fazladır ve 2.3-difosfogliserat içerikleri daha fazladır. Antrenmanların eritrositlerin antioksidan enzim aktivitelerini etkilediği gösterilmiştir [102]. Egzersiz sedanter hayvanlarda oksidatif mekanizmalar aracılığıyla eritrosit özelliklerini etkiler; ancak antrene hayvanlarda bu değişiklikler görülmez. Senturk ve ark. [53] çalışmasında tüketici, akut egzersiz yaptırılan sıçanlardan 24 saat sonra alınan kan örneklerinde, lipid peroksidasyonunda artışla birlikte, osmotik frajilitede artma, eritrosit deformabilitesinde azalma tespit edilmiştir.

Bu çalışmada kan örnekleri koşuların bitiminden en geç 5 dakika sonra alınmıştır. Ancak egzersizin yol açtığı birçok fiziksel, biyokimyasal, hormonal değişiklikler bazan saatler, hatta günler boyunca devam edebilir. Egzersiz bittikten hemen sonra hemodinamik faktörler istirahat seviyelerine döner ancak hemoreolojik değişiklikler bir süre daha devam eder ve doku kanlanma problemlerine yol açabilir. Bu değişikliklerin zaman içerisinde seyirleri çok detaylı çalışılmamıştır. Yalçın ve arkadaşları [56], antrene olan ve olmayan sıçanlarda yüzme egzersizinin eritrosit reolojisine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, antrene olmayan sıçanlarda bir saatlik tüketici yüzme egzersizinden 24 saat sonra lipid peroksidasyonunun ve eritrosit agregasyonunun arttığını ve eritrosit deformabilitesinin azaldığını göstermişlerdir. Aynı ekibin antrene olmayan kişilerin ağır anaerobik egzersiz yaptıkları bir diğer çalışmalarında hemoreolojik parametrelerin zaman içindeki değişimleri incelenmiş ve eritrosit deformabilitesi egzersizden hemen sonra alınan örneklerde azalmış olarak saptanmıştır. Deformabilitedeki azalma 12 saat boyunca devam etmiş ancak 24 saat içinde normal istirahat seviyelerine dönmüştür. Eritrosit agregasyonunda da egzersiz sonrası 30. dakikada başlayan azalma 12 saat boyunca devam etmiştir. Temiz ve arkadaşlarının [54] akut, tüketici egzersiz sonrası, lökosit aktivasyonu, oksidan stres ve eritrosit özelliklerini incelediği çalışmasında da egzersizden özellikle 24 saat sonra lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunda artış olduğu gösterilmiştir. Bütün bu bilgiler egzersize olan cevapların karşılaştırılmasını güçleştirmektedir. Her ölçülen değişkenin egzersiz sonrasındaki zaman içinde değişimi farklıdır. Bu yüzden de birbirleri ile etkileşimlerini yakalayabilmek ve açıklayabilmek güçleşmektedir. Egzersiz sonrası değişiklikleri incelerken o değişkenin egzersiz sonrasında 6, 12 ve 24. saatlerde nasıl bir yol izlediğinin önceden bilinmesi faydalı olacaktır.

