

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
MERAM TIP FAKÜLTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PROFESYONEL SPORCU KADINLARDA FARKLI EGZERSİZ  
YÖNTEMLERİNİN PLAZMA MİR-33, MİR-335, MİR-370 VE MİR-758  
SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

KÜBRA FİDAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Fatma Hümevra YERLİKAYA AYDEMİR

KONYA 2018

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
MERAM TIP FAKÜLTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PROFESYONEL SPORCU KADINLARDA FARKLI EGZERSİZ  
YÖNTEMLERİNİN PLAZMA MİR-33, MİR-335, MİR-370 VE MİR-758  
SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

KÜBRA FİDAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Fatma Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 181318001 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2018

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi 'Kübra FİDAN' nın "Profesyonel Sporcu Kadınlarda Farklı Egzersiz Yöntemlerinin Plazma miR-33, miR-335, miR-370 VE miR-758 Seviyeleri Üzerine Etkisinin Araştırılması" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya, Türkiye/ 20 Eylül 2018

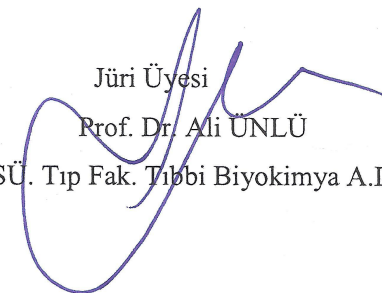
  
Tez Danışmanı

Doç. Dr. F. Hümevra YERLİKAYA AYDEMİR  
NEÜ. Meram Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D.


Jüri Üyesi

  
Prof. Dr. Mehmet AKÖZ  
NEÜ. Meram Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D.

Jüri Üyesi

  
Prof. Dr. Ali UNLÜ  
SÜ. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D.

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 27/09/2018 tarih ve 19./32 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Kismet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK  
Enstitü Müdürü  
İmzası

## APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled “**Investigation of the Effect of Different Exercise Methods on Plasma miR-33, miR-335, miR-370 and miR-758 Levels in Professional Athlete Women**” by “**Kübra FİDAN**” that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of **Master of Science** in the Department of “**Tıbbi Biyokimya**”, Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan  
Konya, Turkey/ 20 September 2018

  
Principal Advisor

Doç. Dr. F. Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR  
NEÜ. Meram Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D.

Examination Committee Member

Prof. Dr. Mehmet AKÖZ

NEÜ. Meram Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D.

Examination Committee Member

Prof. Dr. Ali ÜNLÜ

SÜ. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D.

This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.

  
Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

20 September 2018

## TEZ BEYANATI

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

20 Eylül 2018

Kübra FİDAN



# TURNİTİN

17.08.2018

Turnitin

[Ödevler](#)

[Öğrenciler](#)

[Not Defteri](#)

[Kütüphaneler](#)

[Takvim](#)

[Tartışma](#)

[Tercihler](#)

Bu sayfa hakkında

Bu sizin ödev kutunuzdur. Bir yazılı ödevi görüntülemek için yazılı ödevin başlığını seçin. Bir Benzerlik Raporunu görüntülemek için yazılı ödevin benzerlik sütunundaki Benzerlik Raporu ikonunu seçin. Tıklanabilir durumda olmayan bir ikon Benzerlik Raporunun henüz oluşturulmadığını gösterir.

## PROFESYONEL SPORCU KADINLARDA FARKLI EGZERSİZ YÖNT...

Gelen Kutusu | Görüntüleniyor: yeni ödevler ▼

Dosyayı Gönder Çevrimiçi Derecelendirme Raporu | Ödev ayarlarını düzenle | E-posta bildirmeyenler

[Sil](#) [İndir](#) [Şuraya taşı...](#)

<input type="checkbox"/>	Yazar	Başlık	Benzerlik	web	yayın	student papers	Puanla	cevap	Dosya	Ödev Numarası	Tarih
<input type="checkbox"/>	Kübra Fidan	PROFESYONEL SPORCU KADINLARDA FARKLI EGZ...	%12 <input type="text" value="%12"/>	10%	7%	4%	--	--	ödev indir	990663764	17-Ağu-2018

## ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 181318001 numaralı proje ile desteklenmiştir. Bu projeyi destekleyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

Tez çalışmamın başından sonuna kadar bilgi ve görüşleriyle ufkumu açan ve her zaman bana sonsuz sabır gösteren saygıdeğer danışmanım Doç. Dr. F. Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR hocama ve bölümümüzün değerli öğretim üyelerine sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmamda bana destek veren Uzm. Dr. Melda Pelin YARGIÇ hocama, biyokimya laboratuvarında çalışan başta Nurgül EROĞLU ablama ve tüm çalışanlara, ayrıca kütüphane çalışanı Özkan FİDAN beyefendiye, maddi manevi her türlü destek veren çok değerli Yrd. Doç. Dr. Abdullah MELEKOĞLU hocama, akrabalarım ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak beni bugüne kadar hep destekleyen ve varlıkları ile bana hep güç veren anneme, babama ve kardeşlerime, numune toplama esnasında bizzat desteğini esirgemeyen kardeşim Furkan FİDAN'a sonsuz teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<i>İç Kapak</i> .....	<i>i</i>
<i>Tez Onay Sayfası</i> .....	<i>ii</i>
<i>Approval</i> .....	<i>iii</i>
<i>Tez Beyanatı</i> .....	<i>iv</i>
<i>Turnitin</i> .....	<i>v</i>
<i>Önsöz</i> .....	<i>vi</i>
<i>İçindekiler</i> .....	<i>vii</i>
<i>Kısaltmalar ve Simgeler Listesi</i> .....	<i>ix</i>
<i>Şekiller Listesi</i> .....	<i>xi</i>
<i>Tablolar Listesi</i> .....	<i>xii</i>
<i>Grafikler Listesi</i> .....	<i>xiii</i>
<i>Özet</i> .....	<i>xiv</i>
<i>Abstract</i> .....	<i>xv</i>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Egzersiz.....	3
2.1.1. Akut Egzersiz: .....	3
2.1.2. Düzenli Egzersiz: .....	3
2.2. Enerji Sistemi ve Metabolizması .....	3
2.2.1. ATP-Kreatinin Fosfat Sistemi .....	3
2.2.2. Glikolitik Enerji Sistemi .....	4
2.2.3. Aerobik Enerji Sistemi .....	5
2.3. Egzersiz Fizyolojisi.....	6
2.3.1. Egzersizin Kas Yapısı Üzerine Etkisi .....	6
2.3.3. Egzersizin Dolaşım Üzerine Etkisi .....	7
2.4. Egzersiz Biyokimyası .....	8
2.4.1. Egzersizin Serbest Radikal ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisi .....	8
2.4.2. Egzersizin Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkisi .....	9

2.4.3. Egzersizin Lipit Metabolizması Üzerine Etkisi.....	10
2.5. MikroRNA (miRNA).....	10
2.5.1. miRNA Tarihçesi .....	11
2.6. miRNA Biyosentezi .....	12
2.7. miRNA Fonksiyonu.....	14
2.8. Lipit ile İlişkilendirilmiş miRNA'lar.....	15
2.8.1. miR-33 .....	15
2.8.2. miR-335 .....	16
2.8.3. miR-370 .....	17
2.8.4. miR-758 .....	17
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>19</b>
3.1. Gereç .....	19
3.1.1. Vakaların oluşturulması .....	19
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar .....	19
3.1.3. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Araçları .....	20
3.2. Yöntem.....	20
3.2.2. miRNA İzolasyonu .....	21
3.2.3. miRNA'lardan cDNA Eldesi.....	22
3.3. miRNA Analizi Real Time PCR .....	24
3.4. İstatiksel Analiz .....	26
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>27</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>40</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>46</b>

## KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ABCA-1	= ATP bağlayıcı Kaset taşıyıcı
ABCG-1	= ATP-bağlayıcı Kaset alt ailesi G elemanı
ACC 1	= Asetil-Coa Karboksilaz
ADP	= Adenin Difosfat
ALT	= Alanin Amino transferaz
AMP	= Adenin Monofosfat
AMPK	= AMP ile Aktive Olan Protein Kinaz
AST	= Aspartat transaminaz
ATP	= Adenin triFosfat
cDNA	= Complementary DNA (tamamlayıcı DNA)
CO <sub>2</sub>	= Karbondioksit
CPT- $\alpha$	= Karnitin Palmitoil Transferaz
CP	= Kreatin Fosfat
CROT	= Karnitin O-oktanoiltransferaz
DGAT 2	= Digliserit asiltransferaz
DGCR8	= DiGeorge Sendrom Kritik Bölge Protein 8
DNA	= Deoksiribonükleik asit
EDTA	= Etilen Diamin Tetra Asetik asit
GLUT-4	= Glikoz Taşıyıcı
H	= Hidrojen
HDL	= High Density Lipoprotein ( Yüksek Seviyeli Lipoprotein)
LDL	= Low Density Lipoprotein (Düşük Seviyeli Lipoprotein)
mRNA	= Mesajcı RNA

miRNA	= Mikro ribonükleik asit
ncRNA	= Kodlanmamış RNA
O <sub>2</sub>	= Oksijen
ORF	= Open Reading Frame
RISC	= RNA İnduced Silencing Complex
RNA	= Ribonükleik asit
SREBP	= Sterol Düzenleyici Eleman Bağlayıcı Protein
TG	= Trigliserid
TK	= Total Kolesterol
VKİ	= Vücut Kitle İndeksi
VLDL	= Very Low Density Lipoprotein
VO <sub>2</sub> max	= Maksimum Oksijen Tüketimi

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. ATP'nin yapısı ve alt formları .....	4
Şekil 2. Enerji sistemleri .....	5
Şekil 3. O <sub>2</sub> 'nin egzersiz öncesi ve sonrasında kullanımı .....	7
Şekil 4. RNA'nın sınıflandırılması .....	11
Şekil 5. miRNA biyogenezi .....	13
Şekil 6. miRNA taşınması .....	14

## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Poly (A) mix içeriği. ....	22
<b>Tablo 2.</b> Poly (A) ‘nın bağlanması için gereken süre. ....	22
<b>Tablo 3.</b> cDNA mix 1’in içeriği. ....	23
<b>Tablo 4.</b> cDNA mix 2’nin içeriği. ....	23
<b>Tablo 5.</b> BrightGreen Mastermix ve SNORD44 primer mastermix içeriği. ....	24
<b>Tablo 6.</b> Real time PCR ısı protokolü.....	24
<b>Tablo 7.</b> Sedanter ve egzersiz grubuna ait demografik veriler. ....	27
<b>Tablo 8.</b> Sedanter ve egzersiz grubuna ait biyokimyasal parametrelerin düzeyleri. ....	28
<b>Tablo 9.</b> Egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter gruba ait plazma miRNA düzeyleri. ....	29
<b>Tablo 10.</b> Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-33 düzeyleri ile korelasyonu. ....	32
<b>Tablo 11.</b> Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-335 düzeyleri ile korelasyonu. ....	33
<b>Tablo 12.</b> Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-370 düzeyleri ile korelasyonu. ....	34
<b>Tablo 13.</b> Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-758 ile korelasyonu. ....	35
<b>Tablo 14.</b> Egzersiz grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-33 düzeyleri ile korelasyonu. ....	36
<b>Tablo 15.</b> Egzersiz Grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-335 düzeyleri ile korelasyonu. ....	37
<b>Tablo 16.</b> Egzersiz grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-370 düzeyleri ile korelasyonu. ....	38
<b>Tablo 17.</b> Egzersiz grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-758 düzeyleri ile korelasyonu. ....	39

## GRAFİKLER LİSTESİ

<b>Grafik 1.</b> miR-33'ün amplifikasyon eğrileri. ....	25
<b>Grafik 2.</b> miR-335'in amplifikasyon eğrileri. ....	25
<b>Grafik 3.</b> miR-370'in amplifikasyon eğrileri. ....	25
<b>Grafik 4.</b> miR-758'in amplifikasyon eğrileri. ....	26
<b>Grafik 5.</b> Plazma miR-33 düzeylerinin egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter gruptaki artışı. ....	29
<b>Grafik 6.</b> Plazma miR-335 düzeylerinin egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter gruptaki artışı. ....	30
<b>Grafik 7.</b> Plazma miR-370 düzeylerinin egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter gruptaki artışı. ....	30
<b>Grafik 8.</b> Plazma miR-758 düzeylerinin egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter gruptaki artışı. ....	31

## ÖZET

T.C  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Profesyonel Sporcu Kadınlarda Farklı Egzersiz Yöntemlerinin Plazma miR-33, miR-335, miR-370 ve miR-758 Seviyeleri Üzerine Etkisinin Araştırılması

Kübra FİDAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ/ KONYA-2018

**Amaç:** Çalışmamızda fizyolojik süreçlerin transkripsiyonel düzenleyicileri olarak ortaya çıkan ve lipit metabolizması ile ilişkilendirilen bazı mikroRNA' ların (miR-33, miR-335, miR-370 ve miR-758) egzersiz ve sedanter yaşamı benimsemiş kişilerde plazma seviyelerini araştırmayı amaçladık.

**Yöntem:** Katılımcılar profesyonel spor yaptığı belirlenen (30 kişi) ve sedanter yaşam tarzını sürdüren (30 kişi) kadınlar şeklinde iki gruba ayrıldı. Sporculardan egzersiz öncesinde (grup 1) ve sonrasında (grup 2), sedanter yaşamı benimsemiş kişilerde (grup 3) kan plazma örnekleri alındı. Plazma miRNA seviyeleri RT-PCR yöntemi kullanılarak analiz edildi.

**Bulgular:** Yapılan ANOVA testi sonucuna göre grupların plazma miR-33 ( $p<0.002$ ), miR-335 ( $p<0.024$ ), miR-370 ( $p<0.002$ ) ve miR-758 ( $p<0.001$ ) düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunmuştur. Plazma miR-33 düzeyi grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında grup 2 de yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Plazma miR-335 düzeyi grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında grup 2 de yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Plazma miR-370 düzeyi grup3 ( $p<0.05$ ) ve grup2 ( $p<0.01$ ) ile karşılaştırıldığında grup 1 de yüksek bulunmuştur. Plazma miR-758 düzeyi grup 1 ve grup 2 ile karşılaştırıldığında grup 2 de düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ). İlâveten, plazma miR-758 düzeyi grup 2 ve grup 3 ile karşılaştırıldığında grup 3 de yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Grup 3 de plazma miR-33 düzeyleri ile serum LDL değerleri arasında ( $r=0.347$ ;  $p<0.05$ ) ve plazma miR-758 düzeyleri ile serum HDL ( $r=-0.366$ ;  $p<0.05$ ), VLDL ( $r=0.319$ ;  $p<0.05$ ) ve TG ( $r=0.387$ ;  $p<0.05$ ) düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir korelasyon bulunmuştur.

**Sonuç:** Sonuç olarak çalışmamızda egzersiz ile miRNA'ların değişebileceğini göstermiş olmaktadır. Bulgularımız kapsamında sedanter yaşamın miRNA düzeyinde olumsuz etkisi olduğunu ve bu etkinin metabolizma bozuklukları başta olmak üzere birçok hastalığın risk faktörü olarak görülebileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Sözcükler:** Egzersiz; miRNA; sedanter yaşam

## ABSTRACT

T.C  
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY  
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

Investigation of the Effect of Different Exercise Methods on Plasma miR-33, miR-335, miR-370 and miR-758 Levels in Professional Athlete Women

Kübra FİDAN

Department of Medical Biochemistry

MASTER OF SCIENCE THESIS / KONYA-2018

**Objective:** We aim to investigate the plasma levels of some microRNAs (miR-33, miR-335, miR-370 and miR-758) in our study, which appeared as transcriptional regulators of physiological processes and were associated with lipid metabolism in exercise and sedentary life.

**Method:** Participants were divided into two groups, women designated as professional sports (30 people) and women exercising the sedanter lifestyle (30 people). Blood plasma samples were taken from the athletes before exercise (group 1) and after (group 2), and those with sedentary life (group 3). Plasma miRNA levels were analyzed using RT-PCR method.

**Results:** According to the ANOVA test results, there was a statistically significant difference between plasma miR-33 ( $p < 0.002$ ), miR-335 ( $p < 0.024$ ), miR-370 ( $p < 0.002$ ) and miR-758. Plasma miR-33 levels were higher in group 2 compared with group 3 ( $p < 0.01$ ). Plasma miR-335 level was higher in group 2 compared with group 3 ( $p < 0.05$ ). Plasma miR-370 levels were higher in group 1 compared to group 3 ( $p < 0.05$ ) and group 2 ( $p < 0.01$ ). Plasma miR-758 levels were lower in group 2 compared to group 1 and group 2 ( $p < 0.01$ ). In group 3, between plasma miR-33 levels and serum LDL values ( $r = 0.347$ ,  $p < 0.05$ ), and plasma miR-758 levels and serum HDL ( $r = -0.366$ ,  $p < 0.05$ ), VLDL ( $r = 0.319$ ,  $p < 0.05$ ) and TG ( $r = 0.387$ ,  $p < 0.05$ ) levels were statistically significant.

**Conclusion:** As a result, we have shown that miRNAs can change with exercise in our study. In our findings, we think that sedanter life has a negative effect on miRNA level and this effect may be seen as a risk factor for many diseases, especially metabolic disorders.

**Key Words:** Exercise; miRNA; sedentary



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Canlı sisteminin en önemli fonksiyonlarından biri de fiziksel aktivitedir. Birçok sistemi etkilediği bilinen fiziksel aktivite, hematolojik ve biyokimyasal parametreleri de etkilediği bilinmektedir. Fiziksel aktivite ve egzersizin insan sağlığı için oldukça etkili ve önemli olduğu çeşitli bilimsel çalışmalarla desteklenmektedir.

Egzersizin tipi, süresi ve şiddeti bunun yanında egzersiz yapan bireyin cinsiyet, yaş, çevresel koşullar ve beslenme alışkanlıkları gibi faktörler biyokimyasal parametreleri etkileyebilir. Yapılan çalışmalarda, fiziksel aktivitenin serum lipitleri ve kalp sağlığı üzerinde olumlu bir etkisi olduğu bildirilmiştir.

Mikro RNA'lar (miRNA'lar), transkripsiyonel olarak mRNA parçalanması veya translasyonel inhibisyon yoluyla gen ekspresyonunu düzenleyen, 18-22 nükleotid uzunluğunda küçük kodlamayan RNA'lardır. miRNA'ların birçok fonksiyonları bulunmaktadır. Bunlar, gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenlenmesi, metabolik regülasyon, organizmanın gelişimi, farklılaşması ve büyümesi gibi önem arz eden fonksiyonlardır. miRNA'lar hücrelerin birçok biyolojik işlevinde bulunan bir molekül olduğu için miRNA'larda ki kusurlar çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. miRNA'ların rol oynadığı rahatsızlıklar arasında kardiyovasküler hastalıklar, inflamatuvar hastalıklar, metabolik ve musküler bozukluklar vb. sayılabilir.

Günümüzde, hareket azlığı (sedanter yaşam) bir hastalık olarak nitelendirilmekte ve birçok ölümcül hastalıkların sebebi olarak gösterilmektedir. Kalp-damar hastalıkları bu grubun başını çekmektedir. Elbette ki teknolojinin gelişmesiyle, iş kolaylaştıran aletlerin günlük hayatın vazgeçilmez bir parçası olmasının bedensel hareketsizliğe etkisi büyüktür. Sedanter bir yaşam tarzı ise birçok ciddi sağlık problemlerine neden olmaktadır. Çağın hastalığı olarak nitelendirilen obezite ve kardiyovasküler hastalık başta olmak üzere kassal zayıflık, postürel bozukluk, diabet gibi birçok hastalıklar hareketsiz ve sedanter bireylerde daha sık görülmektedir. Plazma kolesterol düzeyleri ile koroner kalp hastalığı riski arasında diğer risk faktörlerinden bağımsız güçlü bir ilişki vardır. Yapılan çalışmalarda total kolesteroldeki % 1'lik artışın koroner kalp hastalığında % 2'lik artışa, % 1'lik azalmasının ise kalp krizi riskinde % 2-3'lük azalmaya neden olduğu belirtilmektedir.