Sonuç olarak, bu çalışmada sıçanlarda 4 farklı egzersiz şiddetinin eritrosit hemoreolojisi üzerine etkileri araştırılmıştır. Eritrosit deformabilite yeteneklerinin koşu sonrasında azaldığı gözlenmiştir. Eritrositlerin agregasyon özelliklerinde bir değişiklik saptanmamıştır. Egzersizden sonra laktat düzeylerinde artış olduğu ve bu artışların eritrosit deformabilite indekslerindeki azalmayla negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. MDA ve SH düzeylerindeki sonuçlar akut egzersiz sonrasında lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu olduğunu göstermemiştir. Akut egzersiz sonrası hemoreolojik değişikliklerde esas nedenin laktat yükselmesi olduğu düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- [1] H Schmid-Schönbein, Hemorheology. In Greger R and Windhorst V (Eds.), Comprehensive Human Physiology, Springer-Verlag, Berlin, 1996, pp. 1747-1793.
- [2] Rand,P.W., Barker,N. Lacombe,E., Effects of plasma viscosity and aggregation on whole-blood viscosity, Am. J. Physiol, 218 (1970) 681-688.
- [3] Somer,T., The viscosity of blood, plasma and serum in dys- and paraproteinemias, Acta Med. Scand. Suppl, 456 (1966) 1-97.
- [4] Chien,S., Usami,S., Dellenback,R.J., Gregersen,M.I., Shear-dependent deformation of erythrocytes in rheology of human blood, Am. J. Physiol, 219 (1970) 136-142.
- [5] El-Sayed,M.S., Ali,N. El-Sayed,A.Z., Haemorheology in exercise and training, Sports Med., 35 (2005) 649-670.
- [6] Brun,J.F., Khaled,S., Raynaud,E., Bouix,D., ve ark., The triphasic effects of exercise on blood rheology: which relevance to physiology and pathophysiology?, Clin. Hemorheol. Microcirc., 19 (1998) 89-104.
- [7] Dikmenoglu,N., Ciftci,B., Ileri,E., Guven,S.F., ve ark, Erythrocyte deformability, plasma viscosity and oxidative status in patients with severe obstructive sleep apnea syndrome, Sleep Med., 7 (2006) 255-261.
- [8] J.-F.Stoltz, Hemorheology in Practice, IOS press, Amsterdam, 1999.
- [9] El-Sayed,M.S., Effects of exercise and training on blood rheology, Sports Med., 26 (1998) 281-292.
- [10] Hsu,Y.J., Goodman,S.R., Spectrin and ubiquitination: a review, Cell Mol. Biol. (Noisy. - le-grand), Suppl 51 (2005) OL801-OL807.

- [11] Nakao,M., New insights into regulation of erythrocyte shape, *Curr. Opin. Hematol.*, 9 (2002) 127-132.
- [12] Diakowski,W., Grzybek,M., Sikorski,A.F., Protein 4.1, a component of the erythrocyte membrane skeleton and its related homologue proteins forming the protein 4.1/FERM superfamily, *Folia Histochem. Cytobiol.*, 44 (2006) 231-248.
- [13] International symposium on filterability and red blood cell deformability. Goteborg, Sweden. 11-12-13 September 1980, *Scand. J. Clin. Lab Invest Suppl*, 156 (1981) 1-332.
- [14] Bennett,V., The membrane skeleton of human erythrocytes and its implications for more complex cells, *Annu. Rev. Biochem.*, 54 (1985) 273-304.
- [15] Liu,S.C., Derick,L.H., Palek,J., Visualization of the hexagonal lattice in the erythrocyte membrane skeleton, *J. Cell Biol.*, 104 (1987) 527-536.
- [16] Margaria R., The possible mechanisms of contracting and paying the oxygen debt and the role of lactic acid in muscular contraction, *Am. J. Physiol*, 106 (1933) 689-715.
- [17] El-Sayed,M.S., Fibrinogen levels and exercise. Is there a relationship?, *Sports Med.*, 21 (1996) 402-408.
- [18] Barbee,J.H., The effect of temperature on the relative viscosity of human blood, *Biorheology*, 10 (1973) 1-5.
- [19] Brun,J.F., Tikhomirova,I., Roitman,E.V., Muravyov,A., Highlights of the 3rd Yaroslavl International Congress on Hemorheology, 29-31 July 2001, Yaroslavl, Russia, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 27 (2002) 43-56.