Fiziksel aktivitenin bol olduğu bir yaşam tarzında ise bu çeşit sağlık problemleri ile karşılaşmak biraz daha zordur. Egzersiz, lipit ve karbonhidrat metabolizmasını olumlu yönde

etkilediği, vücut ağırlığında, yağ depolarında, total kolesterol ve trigliserid de, düşüş meydana getirdiği ve bahsedilen bu değişiklikler doğrultusunda kardiyovasküler risk üzerinde önemli etkilere sahip olduğu bilinmektedir.

miRNA'ların yağ asidi ve kolesterolün biyosentezi için önemli işlevleri vardır. Biz de bu çalışma kapsamında, lipit metabolizması ile ilişkilendirilmiş miRNA'ların egzersiz ve sedanter yaşamı benimseyen kişilerde plazma seviyelerini araştırmak istedik. Bulgularımızın hem miRNA'ların biyolojik fonksiyonlarını tanımlamakta hem de egzersiz tiplerinin seçiminde veya sedanter yaşamı benimsemiş kişilere yeni fikirler sunacağını düşünmekteyiz.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Egzersiz

Canlıların sahip oldukları birçok yetenek mevcuttur. Bunların içinde yer alan hareket etme yeteneği doğuştan kazanılmış bir yetenektir. Hareket yeteneğinin günlük işlerde kullanılması fiziksel aktivite olarak tanımlanırken, fiziksel aktivite dışında güç ve zaman harcayarak daha fazla hareket yeteneğinin kullanılması da egzersiz olarak tanımlanmaktadır. Burada ki ortak amaç ise kalori harcamaktır (Karahasanoğlu, 2011).

Egzersiz iki şekilde tanımlamak mümkündür;

**2.1.1. Akut Egzersiz:** Egzersiz programının bir seferlik uygulanması

**2.1.2. Düzenli Egzersiz:** Egzersiz programının uzun süreli uygulanması

Egzersiz yapılırken başta kaslar olmak üzere vücudun bir enerjiye ihtiyacı vardır.

### 2.2. Enerji Sistemi ve Metabolizması

Genel anlamda iş yapabilme kapasitesi olarak tanımlanan enerji, temel olarak yiyeceklerin vücutta yakılması sonucu oluşmaktadır. Enerji gereksinimi, egzersizin türüne ve süresine göre değişiklik göstermektedir (Demirci, 2013).

Egzersizin enerji dengesini değiştirdiği, enerji tüketimini artırdığı ve yağ kütlesinde ciddi bir azalmaya neden olduğu bilinmektedir (Demirci, 2013). Egzersiz sırasında gerekli enerji ihtiyacının karşılanması için 3 enerji sistemi çalışmaktadır (Tüzün ve Sargın, 2016). Bunlar;

1. ATP-Kreatin fosfat sistemi

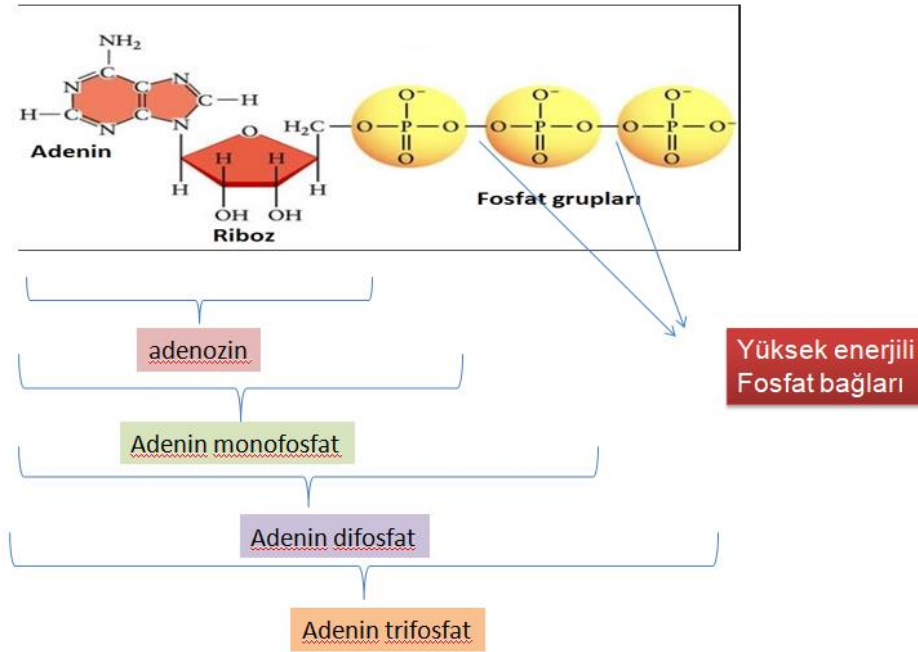
2. Glikolitik enerji sistemi

3. Aerobik enerji sistemi

#### 2.2.1. ATP-Kreatinin Fosfat Sistemi

Egzersiz sırasında birçok kas sistemi aktiftir. Özellikle iskelet kas sisteminin çalışması için kullanılan enerji kaynağı adenosin trifosfat (ATP) molekülüdür. ATP molekülü adenin bazına 3 tane fosfat molekülünün, iki tane yüksek enerjili fosfat bağı ile bağlanması sonucu oluşmuştur (Tüzün ve Sargın, 2016). Bu bağlardan birinin kopması sonucu standart olarak 7300 kalorilik bir enerji serbest kalmış olur. ATP molekülünde yer alan bu iki bağda aynı kaloriyi taşımaktadır. Bu molekülden sırası ile bağlar koptuğunda ilk adenin difosfat (ADP)

sonra adeninmonofosfat (AMP) molekülleri meydana gelir ve 14600 kalorilik bir enerji serbest kalmış olur (Karahasanoğlu, 2011).



Şekil 1. ATP'nin yapısı ve alt formları

Kreatin fosfat ise yüksek enerji içeren, kreatin molekülüne bağlı fosfat molekülünden oluşan bir bileşiktir. Moleküller arasında ki bağ yaklaşık 10300 kalori olup ATP molekülünün 2-4 katı kadar enerji vermektedir (Tüzün ve Sargın, 2016).

ATP-Kreatin sistemi kısa süreli egzersizlerde (sprint koşu, 100 m kısa mesafe, halter vb.) hızlı bir şekilde devreye giren enerji sistemidir. Hazır enerji sistemi olarak kabul edilen bu sistem çok hızlı ve yüksek yoğunluktaki egzersizler esnasında aktiftir (Yıldız, 2012). Bu tarz egzersizlerin ilk 10-20 saniyesinde kaslarda depo edilmiş olan ATP kullanılırken egzersizin devamında enerji gereksinimi devam etmektedir (Tüzün ve Sargın, 2016). Bu süreçte kreatin fosfat molekülünde ki bağların yüksek enerjisi ve ATP sentezi sayesinde enerji sağlanmaktadır (Yıldız, 2012).

### 2.2.2. Glikolitik Enerji Sistemi

Kaslarda bulunan glikojen enerji gereksinimi olduğunda glikoza parçalanarak gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Bu parçalanma olayı glikoliz olarak bilinmektedir. Kaslarda meydana gelen bu parçalanma olayı oksijenli olursa aerobik, oksijensiz olursa anaerobik glikoliz olarak adlandırılmaktadır (Karahasanoğlu, 2011).

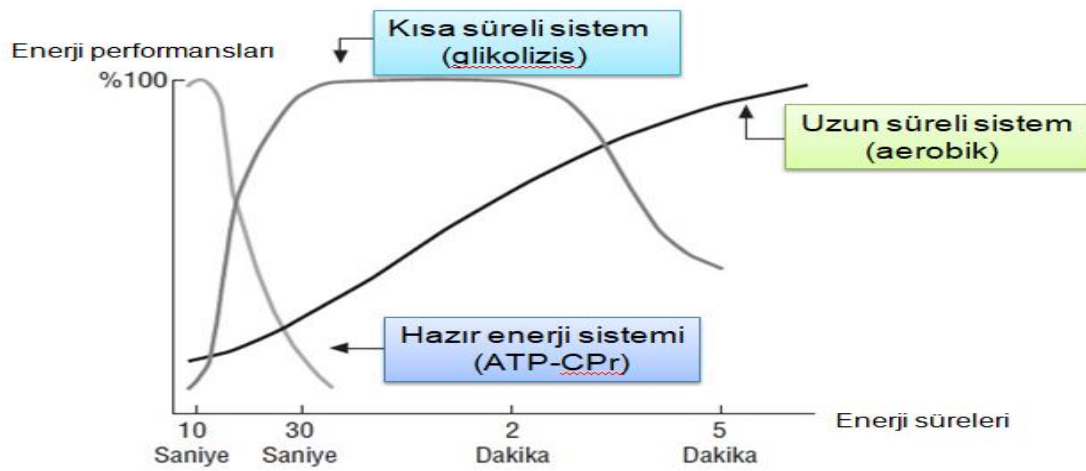
Glikoliz olayı 2 aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşama da her bir glikoz molekülü 2 pirüvik asite ayrılıp 4 ATP molekülü oluşturmaktadır. Bu aşamada oksijen gereksinimi olmadığı için anaerobik glikoliz olarak kabul edilir. İkinci aşama da ise oluşan pirüvik asit, kas hücresinde bulunan mitokondriye geçerek ATP molekülü oluşumuna devam etmektedir. Burada yeterli oksijen bulunmadığı durumlarda pirüvik asit laktik asite dönüşmekte ve laktik asit difüzyon yolu ile kas hücrelerinden kan hücrelerine geçmektedir (Tüzün ve Sargın, 2016).