- [20] Maeda,N., Seike,M., Kume,S., Takaku,T., Fibrinogen-induced erythrocyte aggregation: erythrocyte-binding site in the fibrinogen molecule, *Biochim. Biophys. Acta*, 904 (1987) 81-91.
- [21] Maeda,N., Shiga,T., Opposite effect of albumin on the erythrocyte aggregation induced by immunoglobulin G and fibrinogen, *Biochim. Biophys. Acta*, 855 (1986) 127-135.
- [22] Yamamoto,M., Effects of fibrinogen, globulin, albumin and hematocrit on the kinetics of erythrocyte aggregation in man, *Angiology*, 37 (1986) 663-671.
- [23] Cicha,I., Suzuki,Y., Tateishi,N., Maeda,N., Enhancement of red blood cell aggregation by plasma triglycerides, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 24 (2001) 247-255.
- [24] Dupuy-Fons,C., Brun,J.F., Mallart,C., Carvajal,J., ve ark., In vitro influence of zinc and magnesium on the deformability of red blood cells artificially hardened by heating, *Biol. Trace Elem. Res.*, 47 (1995) 247-255.
- [25] Khaled,S., Brun,J.F., Micallet,J.P., Bardet,L. ve ark, Serum zinc and blood rheology in sportsmen (football players), *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 17 (1997) 47-58.
- [26] Khaled,S., Brun,J.F., Wagner,A., Mercier,J.,ve ark., Increased blood viscosity in iron-depleted elite athletes, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 18 (1998) 309-318.
- [27] Mantskava,M., Pargalava,N., McHedlishvili,G., Direct beneficial effect of insulin on blood rheological disorders in the microcirculation, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 30 (2004) 431-433.
- [28] Cinara,L., Bollini,A., Gayol,M.C., Hernandez,G.N., In vitro effect of insulin on rats erythrocytes rheological behaviour, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 35 (2006) 367-373.

- [29] Konstantinova,E., Ivanova,L., Tolstaya,T., Mironova,E., Rheological properties of blood and parameters of platelets aggregation in arterial hypertension, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 35 (2006) 135-138.
- [30] McHedlishvili,G., Mantskava,M., Pargalava,N., Arteriolar resistance and hemorheological disorders related to Raynaud's phenomenon, *Microvasc. Res.*, 62 (2001) 190-195.
- [31] Aloulou,I., Varlet-Marie,E., Mercier,J., Brun,J.F., The hemorheological aspects of the metabolic syndrome are a combination of separate effects of insulin resistance, hyperinsulinemia and adiposity, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 35 (2006) 113-119.
- [32] Wiewiora,M., Slowinska,L., Wylezol,M., Pardela,M., ve ark., Rheological properties of erythrocytes in patients suffering from morbid obesity. Examination with LORCA device, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 34 (2006) 499-506.
- [33] Lee,C.Y., Kim,K.C., Park,H.W., Song,J.H., ve ark., Rheological properties of erythrocytes from male hypercholesterolemia, *Microvasc. Res.*, 67 (2004) 133-138.
- [34] Szapary,L., Horvath,B., Marton,Z., Alexy,T., ve ark., Hemorheological disturbances in patients with chronic cerebrovascular diseases, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 31 (2004) 1-9.
- [35] Pribush,A., Hatskelzon,L., Mazor,D., Katorza,E., ve ark., The role of erythrocyte aggregation in the abnormal hemorheology of multiple myeloma patients, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 34 (2006) 529-536.
- [36] von Tempelhoff,G.F., Heilmann,L., Hommel,G., Pollow,K., Impact of rheological variables in cancer, *Semin. Thromb. Hemost.*, 29 (2003) 499-513.

- [37] von Tempelhoff,G.F., Schonmann,N., Heilmann,L., Pollow,K. ve ark., Prognostic role of plasmaviscosity in breast cancer, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 26 (2002) 55-61.
- [38] Lowe,G.D., Rumley,A., Whincup,P.H., Danesh,J., Hemostatic and rheological variables and risk of cardiovascular disease, *Semin. Vasc. Med.*, 2 (2002) 429-439.
- [39] Spencer,C.G., Beevers,D.G., Lip,G.Y., Haemorheological, endothelial and platelet function in subjects with hypertension: relationship to cardiovascular risk and influence of antihypertensive treatment, *J. Hum. Hypertens.*, 15 Suppl 1 (2001) S39-S42.
- [40] Doyle,M.P., Galey,W.R., Walker,B.R., Reduced erythrocyte deformability alters pulmonary hemodynamics, *J. Appl. Physiol.*, 67 (1989) 2593-2599.
- [41] Kohl,H.W., III, Powell,K.E., Gordon,N.F., Blair,S.N., ve ark., Physical activity, physical fitness, and sudden cardiac death, *Epidemiol. Rev.*, 14 (1992) 37-58.
- [42] Burke,A.P., Farb,A., Virmani,R., Goodin,J., ve ark., Sports-related and non-sports-related sudden cardiac death in young adults, *Am. Heart J.*, 121 (1991) 568-575.
- [43] Letcher,R.L., Pickering,T.G., Chien,S., Laragh,J.H., Effects of exercise on plasma viscosity in athletes and sedentary normal subjects, *Clin. Cardiol.*, 4 (1981) 172-179.
- [44] Wood,S.C., Doyle,M.P., Appenzeller,O., Effects of endurance training and long distance running on blood viscosity, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 23 (1991) 1265-1269.
- [45] Vandewalle,H., Lacombe,C., Lelievre,J.C., Poirot,C., Blood viscosity after a 1-h submaximal exercise with and without drinking, *Int. J. Sports Med.*, 9 (1988) 104-107.
- [46] Ahmadizad,S., El-Sayed,M.S., The acute effects of resistance exercise on the main determinants of blood rheology, *J. Sports Sci.*, 23 (2005) 243-249.