Kısa süreli ve yoğun egzersizleri devamı için ATP molekülünün sürekli sentezlenmesi gerekmektedir. Bundan önce bahsedilen enerji sisteminde sınırlı sayıda ATP üretimi gerçekleşirken, glikolitik enerji sistemi ile zaman kazanılmış olunur (Yıldız, 2012). Yapılan egzersizin 10-20 saniyesinde ki ATP ihtiyacını ATP-Kreatin fosfat enerji sistemi tarafından karşılanırken orta mesafeli ve yaklaşık 1-3 dakika süren egzersizlerde ATP ihtiyacı glikolitik enerji sistemi ile karşılanmaktadır (Tüzün ve Sargın, 2016).

### 2.2.3. Aerobik Enerji Sistemi

Aerobik enerji sistemi uzun süreli yoğun egzersizlerde kullanılmaktadır (Tüzün ve Sargın, 2016). Egzersizlerin yoğunlukları göz önünde bulundurulduğunda enerji transferinin % 50-90'ı aerobik metabolizma tarafından , % 5-50'si ise anaerobik metabolizma tarafından sağlanmaktadır (Yıldız, 2012).

Aerobik enerji sistemi ile tekrar ATP sentezlenebilmesi için glikolitik enerji sistemi sonucu oluşan pirüvik asit doğrudan krebs döngüsüne girmeli, mitokondriyal enerji transferi devreye girmeli veya yağ  $\beta$ - oksidasyonunun gerçekleşmesi gerekmektedir (Scott, 2005).



Şekil 2. Enerji sistemleri

## **2.3. Egzersiz Fizyolojisi**

### **2.3.1. Egzersizin Kas Yapısı Üzerine Etkisi**

Hareket vücudun en önemli fonksiyonlarından biridir. Vücut hareket ederken başta kaslar olmak üzere kemik ve eklemlerde hareket halindedir (Gökgül, 2013). Kasların bir araya gelmesi ile oluşan kas doku, uyarıyı hücre zarı yüzeyi boyunca elektriksel olarak iletmektedir. Kaslarda oluşan bu elektriksel değişiklik mekanik olarak kasılma ve gevşeme şeklinde görülür. Vücut kitlesinin ortalama % 40-45'ini kasılıp gevşeme özelliğine sahip olan bu kaslar meydana getirmektedir (Gökgül, 2013). Dinlenme esnasında kanın metabolik faaliyeti düşüktür. Egzersizin başlaması ile birlikte damar ile kas arasındaki kan akımı hızlanmaya başlar. Egzersiz esnasında kasın kana olan ihtiyacı oldukça fazladır. Egzersizde kalp atım hızındaki artış ve kanın pasif dokudan aktif dokulara yönlendirilmesi ile kasın kan ihtiyacı karşılanmaktadır. Kas doku biyokimyasal enerjiyi mekanik enerjiye dönüştürmektedir (Gökgül, 2013).

Düşük yoğunluklu egzersiz, iskelet kasında ki çeşitli metabolik genlerin transkripsiyonunu aktive etmektedir. Dayanıklılık egzersizi ise çeşitli düzenleyici ve metabolik proteinler kodlayan genlerin transkripsiyonunu harekete geçirir (Pilegaard, 2002). Egzersizin bedensel sağlık üzerine etkileri ise:

- Vücut zindeliğinin sağlanması
- Kasların hareketi ile birlikte kemiklerde ki mineral yoğunluğunun korunması ve osteoporazu (kemik erimesi) önlemesi
- Aktivite boyunca bol oksijen ve enerji harcanması ve bu doğrultuda kas sağlığının olumlu etkilenmesi (Gökgül, 2013). Bu şekilde faydaları sıralanabilir.

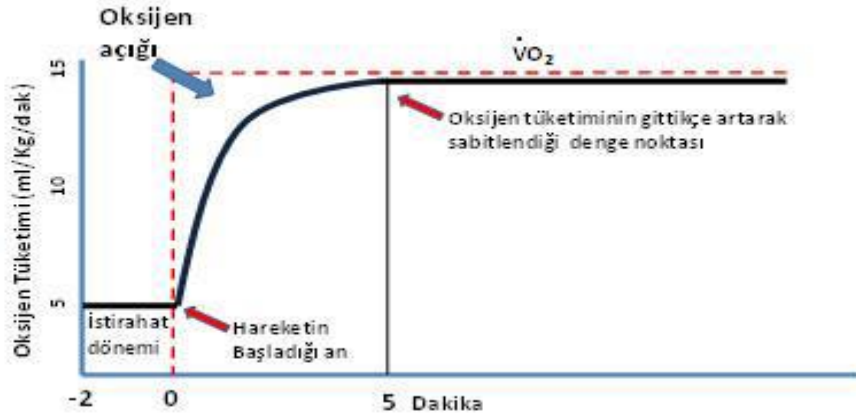
### **2.3.2. Egzersizin Solunum Üzerine Etkisi**

Egzersizin solunumda ki etkisini açıklamak için uluslararası fiziksel aktivite standardı olarak belirlenmiş olan VO<sub>2</sub>max (maksimum oksijen tüketimi) tanımı kullanılmaktadır (Shete ve ark., 2014).

Sporcuların aerobik kapasitesi spor başarılarında önemli bir başarı unsurudur. VO<sub>2</sub>max, aerobik sürecin yoğunluğunu ifade eder ve aslında artan yoğunlukta yapılan egzersiz sırasında vücudun oksijeni taşıma ve kullanma kapasitesini göstermektedir. VO<sub>2</sub>max, maksimum egzersiz sırasında elde edilebilen en yüksek oksijen tüketimidir. Atletik

kapasiteye sahip bir bireyin fiziksel uygunluğunu yansıtmaktadır (Shete ve ark., 2014). Maksimal oksijen kullanımı sırasında solunum ve dolaşım sistemleri aynı anda çalışmaktadır ve bu durum kardiyorespiratuvar dayanıklılık kapasitesi olarak tanımlanmaktadır (Yılmaz, 2017)

Egzersiz boyunca oksijen ( $O_2$ ) ve karbondioksit ( $CO_2$ ) oldukça önemlidir. Solunum ile birlikte  $O_2$  ve  $CO_2$  taşınması gerçekleşmektedir. Öncelikle  $O_2$  venöz kandan alveole ve sonrasında alveolden venöz kana taşınırken,  $CO_2$  kandan alveollere doğru geçiş yapmaktadır (Yılmaz, 2017). Solunum sisteminin amacı istirahat halinde iken kandaki  $CO_2$  ve hidrojen (H) değerini sabit tutmak, egzersiz durumunda ise  $O_2$  basıncını sağlamaktır.



Şekil 3.  $O_2$ 'nin egzersiz öncesi ve sonrasında kullanımı

Şekle bakıldığında  $O_2$ 'nin sadece egzersiz sırasında değil öncesi ve sonrasında da önemli olduğu vurgulanmaktadır. Kısacası egzersizin solunumda ki rolü akciğerlerde ki soluk alma volumünü artırmaktır (Akbulut, 2011).

### 2.3.3. Egzersizin Dolaşım Üzerine Etkisi

Egzersiz boyunca dolaşım sistemi, kas ve aktif dokulara gerekli kanı sağlamaktadır. Bu sayede kaslar ve dokular hem metabolik atıklardan temizlenmiş olmakta hemde ihtiyacı olan besin ve oksijeni almış olmaktadır (Karatan, 2016).

Sedanter yaşam tarzında kalbin atım hızı dakika da 70-72 atımdır. Kalp hızı, sabit fizyolojik koşullarda bile tek düze değildir (Mortola ve ark., 2018). Kalp dinlenirken yaptığı kan pompalama olayında dakika da 5 litre kan vücuda dağılmaktadır (Karatan, 2016). Vücut ağırlığının % 7'sini oluşturan kanın ortalama % 55'i plazmadır, protein içeriği ise % 7

oranındadır. Kadınlarda kanın hacmi 4-5 lt arasında iken, erkekler de 5-6 lt arasındadır. Kanın hacmi ağır egzersizlerde düştüğü bilinmektedir. Bunun sebebi ise egzersiz sırasında meydana gelen su kaybının olduğu düşünülmektedir (Çiçek, 2014). Egzersiz süresinde kan basıncı artmaktadır (Karatan, 2016). Egzersizler vasküler duvar özelliklerini geliştirerek kan basıncını düşürmektedir (Zimmer ve Bloch, 2015). Düzenli olarak yapılan egzersizlerde kalıcı kan basıncı düşüşü de görülmektedir (Karatan, 2016).

Egzersiz esas olarak sağlıklı bir yaşam tarzına da katkıda bulunur. Egzersiz başta kardivasküler olmak üzere kanser, metabolik ve nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere birçok yaygın hastalığın tıbbi tedavisinde görülen yan etkilerin de azalmaya yol açmaktadır (Zimmer ve Bloch, 2015).

#### **2.4. Egzersiz Biyokimyası**

Biyokimyasal parametreler açısından, egzersizin olumlu ve olumsuz yönleri araştırmaya devam edilen bir alandır. Egzersizin şiddeti, türü (aerobik ve anaerobik) ve süresi hematolojik ve biyokimyasal parametreleri etkilemektedir. Bu etki egzersizin şiddeti, türü ve süresinin yanı sıra bireyin yaşı, cinsiyeti, beslenme koşullarındaki farklılıklardan da etkilenmektedir (Demiriz ve ark., 2015).

##### **2.4.1. Egzersizin Serbest Radikal ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisi**

Serbest radikaller, canlı vücudunda üretilen, dış yörüngesinde bir veya birden fazla ortaklaşmamış elektron bulunduran moleküllerdir. Serbest radikaller aynı zamanda reaktif oksijen türleri (ROT) olarak da adlandırılır (Atabek, 2012). Pozitif etkileri (bağışıklık sistemi) olduğu gibi negatif etkileri (lipitler, proteinler, DNA hasarı) de görülmektedir (Finaud, 2006). Bu zararlı etkileri sınırlamak için canlı vücudu bir koruma sistemi geliştirmiştir. Bu sistem antioksidan sistemi olarak bilinmektedir. Bu sistem antioksidan enzimlerden (glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz) ve enzimatik olmayan antioksidanlardan (E vit. A vit. C vit. glutatyon ve ürik asit) oluşmaktadır (Finaud, 2006).

Oksidatif stres, serbest radikal üretimi ve antioksidan savunma sistemi arasındaki korelasyonun bozulması ve serbest radikal üretim miktarının artması durumunda ortaya çıkmaktadır (Atabek, 2012). Egzersizin sağlık üzerine etkisi tartışılmaz bir gerçektir. Ancak akut egzersiz serbest radikal üretimini artırmakta, antioksidan savunma sistemini etkilemekte ve oksidatif stresi artırarak hücre hasarına sebep olmaktadır. Düzenli egzersiz ise bir

adaptasyon oluşturduğu için oksidatif stres seviyesinde ve lipit peroksidasyonunda azalmaya neden olmaktadır (Atabek, 2012).

#### ***2.4.2. Egzersizin Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkisi***

Karbonhidratlar, yüksek yoğunlukta egzersiz sırasında iskelet kaslarının kasılması için tercih edilen substrattır (Mul ve ark., 2015). Karbonhidratın kullanımı egzersizin yoğunluğu ile ilişkilidir (Hargreaves, 2000). Dinlenme durumunda dahi insan vücudunun kullandığı enerji ağırlıklı olarak karbonhidrat ve yağların oksidasyonundan kaynaklanır. Kan şekeri, yağ asitleri, kas glikojenleri ve kas içi trigliseritler, iskelet kaslarında enerji üretimi için temel substrat kaynaklarıdır. Aminoasit oksidasyonu genellikle zor olduğundan proteinlerin kullanılabilir enerji havuzuna katkısı çok sınırlıdır (Mul ve ark., 2015).

Egzersiz sırasında kullanılabilen karbonhidrat kaynakları kandaki ve kasdaki glikozun kullanımınıdır. Kas kasılmasındaki artışa bağlı olarak egzersiz boyunca iskelet kasına glikoz ve insülin salınımı artmaktadır. Bu artış ile kas glikoz kullanımının sadece ortalama % 30'u karşılanmaktadır. Geriye kalan glikoz alınımı ise sarkolemma taşınması ve glikoz metabolizmasından sorumlu glikolitik ve oksidatif enzimlerin aktivasyonu ile gerçekleşmektedir. Sarkolemmal glikoz taşınması, difüzyon ile gerçekleşir (Mark, 2000). Glikoz taşınması, kasılma ve insülin ile uyarılır ve taşıyıcı görevini GLUT-4 izoformu üstlenmektedir. GLUT-4 izoformu, kolaylaştırıcı glukoz taşıyıcı ailesinin bir üyesidir ve esas olarak kardiyak, iskelet kası ve yağ dokusunda mevcuttur. GLUT-4'ün hücre içi depolama bölgesinden plazma membranına translokasyonu, egzersiz sırasında sarkolemik glukoz transportundaki artıştan sorumlu mekanizmadır. Bu hem sıçan hem de insan iskelet kasında gösterilmiştir. Kas kasılması sırasında artmış sarkolemik glikoz transportu ile sonuçlanan hücrel mekanizmalar tamamen açıklığa kavuşturulmamıştır (Hargreaves, 2000). Kasılma geçiren iskelet kası, egzersiz sırasında ATP oluşturmak için bir dizi intra ve ekstra müküler substratı kullanabilir. Bunlar, adipoz doku veya intramüküler trigliserit depolarından türetilen kreatin fosfat, kas glikojen, kan yoluyla taşınan glikoz, laktat ve serbest yağ asidi içermektedir (Hargreaves, 2000).

Egzersiz metabolizması için bu gibi substratların göreceli önemi, egzersiz durumu, diyet manipülasyonu ve çevresel faktörler egzersize metabolik cevabı değiştirebilir, bu yüzden öncelikle egzersiz yoğunluğu ve süresi iyi belirlenmelidir (Hargreaves, 2000). Mevcut yaşam tarzı bol karbonhidrat alınımını desteklerken aynı zamanda hareketsizliği de artırmaktadır. Bu hareketsizlik sedanter yaşam olarak tanımlanmakta olup sedanter yaşam

sonucunda çeşitli metabolik hastalıklar gün yüzünde çıkmaktadır (obezite, Tip 2 DM vb.). Öte yandan, egzersiz karbonhidrat metabolizması üzerinde yararlı etkileri vardır ve sonuç olarak, egzersiz metabolik hastalıkların önlenmesi ve mücadelesi için iyi seçilmiş bir araçtır (Mul ve ark., 2015).

#### **2.4.3. Egzersizin Lipit Metabolizması Üzerine Etkisi**

Yağ ve karbonhidrat, iskelet kasındaki bazal metabolik süreçlere gerekli enerjiyi sağlamak için substrat olarak kullanılmaktadır. Aerobik egzersizin yakıtı olarak da bilinen yağ ve karbonhidrat metabolik talebe rağmen, egzersiz sırasında substrat tercihi yoğunluğa göre değişir. Aralarında ki ilişkiyi bir örnekle açıklayacak olursak; kan glikoz kullanımının artması, iskelet kasındaki karbonhidrat alımını ve oksidasyonu artırırken, metabolizmada az da olsa bir değişiklik ile yağ asidi mevcudiyetini ve oksidasyonunu azaltır (Spriet, 2014).

Düşük egzersiz yoğunluklarında (<% 40 VO<sub>2</sub>max), lipid baskın yakıttır ve yoğunluk arttıkça vücut daha çok karbonhidratlara dayanır. Maksimum yağ oksidasyonu % 45 ile % 65 VO<sub>2</sub>max arasındadır. Yağ oksidasyonu düşük ve orta şiddetli egzersizde artmaktadır. Ancak yüksek yoğunluklu egzersizde herhangi bir artış göstermemektedir. Submaksimal egzersiz sırasında (% 65 VO<sub>2</sub>max) tüm vücutta yağ oksidasyonu iki ila üç kat artabilir ve bu, iskelet kasındaki adaptasyonlar tarafından yönlendirilir (Noland, 2015).

Egzersiz yoğunluğu orta şiddetten (% 65 VO<sub>2</sub>max) yüksek şiddete (% 85 VO<sub>2</sub>max) doğru ilerledikçe, kas glikojenolizi, karaciğer glikojenolizi ve glukoz alımı karbonhidrat metabolizmasını arttıracak şekilde artmıştır. Buna karşılık, hem plazma serbest yağ asitleri (FFA) hem de intramüsküler trigliserit oksidasyonundaki azalmaya bağlı olarak tüm vücut lipid oksidasyonunda bir azalma vardır. Lipit oksidasyonunun maksimum oranlarının, yaklaşık % 65 VO<sub>2</sub>max meydana geldiği düşünülmektedir, ancak bu durum egzersiz yoğunluğu, cinsiyet ve diyet gibi diğer faktörlere bağlıdır (Hearris, 2018).

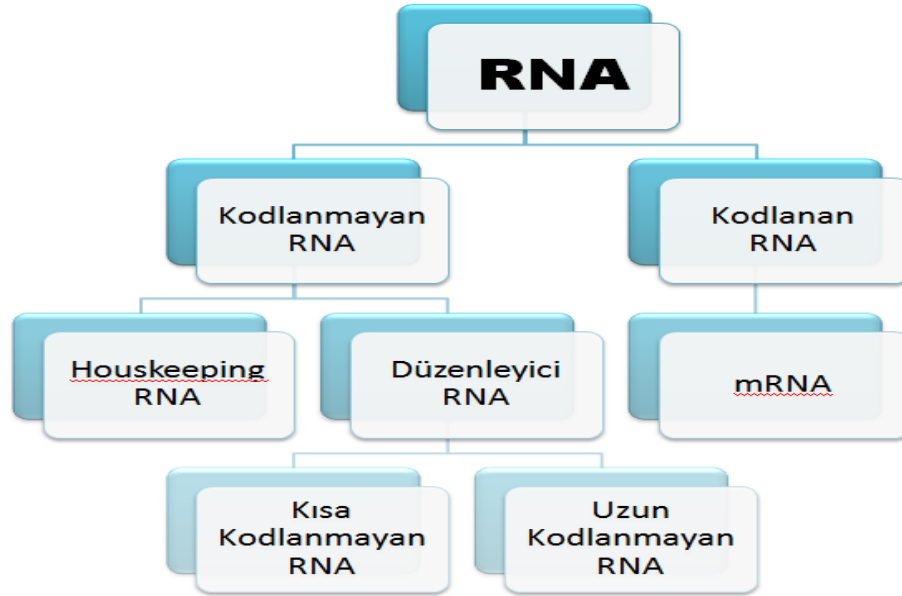
Yüksek yoğunluklu egzersize zıt olarak, birkaç saat süren uzamış kararlı hal egzersizinde, lipid oksidasyonunun da artış ve karbonhidrat oksidasyon oranların da düşme olduğu görülmüştür. Oksidasyon oranlarındaki bu değişim, plazma serbest yağ asidinin enerji harcamasına neden olmaktadır (Hearris, 2018).

#### **2.5. MikroRNA (miRNA)**

Ökaryotik canlılarda bulunan Deoksiribonükleik asit (DNA)'ların % 90'ı Ribonükleik asit (RNA)'e transkribe olduğu bilinmektedir. Bu RNA'lerden ise sadece % 1-2

kadarının proteine dönüştürüldüğü bilinmektedir. Proteine dönüştürülme işlemi gerçekleşmeyen RNA'lar ise kodlanmamış miRNA (ncRNA) olarak adlandırılmaktadır (Güzelgöl ve Aksoy, 2015).