- [47] Ajmani,R.S., Fleg,J.L., Demehin,A.A., Wright,J.G., ve ark., Oxidative stress and hemorheological changes induced by acute treadmill exercise, Clin. Hemorheol. Microcirc., 28 (2003) 29-40.
- [48] Bouix,D., Peyreigne,C., Raynaud,E., Monnier,J.F., ve ark., Relationships among body composition, hemorheology and exercise performance in rugby men, Clin. Hemorheol. Microcirc., 19 (1998) 245-254.
- [49] Brun,J.F., Belhabas,H., Granat,M.C., Sagnes,C., ve ark., Postexercise red cell aggregation is negatively correlated with blood lactate rate of disappearance, Clin. Hemorheol. Microcirc., 26 (2002) 231-239.
- [50] Geor,R.J., Weiss,D.J., Smith,C.M., Hemorheologic alterations induced by incremental treadmill exercise in thoroughbreds, Am. J. Vet. Res., 55 (1994) 854-861.
- [51] Gurcan,N., Erbas,D., Ergen,E., Bilgehan,A., ve ark., Changes in blood haemorheological parameters after submaximal exercise in trained and untrained subjects, Physiol Res., 47 (1998) 23-27.
- [52] Khaled,S., Brun,J.F., Cassanas,G., Bardet,L. ve ark., Effects of zinc supplementation on blood rheology during exercise, Clin. Hemorheol. Microcirc., 20 (1999) 1-10.
- [53] Senturk,U.K., Gunduz,F., Kuru,O., Aktekin,M.R., ve ark., Exercise-induced oxidative stress affects erythrocytes in sedentary rats but not exercise-trained rats, J. Appl. Physiol, 91 (2001) 1999-2004.
- [54] Temiz,A., Baskurt,O.K., Pekcetin,C., Kandemir,F. ve ark., Leukocyte activation, oxidant stress and red blood cell properties after acute, exhausting exercise in rats, Clin. Hemorheol. Microcirc., 22 (2000) 253-259.

- [55] Varlet-Marie,E., Gaudard,A., Monnier,J.F., Micallef,J.P., ve ark., Reduction of red blood cell disaggregability during submaximal exercise: relationship with fibrinogen levels, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 28 (2003) 139-149.
- [56] Yalcin,O., Bor-Kucukatay,M., Senturk,U.K., Baskurt,O.K., Effects of swimming exercise on red blood cell rheology in trained and untrained rats, *J. Appl. Physiol*, 88 (2000) 2074-2080.
- [57] Yalcin,O., Erman,A., Muratli,S., Bor-Kucukatay,M. ve ark.,Time course of hemorheological alterations after heavy anaerobic exercise in untrained human subjects, *J. Appl. Physiol*, 94 (2003) 997-1002.
- [58] Ehrly,A.M., Landgraf,H., Hessler,J., Saeger-Lorenz,K., Influence of videofilm-induced emotional stress on the flow properties of blood, *Angiology*, 39 (1988) 341-344.
- [59] Smith,J.A., Exercise, training and red blood cell turnover, *Sports Med.*, 19 (1995) 9-31.
- [60] P.Connes, Red cell rigidity paradoxically decreases during maximal exercise in endurance athletes unless they are prone to exercise-induced hypoxaemia, *J. Mal. Vasc.*, 25 (2000) 165.
- [61] Connes,P., Bouix,D., Py,G., Prefaut,C., ve ark., Opposite effects of in vitro lactate on erythrocyte deformability in athletes and untrained subjects, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 31 (2004) 311-318.
- [62] Ernst,E., Influence of regular physical activity on blood rheology, *Eur. Heart J.*, 8 Suppl G (1987) 59-62.
- [63] Ernst,E., Matrai,A., Siepmann,P., Schmid,A., Blood rheology of former and active athletes, *J. Sports Med. Phys. Fitness*, 27 (1987) 373-375.