Çok sayıda türü bulunan kodlanmamış RNA (ncRNA) yaşam için gerekli ncRNA (housekeeping) ve düzenleyici ncRNA olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmışlardır. Housekeeping RNA'lar canlıya ait bütün dokularda bulunmaktadır ve çok sayıda biyolojik işlevleri yerine getirmektedir. Düzenleyici ncRNA'lar ise gen ifadesi düzenlemesinde görev almaktadırlar. ncRNA'larnükleotit sayıları bakımında uzun ncRNA ve kısa ncRNA olmak üzere iki alt sınıfa ayrılmaktadırlar. Uzun ncRNA'lar 200 nükleotitten büyük sayıda nükleotit içerirken kısa ncRNA'lar 200 nükleotitten daha az nükleotit içermektedirler (Güzelgöl ve Aksoy, 2015).



Şekil 4. RNA'nın sınıflandırılması

miRNA'lar, fizyolojik süreçlerin transkripsiyonel düzenleyicileri olarak ortaya çıkan küçük (20-22 nt) endojen, çift iplikli RNA'lardır. miRNA'lar, mRNA'ların 3' translate edilmemiş bölgelerinde (3'UTRs) tamamlayıcı hedef bölgelere bağlanırlar, bu da translasyonel baskıya veya mRNA susturulmasına neden olur. Tek bir miRNA, fizyolojik bir yola dahil olan genlerin eşzamanlı düzenlenmesini sağlayarak çoklu hedeflere sahip olabilir (Rayner ve ark., 2011).

### 2.5.1. miRNA Tarihçesi

Bilim insanları miRNA terimini 2001 yılında kullanılmaya başlamışlardır. Ancak miRNA'nın temelleri 1993 yılında Lee ve arkadaşları tarafından atılmış olup Caenorhabditis

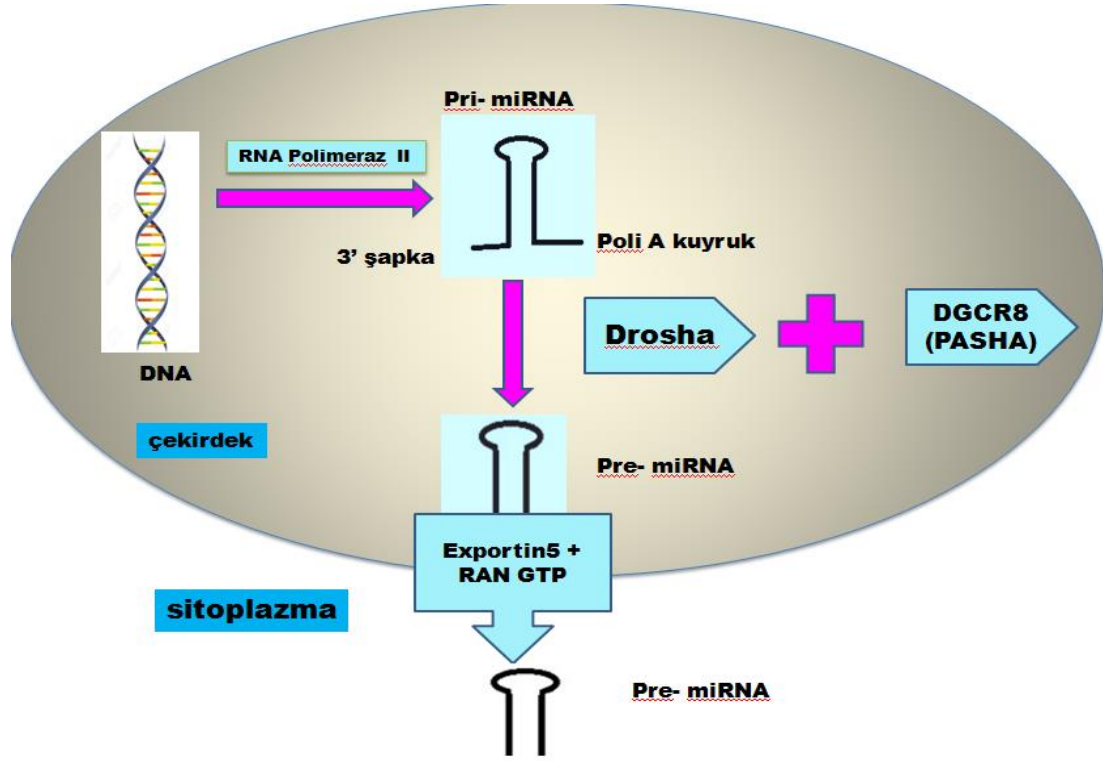
elegans (*C. Elegans*) türü yuvarlak soluncanı gen içeriği bakımından incelemiştir (Saydam ve ark., 2011). Lee ve çalışma arkadaşlarının lin-4 olarak tanımladıkları miRNA ilk miRNA olarak tarihe geçmiştir (Bağcı, 2014). Lin-4 geni hiçbir proteinin kodlanmasında bulunmamasına karşın 22 nükleotid uzunluğunda küçük sayılabilecek bir RNA'yı transkribe ettiği yine araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Saydam ve ark., 2011).

Daha da devam eden miRNA çalışmalarına 2000 yılında Reinhart ve arkadaşları yine *C. Elegans* solucanında canlılığın gelişim zamanlarını düzenleyen, 22 nükleotid uzunluğunda bir miRNA keşfetmişler ve Let-7 olarak adlandırmışlardır (Saydam ve ark., 2011). Keşfedilen Lin-4 ve Let-7 miRNA'larının ortak sayılabilecek bir özelliği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Bu özellik: her iki miRNA da Lin-41 in translasyonunu baskılayan 21 nükleotid uzunluğunda düzenleyici bir RNA kodlamaktır (Hitit ve ark., 2015).

## **2.6. miRNA Biyosentezi**

miRNA'ların oluşumu en geniş kapsamı ile çekirdekte başlayıp sitoplazmada son bulmaktadır (Bağcı, 2014). miRNA'lar çekirdekte de bulunan RNA polimeraz II enziminin yardımıyla DNA dan pri-miRNA sentezlenir. Bu pri-miRNA 100-1000 nükleotid içerir, çift ipliklidir, aynı zamanda 3'şapka ve 5' poliA kuyruğu bulunmaktadır (Camkurt, 2015).

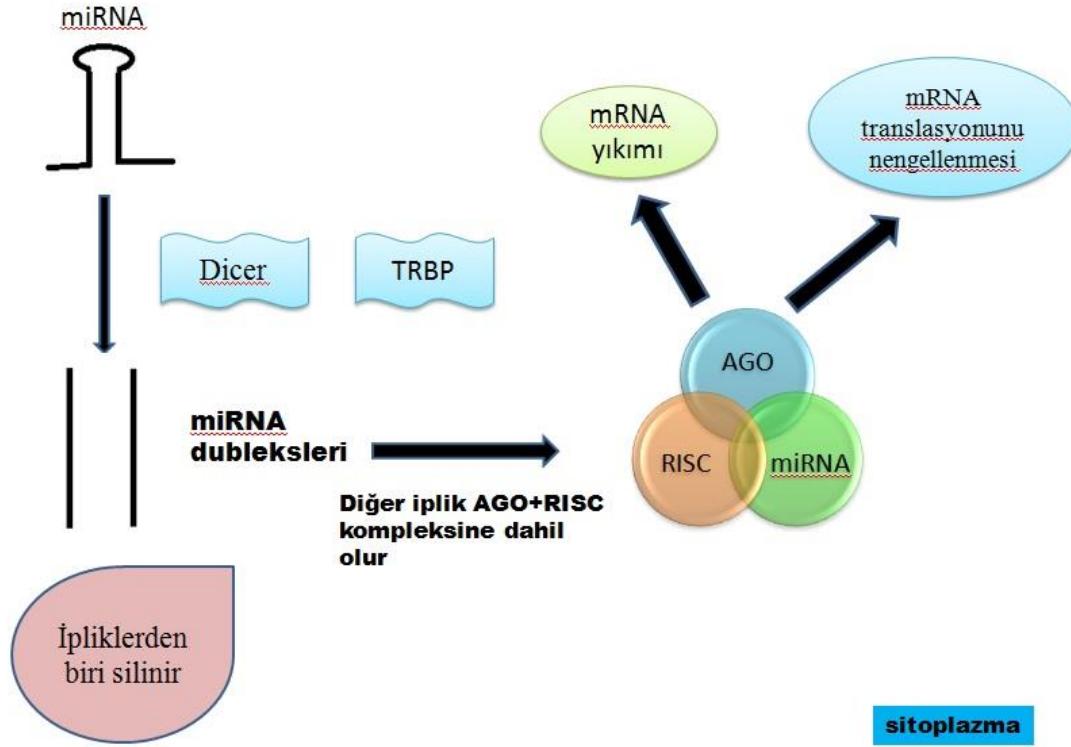
Çekirdekte oluşan pri-miRNA bu seferde RNA polimeraz III enzim ailesinin endonükleazı olarak bilinen Drosha ve bu enzim ailesinin kofaktörü olan Pasha veya DGCR8 ( Di George sendromu kritik bölge protein 8) tarafından tanınır kesilmektedir. Yaklaşık 60-70 nükleotid uzunluğunda olan bu bölge "pre-miRNA" olarak adlandırılmaktadır (Karagün ve ark., 2014). Çekirdekte oluşan pre-miRNA'nın sitoplazmaya taşınmasında Exportin5/ RAN-GTP yardımcı olmaktadır (Çelik ve ark., 2013). Exportin5 nükleer taşıma reseptörü, RAN-GTP ise bir nükleer protein olarak bilinmektedir (Karagün ve ark., 2014).