- [64] Galea,G., Davidson,R.J., Hemorrheology of marathon running, *Int. J. Sports Med.*, 6 (1985) 136-138.
- [65] Koenig,W., Sund,M., Doring,A., Ernst,E., Leisure-time physical activity but not work-related physical activity is associated with decreased plasma viscosity. Results from a large population sample, *Circulation*, 95 (1997) 335-341.
- [66] Koenig,W., Sund,M., Filipiak,B., Doring,A., ve ark., Plasma viscosity and the risk of coronary heart disease: results from the MONICA-Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 18 (1998) 768-772.
- [67] Brun,J.F., Exercise hemorheology as a three acts play with metabolic actors: is it of clinical relevance?, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 26 (2002) 155-174.
- [68] Brun,J.F., Aloulou,I., Varlet-Marie,E., Hemorheological aspects of the metabolic syndrome: markers of insulin resistance, obesity or hyperinsulinemia?, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 30 (2004) 203-209.
- [69] Dudaev,V.A., Diukov,I.V., Andreev,E.F., Borodkin,V.V. ve ark., [Effect of physical training on lipid metabolism and the rheologic properties of the blood of patients with ischemic heart disease], *Kardiologiya*, 26 (1986) 55-60.
- [70] Wiseman,H., Halliwell,B., Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer, *Biochem. J.*, 313 (Pt 1) (1996) 17-29.
- [71] Lander,H.M., An essential role for free radicals and derived species in signal transduction, *FASEB J.*, 11 (1997) 118-124.
- [72] Reiter,R.J., Antioxidant actions of melatonin, *Adv. Pharmacol.*, 38 (1997) 103-117.

- [73] Gutteridge,J.M., Halliwell,B., Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 899 (2000) 136-147.
- [74] Dreher,D., Junod,A.F., Role of oxygen free radicals in cancer development, *Eur. J. Cancer*, 32A (1996) 30-38.
- [75] Sohal,R.S., Weindruch,R., Oxidative stress, caloric restriction, and aging, *Science*, 273 (1996) 59-63.
- [76] Winterbourn,C.C., Kettle,A.J., Radical-radical reactions of superoxide: a potential route to toxicity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 305 (2003) 729-736.
- [77] Dean,R.T., Fu,S., Stocker,R., Davies,M.J., Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation, *Biochem. J.*, 324 (Pt 1) (1997) 1-18.
- [78] Halliwell,B., Gutteridge,J.M., Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts, *Arch. Biochem. Biophys.*, 246 (1986) 501-514.
- [79] Van, V., Bast,A., Effect of oxidative stress on receptors and signal transmission, *Chem. Biol. Interact.*, 85 (1992) 95-116.
- [80] Gutteridge,J.M., Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection, *Chem. Biol. Interact.*, 91 (1994) 133-140.
- [81] Chung,H.Y., Song,S.H., Kim H.J., Ikeno Y., ve ark., Modulation of renal xanthine oxidoreductase in aging: gene expression and reactive oxygen species generation, *J. Nutr. Health Aging*, 3 (1999) 19-23.
- [82] Haussinger,D., The role of cellular hydration in the regulation of cell function, *Biochem. J.*, 313 (Pt 3) (1996) 697-710.