Şekil 5. miRNA biyogenezi

Sitoplazma ya gelmiş olan pre-miRNA RNAaz III enziminin Dicer ve onun kofaktörü olarak bilinen TRBP enzimi yardımı ile kesilmektedir. Oluşan bu yapı 20-22 nükleotit uzunluğunda çift iplikli "miRNA" olarak adlandırılmaktadır (Camkurt, 2015). Dicer enzimi aracılığıyla oluşturulan miRNA dublekslerinden 5' ucu daha kararlı olanı seçilip RISC (RNA-induced silencing complex) kompleksi içinde bulunan ve bir RNAaz olarak bilinen argonaute (Ago) da etkisiyle miRNA RISC kompleksine entegre olurlar. Bu iplik kılavuz iplik olarak adlandırılır. Diğer ipliğe ise anti kılavuz iplik adı verilir ve bu anti kılavuz ipliği sindirilir (Karagün ve ark., 2014).

RISC kompleksine katılan miRNA'lar, ya Ago proteininin yardımı ile mRNA yıkımına ya da protein translasyonunu engelleyici etki de bulunurlar (Karagün ve ark., 2014).



Şekil 6. miRNA'nın taşınması

## 2.7. miRNA Fonksiyonu

miRNA'lar kendi nükleotid dizilerini tamamlayıcı hedef genleri tanıma özelliğine sahiptir. Bu özellik sayesinde fonksiyonlarını gerçekleştirmektedirler (Karagün ve ark., 2014). miRNA, hedef mRNA'nın 3' ucundaki UTR (translasyona uğramayan bölge) bölgesine ya da hedef mRNA'nın ORF (open reading frame) bölgesine bağlanmaktadır (Saydam ve ark., 2011).

Bu bağlanma durumu miRNA kompleksinin mRNA'nın nasıl tamamlayıcısı olduğuna bağlıdır. Şayet kusurlu bir bağlanma var ise, eksik bir komplementerlik ihtiva etti ise ve translasyonu baskılandığıysa 3' UTR bölgesi ile bağlantı sağlanmış demektir (Saydam ve ark., 2011). Eğer kusursuz bağlanmada, tam komplementerlik söz konusu ise ve birde Ago2 tarafından mRNA yıkımı gerçekleşti ise ORF bölgesi ile bağlanma gerçekleşmiş demektir (Saydam ve ark., 2011).

Günümüzde sayıları gittikçe artan ve birçok bilim adamının merakına sebep olan miRNA'lar birçok çalışmada kullanılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda miRNA ekspresyon seviyelerinin birçok biyolojik süreci etkilediği gözlemlenmiştir (Güzelgöl ve Aksoy, 2015). Bunları örneklendirecek olursak;

- miRNA'nın gelişimdeki işlevi; günümüzde hayvanların gelişim süreçlerini kontrol eden ana etkenler araştırılmış bu çalışmaların sonucunda miRNA, siRNA, rasiRNA ve piwiRNA'lar ana düzenleyici olarak tanımlanmıştır. Bu kısa kodlanmayan RNA sınıfının içinde en çok korunmuş miRNA'lar embriyonik gelişmeler ve fizyolojik süreçler de düzenleyici olarak görev aldığı bildirilmiştir (Güzelgöl ve Aksoy, 2015).
- miRNA'nın metabolizmadaki işlevi: metabolizmanın da ana düzenleyicisi olarak tanımlanan miRNA ilk olarak 2003 yılında Drosophila ile yapılan bir çalışmada mir-14'ün baskılanması sonucunda triaçilgliserolün total vücuttaki miktarının iki katına çıktığı bildirilmiştir. Bu ve bunun gibi çalışmaların ışığından miRNA'ların glikoz, lipid ve aminoasit metabolizmasının düzenlenmesinde aktif rol oynadığı görülmektedir (Güzelgöl ve Aksoy, 2015).

### **2.8. Lipit ile İlişkilendirilmiş miRNA'lar**

Dolaşımdaki miRNA'lar, hastalıkların teşhisi, izlenmesi ve takibi için klinik yarar sağlayabilir ve daha büyük numuneler ile daha ileri çalışmalar yapmak ve hastaları prospektif olarak klinik çalışmalara dahil etmek suretiyle, miRNA ekspresyonunun seri ölçümlerinin terapiden önce ve sonra sağlanabilmesi için araştırılması gerekmektedir ( Lawrie ve ark., 2008).

Çağımız hastalıklarından dislipidemi, metabolik sendrom, obezite, diyabet, yağlı karaciğer hastalıklarının lipit metabolizması ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Yapılan son çalışmalar, lipoprotein ve hücreler arası sinyal moleküllerinin plazma seviyelerinin düzenlenmesinde miRNA'ların rolünü tanımlamıştır. Birçok miRNA türünün lipit homeostazı üzerine etkisi olduğu da yine çalışmalarla desteklenmektedir (Yang ve ark., 2015).

#### **2.8.1. miR-33**

Kolesterol, lipit metabolizması ve kolesterol taşınmasının düzenlenmesinde rol oynayan birçok miRNA tanımlanmıştır (miR-122, miR-33, miR-148 vb.). Bu konu üzerine miR-33 ailesi en çok çalışılan miRNA'ların başında gelmektedir (Zhang ve ark., 2018). miR-33 ailesi, miR-33a ve miR-33b türlerinden oluşmaktadır. miR-33a, türler arasında korunurken, miR-33b kemirgenlerde dahil olmak üzere küçük memelilerde kaybolur (Singh ve ark., 2017).

Moleküler düzeyde, hepatositler içinde lipit ve kolesterol düzeyleri temel olarak iki ana transkripsiyon faktörü tarafından düzenlenir. Bunlardan biri: insülin ve diyetsel yağ

asitleri tarafından yönetilen sterol düzenleyici eleman-bağlayıcı protein (SREBP-1 ve SREBP-2); diğeri glikoz seviyeleri tarafından yönetilen karbonhidrat tepki elemanı bağlayıcı protein (CREBP) (Thanikachalam ve ark., 2017). Najafi-Shoustari ve arkadaşlarının yaptığı çalışma da, miR-33a ve miR-33b'nin, SREBP-1 ve SERBP-2 genlerinin intron bölgelerinde kodlanmakta olduğu ifade edilmiştir (Shoustari ve ark., 2010). SREBP transkripsiyon faktörlerinin, obezite ve insülin direnci koşulları altında bir takım farklı metabolik dokularda farklı olarak düzenlendiği gösterilmiştir (Price ve ark., 2018). Bu bilgiler ışığında miR-33'ün lipid metabolizmasında rolü olduğu aydınlatılmaya çalışılmıştır (Singh ve ark., 2017).

Rayner ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, miR-33-a ekspresyonu ile SREBF-2 seviyeleri arasında doğru korelasyon olduğu ve bir kolesterol akış pompası olan Adenosin Trifosfat Bağlayıcı Kaset Taşıyıcı (ABCA1) ekspresyonu ile ters korelasyon olduğu saptanmıştır. miR-33 ayrıca ABCG1 ve NPC1'in mRNA'ları üzerinde de değişikliğe neden NPC1'in mRNA'sını azalttığını, ancak ABCG1'in mRNA'sında azalma olmadığını belirtmişlerdir (Flowers ve ark., 2013)

miR-33'ün, lipid metabolizmasının kontrolündeki rolüne ek olarak, yağ asidi metabolizması (CPT1, CROT ), insülin sinyalleme (IRS2) ve mitokondriyal fonksiyon (AMPK, PGC1a) dahil olmak üzere bir dizi diğer önemli metabolik fonksiyonlarda yer alan genleri hedef almıştır (Price ve ark., 2018).

### 2.8.2. *miR-335*

Birçok miRNA'nın hücre büyümesi, hücre farklılaşması, hücre metabolizması ve kanser gibi birçok hastalıkta rol aldığı bilinmektedir (Nakanishi, 2009). Metabolizma bozukluğunun sebep olduğu, çağımızın hastalığı olan obezitenin gelişmesi sırasında, adipoz doku, leptin, resistin, tümör nekroz faktörü a (TNF- $\alpha$ ), interlökin-6 (IL-6) ve adiponektin gibi insülin direncine aracılık eden bir dizi farklı adipokin ve inflamatuvar sitokinleri salgılanır. Son zamanlarda, adiponektin ile düzenlenen bazı mikroRNA'lar (miRNA'lar), adipoz doku inflamasyonunu kontrol etmek için yeni hedefler olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle, adipokinler ve miRNA arasındaki ilişki çalışmalara konu olmuştur. miR-335 adipogenez ile ilişkili bir miRNA'dır ve hem yağ asidi metabolizmasında hem de lipogenezde rol oynamaktadır (Zhu ve ark., 2013).

MiR-335, lipid yüklenmesine tepki olarak artmakta ve obez farelerde karaciğer ve yağ dokusunda yüksek seviyede eksprese edilmektedir. Bununla birlikte, miR-335'in lipid

metabolizmasını ve adipogenez düzenlenmesindeki rolü aydınlatılmaya çalışılmaktadır (Fernandez-Hernando ve ark., 2011).

### **2.8.3. miR-370**

Lipid metabolizması ile ilişkilendirilmiş bir diğer miRNA, miR-370 dir. İlk olarak cJun (dn-cJun) genin baskın bir negatif formun da çalışılmış ve lipid metabolizmasında rol oynayan genlerin ekspresyonunu arttırdığı ayrıca bazı miRNA'ların ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (Iliopoulos, 2010).

MiR-370 doğrudan translasyonel bastırmayı tetikleyen ve yağ asidi  $\beta$ -oksidasyon oranını düşüren karnitin palmitoil transferaz 'nın (CPT- $\alpha$ ) 3'UTR bölgesini hedefler (Sacco ve Adeli, 2012; Moore ve ark., 2013). Bu da karnitin palmitoil transferaz ekspresyonunun azalmasına yol açar. Sonuç olarak hepatik hücre kültüründe yağ asidi  $\beta$ -oksidasyonu azalmış olur (Moore ve ark., 2013).