- [83] Ashok,B.T., Ali,R., The aging paradox: free radical theory of aging, *Exp. Gerontol.*, 34 (1999) 293-303.
- [84] Schulz,J.B., Lindenau,J., Seyfried,J., Dichgans,J., Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration, *Eur. J. Biochem.*, 267 (2000) 4904-4911.
- [85] Rifkind,J.M., Ajmani,R.S., Heim,J., Impaired hemorheology in the aged associated with oxidative stress, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 428 (1997) 7-13.
- [86] Hebbel,R.P., Eaton,J.W., Pathobiology of heme interaction with the erythrocyte membrane, *Semin. Hematol.*, 26 (1989) 136-149.
- [87] Richards,R.S., Roberts,T.K., McGregor,N.R., Dunstan,R.H. ve ark., The role of erythrocytes in the inactivation of free radicals, *Med. Hypotheses*, 50 (1998) 363-367.
- [88] Sen,C.K., Oxidants and antioxidants in exercise, *J. Appl. Physiol*, 79 (1995) 675-686.
- [89] Jenkins,R.R., Exercise, oxidative stress, and antioxidants: a review, *Int. J. Sport Nutr.*, 3 (1993) 356-375.
- [90] Cabel,M., Meiselman,H.J., Popel,A.S., Johnson,P.C., Contribution of red blood cell aggregation to venous vascular resistance in skeletal muscle, *Am. J. Physiol*, 272 (1997) H1020-H1032.
- [91] Ji,L.L., Antioxidants and oxidative stress in exercise, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 222 (1999) 283-292.
- [92] Chakraborti,T., Ghosh,S.K., Michael,J.R., Batabyal,S.K. ve ark., Targets of oxidative stress in cardiovascular system, *Mol. Cell Biochem.*, 187 (1998) 1-10.

- [93] Demehin,A.A., Abugo,O.O., Rifkind,J.M., The reduction of nitroblue tetrazolium by red blood cells: a measure of Red Cell membrane antioxidant capacity and hemoglobin-membrane binding sites, *Free Radic. Res.*, 34 (2001) 605-620.
- [94] Johnson,R.M., Ravindranath,Y., el-Alfy,M., Goyette,G., Jr., Oxidant damage to erythrocyte membrane in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: correlation with in vivo reduced glutathione concentration and membrane protein oxidation, *Blood*, 83 (1994) 1117-1123.
- [95] Johnson,R.M., Goyette,G., Jr., Ravindranath,Y., Ho,Y.S., Hemoglobin autoxidation and regulation of endogenous H₂O₂ levels in erythrocytes, *Free Radic. Biol. Med.*, 39 (2005) 1407-1417.
- [96] Chung,T.W., Ho,C.P., Changes in viscosity of low shear rates and viscoelastic properties of oxidative erythrocyte suspensions, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 21 (1999) 99-103.
- [97] Ajmani,R.S., Metter,E.J., Jaykumar,R., Ingram,D.K., ve ark., Hemodynamic changes during aging associated with cerebral blood flow and impaired cognitive function, *Neurobiol. Aging*, 21 (2000) 257-269.
- [98] McHedlishvili,G., Disturbed blood flow structuring as critical factor of hemorheological disorders in microcirculation, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 19 (1998) 315-325.
- [99] Smith,J.A., Kolbuch-Braddon,M., Gillam,I., Telford,R.D. ve ark., Changes in the susceptibility of red blood cells to oxidative and osmotic stress following submaximal exercise, *Eur. J. Appl. Physiol Occup. Physiol*, 70 (1995) 427-436.
- [100] Weight,L.M., Byrne,M.J., Jacobs,P., Haemolytic effects of exercise, *Clin. Sci. (Lond)*, 81 (1991) 147-152.

- [101] Deiss A, Destruction of erythrocytes. In Lee GR (Ed.), *Wintrobe's Clinical Hematology*, PA: Lea & Febiger, Philadelphia, 1993, pp. 195-222.
- [102] Venditti,P., Di,M.S., Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats, *Int. J. Sports Med.*, 18 (1997) 497-502.
- [103] Ji,L.L., Wu,E., Thomas,D.P., Effect of exercise training on antioxidant and metabolic functions in senescent rat skeletal muscle, *Gerontology*, 37 (1991) 317-325.
- [104] Kayatekin,B.M., Şemin.İ., Fare ve sıçanlar için koşu bandı antrenman ve test protokolleri., *Spor Hekimliği Dergisi*, 38 (2003) 19-28.
- [105] Ji,L.L., Stratman,F.W., Lardy,H.A., Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise, *Arch. Biochem. Biophys.*, 263 (1988) 150-160.
- [106] Davies,K.J., Donovan,C.M., Refino,C.J., Brooks,G.A., ve ark., Distinguishing effects of anemia and muscle iron deficiency on exercise bioenergetics in the rat, *Am. J. Physiol*, 246 (1984) E535-E543.
- [107] Hardeman,M.R., Ince,C., Clinical potential of in vitro measured red cell deformability, a myth?, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 21 (1999) 277-284.
- [108] Hardeman,M.R., Dobbe,J.G., Ince,C., The Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer (LORCA) as red blood cell aggregometer, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 25 (2001) 1-11.
- [109] Bediz,C.Ş., Topçu A., LORCA. In Halil Resmi (Ed.), *ARLAB Hücresel, Moleküler ve Analitik Teknikler Kurs Kitabı*, İzmir, 2006, pp. 17-22.

- [110] Hong,Y.L., Yeh,S.L., Chang,C.Y., Hu,M.L., Total plasma malondialdehyde levels in 16 Taiwanese college students determined by various thiobarbituric acid tests and an improved high-performance liquid chromatography-based method, *Clin. Biochem.*, 33 (2000) 619-625.
- [111] Ellman,G.L., Tissue sulfhydryl groups, *Arch. Biochem. Biophys.*, 82 (1959) 70-77.
- [112] Hu,M.L., Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma, *Methods Enzymol.*, 233 (1994) 380-385.
- [113] Dawson, Basic & Clinical Biostatistics, Lange Medical Books, New-York, 2000.
- [114] R.F.Yang, Deformability of erythrocytes after exercise, *Biorheology*, 32 (1995) 250.
- [115] Galy,O., Hue,O., Boussana,A., Peyreigne,C., ve ark., Blood rheological responses to running and cycling: a potential effect on the arterial hypoxemia of highly trained athletes?, *Int. J. Sports Med.*, 26 (2005) 9-15.
- [116] Kayatekin B.M. Yüzme Sporunun Eritrositlerin Mekanik Özellikleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi Ege Üniversitesi, 2007.
- [117] Ernst E,D.L., The kinetics of blood rheology during and after prolonged standardized exercise, *ClinHemorheol*, 11 (1991) 429-439.
- [118] Wasserman,K., Mcilroy,M.B., Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise, *Am. J. Cardiol.*, 14 (1964) 844-852.
- [119] Wasserman,K., Beaver,W.L., Whipp,B.J., Mechanisms and patterns of blood lactate increase during exercise in man, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 18 (1986) 344-352.

- [120] Brooks,G.A., Importance of the 'crossover' concept in exercise metabolism, Clin. Exp. Pharmacol. Physiol, 24 (1997) 889-895.
- [121] Brooks,G.A., Mercier,J., Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the "crossover" concept, J. Appl. Physiol, 76 (1994) 2253-2261.
- [122] Manchado,F.B, Gobatto,C.A., Cotarteze,R.V.L., Papoti,M., ve ark., Maximal lactate steady state in running rats, Journal of Exercise Physiology, 8 (2005) 29-35.
- [123] Bloomer,R.J., Falvo,M.J., Fry,A.C., Schilling,B.K., ve ark., Oxidative stress response in trained men following repeated squats or sprints, Med. Sci. Sports Exerc., 38 (2006) 1436-1442.
- [124] Bloomer,R.J., Goldfarb,A.H., Wideman,L., McKenzie,M.J. ve ark., Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress, J. Strength. Cond. Res., 19 (2005) 276-285.
- [125] Cavas,L., Arpinar,P., Yurdakoc,K., Possible interactions between antioxidant enzymes and free sialic acids in saliva: a preliminary study on elite judoists, Int. J. Sports Med., 26 (2005) 832-835.
- [126] L.Bruce Gladden, Lactic acid: New roles in a new millennium, Proc. Natl. Acad. Sci, 98 (2001) 395-397.
- [127] McArdle W.D, Energy Transfer in Exercise. In William D.McArdle (Ed.), Exercise Physiology, Lippincott Wilkins, USA, 2007, pp. 165-183.
- [128] Reinhart,W.H., Gaudenz,R., Walter,R., Acidosis induced by lactate, pyruvate, or HCl increases blood viscosity, J. Crit Care, 17 (2002) 68-73.

- [129] Brun J.F., Fons,C., Could exercise-induced increase in blood viscosity at high shear rate be entirely explained by hematocrit and plasma viscosity changes?, *Clin. Hemorheol*, 13 (1993) 187-199.
- [130] Brun,J.F., Fons C., Raynaud,E., Influence of circulating lactate on blood rheology during exercise in professional football players, *Rev. Port. Hemorheol*, 5 (1991) 219-229.
- [131] Brun J.F., Hemorheologic effects of light prolonged exercise, *Clin. Hemorheol*, 14 (1994) 807-818.
- [132] Hardeman M.R., Low hematocrit and plasma fibrinogen in trained athletes increase hemorheological tolerance for physical stress. *Biorheology* 32, 401. 1995. (Abstract)
- [133] Connes,P., Bouix,D., Durand,F., Kippelen,P., ve ark., Is hemoglobin desaturation related to blood viscosity in athletes during exercise?, *Int. J. Sports Med.*, 25 (2004) 569-574.
- [134] Connes,P., Bouix,D., Py,G., Caillaud,C., ve ark., Does exercise-induced hypoxemia modify lactate influx into erythrocytes and hemorheological parameters in athletes?, *J. Appl. Physiol*, 97 (2004) 1053-1058.
- [135] Skelton,M.S., Kremer,D.E., Smith,E.W., Gladden,L.B., Lactate influx into red blood cells from trained and untrained human subjects, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 30 (1998) 536-542.
- [136] Brun,J.F., Low values of resting blood viscosity and erythrocyte aggregation are associated with lower increases in blood lactate during submaximal exercise, *Clin. Hemorheol*, 14 (1994) 105-116.
- [137] Brun,J.F., Longitudinal study of relationships between red cell aggregation at rest and lactate response to exercise after training in young gymnasts, *Clin. Hemorheol*, 15 (1995) 147-156.

- [138] Vicaut,E., Hou,X., Decuypere,L., Taccoen,A. ve ark., Red blood cell aggregation and microcirculation in rat cremaster muscle, *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.*, 14 (1994) 14-21.
- [139] Dupuy-Fons,C., Brun,J.F., Quere,I., ve ark., [Rheology and occlusive arterial disease of the legs], *J. Mal Vasc.*, 21 (1996) 165-170.
- [140] Chien,S., Red cell deformability and its relevance to blood flow, *Annu. Rev. Physiol*, 49 (1987) 177-192.
- [141] Shiga,T., Maeda,N., Kon,K., Erythrocyte rheology, *Crit Rev. Oncol. Hematol.*, 10 (1990) 9-48.
- [142] Baskurt,O.K., Temiz,A., Meiselman,H.J., Red blood cell aggregation in experimental sepsis, *J. Lab Clin. Med.*, 130 (1997) 183-190.
- [143] Baskurt,O.K., Temiz,A., Meiselman,H.J., Effect of superoxide anions on red blood cell rheologic properties, *Free Radic. Biol. Med.*, 24 (1998) 102-110.
- [144] Uyesaka,N., Hasegawa,S., Ishioka,N., Ishioka,R., ve ark., Effects of superoxide anions on red cell deformability and membrane proteins, *Biorheology*, 29 (1992) 217-229.
- [145] Rifkind,J.M., Abugo,O.O., Peddada,R.R., Patel,N., ve ark., Maze learning impairment is associated with stress hemopoiesis induced by chronic treatment of aged rats with human recombinant erythropoietin, *Life Sci.*, 64 (1999) 237-247.
- [146] Weight LM, Haemolytic effects of exercise, *Clin Sci*, 81 (1991) 147-152.
- [147] Gönenc, S., Açıkğöz, O., Kayatekin M. Akut egzersizin lipid peroksidasyon düzeylerine etkisi, *Spor Hekimliği Dergisi*, 32 (1997), 155-160.