Ayrıca, miR-370 ve miR-122, başlangıçta sterol düzenleyici eleman-bağlayıcı protein (SREBP-1c) ve diaçilgliserol açiltransferaz-2 (DGAT2)'yi ve daha sonra yağ asit sentaz ve asil-CoA karboksilaz 1 (ACC1) 'i aktive eden lipojenik genlerin ekspresyonunu artırmaktadır. miR-122, lipogenezi doğrudan arttırır, buna karşın miR-370, miR-122'nin artmasında yanıt olarak lipogenezi teşvik etmektedir (Iliopoulos, 2010).

### **2.8.4. miR-758**

miR-758, yüksek serum kolesterol değerlerine sahip hastaların aterosklerotik plakları içindeki ABCA1 protein ekspresyonunun en önemli düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır (Mandolini ve ark., 2015). ABCA1, makrofaj hücrelerinde kolesterol akışını artırmaktadır. Bu taşıyıcıdaki eksiklik veya mutasyonlar, kolesterol akışındaki bozukluklara, makrofajlarda kolesterol ester birikimine yol açar ve kardiyovasküler hastalıkların gelişme riskini artırır (Ramirez ve ark., 2011).

miRNA'lar, miR-758 gibi ateroskleroz süreci de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik işlemlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Li ve ark., 2017). SREBP genlerinin intronları içinde lokalize olan ve esasen konakçı genler tarafından düzenlenen miR-33a / b ile karşılaştırıldığında, yüksek oranda korunmuş miR-758, kromozom 14'ün içindeki intergenik bir bölgede lokalize edilir ve doğrudan ekspresyonu bilinmemektedir (Ramirez ve ark., 2011). Olgun miR-758, iki tek sarmallı miRNA ailesidir, iki tane aile üyesi bilinmektedir. Bunlar; miR-758-3p ve miR-758-5'dir (Li ve ark., 2017).

Sadece miR-758-3p'nin fonksiyonel rolü hakkında yeterince araştırma yapılmış ve miR-758-3p, hücrel serbest kolesterol akışını, in vitro olarak ABCA1 ekspresyonunu hedefleyerek düzenlediği, in vivo olarak ise miR-758-3p aterosklerozda merkezi bir rol oynadığı bildirilmiştir (Li ve ark., 2017).

Li ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, THP-1 makrofajlarındaki kolesterol düzeylerinde miR-758-5p'in rolü araştırılmış ve sonuç olarak; kolesterol alımını düzenleyerek lipid birikiminin azalmasına yol açtığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle miR-758-5p'yi hedeflemenin aterosklerotik damar hastalığı için terapötik bir ajan olabileceği ifade edilmiştir (Li ve ark., 2017).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasına Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Dekanlığı, Etik Kurul Başkanlığının 22.09.2017 tarihli ve 2017/1009 sayılı kararı ile 'Etik Kurul Onayı' alındıktan sonra başlandı. Çalışmaya alınan egzersiz ve sedanter grubundaki kişilere yapılacak çalışma ile ilgili gerekli bilgi verildi ve çalışma için onayları alındı.

Bu çalışma Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Spor Hekimliğine başvuran 18-30 yaş aralığında, 30 kişiden oluşan gönüllü, profesyonel spor yapmadığı belirlenen kadınlar, Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Spor Hekimliğine başvuran 18-30 yaş aralığında, 30 kişiden oluşan profesyonel olarak spor yaptığı belirlenen kadınlar üzerinde gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Vakaların oluşturulması

Profesyonel olarak spor yapmayan ve sedanter olarak belirlediğimiz kadın grubundan EDTA'lı tüplere ve düz tüplere kan örnekleri alındı. Demografik özellikleri (yaş, boy, vücut kitle indeksi) özenle kaydedildi. Bu gruba katılan gönüllülerin herhangi bir kronik rahatsızlığı olmamasına önem verildi.

Profesyonel olarak spor yapan ve egzersiz grubu olarak belirlediğimiz kadın grubundan egzersiz antrenmanına başlamadan önce EDTA'lı tüplere ve düz tüplere kan örnekleri alındı. Egzersiz sonrasında da EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. Demografik özellikleri (yaş, boy, vücut kitle indeksi) özenle kaydedildi. Bu gruba katılan katılımcılarımızın düzenli kullandıkları ilaç ve kronik rahatsızlıklarının olmamasına özen gösterildi.

Düz tüplere toplanan kan örnekleri çok bekletilmeden santrifüj edildi ve serumları temiz eppendorflara ayrıldı. EDTA'lı tüpler bekletilmeden santrifüj edildi ve plazmaları temiz eppendorflara ayrıldı. Serum ve plazma örnekleri çalışma gününe kadar -80 de saklandı. Toplanan serum örneklerinde glikoz, kolesterol, LDL, HDL, trigliserid, üre, kreatinin, ALT ve AST çalışıldı. EDTA'lı tüplerde ise miR-33, miR-335, miR-370 ve miR-758 çalışıldı.

##### 3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

- RTA total miRNA izolasyon kiti
- RTA total miRNA izolasyon kitinin içeriği

- Proteinaz K+
- Lysis Buffer
- Wash Buffer
- Binding Buffer
- DNase 1
- DNase Working Buffer
- Elution Buffer
- Applied Biological Materials (abm) cDNA izolasyon kiti
- BrightGreen miRNA qPCR mastermix
- SNORD 44 Referans Gen Primerleri
- Applied Biological Materials (abm) Polly (A) kiti
- Hedef miRNA Primerleri

### **3.1.3. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Araçları**

- Santrifüj
- Real Time PCR (LightCycler® 96)
- Roche LightCycler 96 Multiwell Plate
- Etüv
- Mikrosantrifüj
- Vorteks karıştırıcı
- (DNase & RNase free) ddH2O
- 96-100% Etanol
- Mikrosantrifüj tüpleri (1.5 ml, 2.0 ml)
- Mikropipet seti ve steril filtreli mikropipet uçları
- Spin Kolonlar
- Toplama Tüpleri
- Elüsyon Tüpleri

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Plazma Eldesi ve miRNA Analizi**

- Kan örneği düz veya EDTA'lı tüpe alındıktan sonra 5-10 kez yavaşça alt üst edilerek karıştırıldı.
- Kan örneklerinin 2 saat içerisinde plazma ayırımı yapıldı.
- Tüpler 2.000 xg de 10 dakika santrifüj edildi.

- Santrifüj işlemi sonunda tüpler sarsılmadan dikkatlice santrifüjden çıkartıldı ve yavaşça kapakları açıldı. Plazmanın üst kısmından 200 µl'lik pipetlerle (DNase, RNase free, filtreli pipet uçları kullanılarak) 5 kez pipetleme yapıldı. Toplamda 1000 µl örnek temiz eppendorflara toplanmış oldu.
- Toplanan 1.000 µl'lik bu plazma örneği 2.000 xg'de 10 dakika santrifüj edildi ve plazmanın üst kısmından (en üstte bir miktar zor görülen lipid birikir ona değmeden) 250 µl lik kısım steril bir eppendorf tüpe alındı. Bu işlem alttaki hücresel kısım rahatsız edilmeden (DNase, RNase Free, filtreli pipet uçları kullanılarak) pipet ile yapıldı.
- Ayrılmış olan plazma örnekleri çalışma yapılacağı güne kadar -80 de saklandı.

### 3.2.2. *miRNA İzolasyonu*

- Plazma örneklerinden 200 µl'lik kısım DNase, RNase free eppendorf tüplere aktarıldı.
- 200 µl plazma örneği üzerine 350 µL Lysis Buffer ve 20 µL Proteinaz K çözeltisi ilave edildi, çekip bırakarak pipetle hafifçe karıştırıldı, ardından 60° C'de 30 dakika inkübe edildi.
- Kalıntı DNA istenmemesi için tüpe aktarılan sıvının üzerine Binding Buffer tamponu eklemeyen önce 20 µL DNase I Working Tamponu ve 10 µL DNase I eklendi ve pipetaj yaparak karıştırıldı, oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Üzerine 350 µL Binding Buffer tamponundan eklendi ve dikkatlice pipetaj yaparak karıştırıldı.
- Lizatın tamamını miRNA Spin Kolonuna (2 mL'lik toplama tüpüne yerleştirilmiş) aktarıldı, kapak kapatılıp ve 1 dakika boyunca 11000 xg'de santrifüj edildi.
- Filtreli kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- Filtreli kolona 500 µL Wash Buffer ilave edildi ve 11000 xg'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Sıvı içeren toplama tüpünü atarak filtreli kolonu yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- Kalan ethanolu uzaklaştırmak için 1 dakika süreyle 11000 xg'de santrifüj edildi.
- Sıvı içeren toplama tüpünü atarak miRNA Spin Kolonu temiz bir 1.5 mL'lik santrifüj tüpüne yerleştirildi.
- miRNA Spin Kolonun filtresinin merkezine önceden 65°C'de ısıtılmış Elution Buffer'den 40 µL aktarılıp ve oda sıcaklığında 1-3 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında tüpler 1 dakika boyunca 8000 xg'de santrifüj edildi.
- Tüpte kalan sıvı miRNA içermiş olup ve kullanıma hazır hale getirildi.

- Elde edilen miRNA'lar -20°C'de saklandı.

### 3.2.3. miRNA'lardan cDNA Eldesi

- Elde edilen miRNA'lar dan abm cDNA izolasyon kiti içeriğinde yer alan poly A mixi kullanılarak miRNA'lara poly A kuyruğu takıldı.
- Kitin içeriğinde yer alan tüm birleşenler her bir örnek için Tablo 1'de belirtilen miktarlarda hazırlandı. Son hacim 25 µl olacak şekilde kitin çalışma protokolüne uygun olarak çalışıldı.

**Tablo 1. Poly (A) mix içeriği.**

RNA	15,25 µl
ATP 10 mM	1,25 µl
Poly(A) polymerase, yeast (1 U/uL)	1 µl
5x Poly(A) polymerase, yeast reaction buffer	5 µl
25 mM MnCl <sub>2</sub>	2,5 µl (2,5 mM)
Toplam	25 µl

- Yapılan bu işlemlerin ardından ısı protokolü tablo 2 de belirtilen şekilde Light Cycler cihazında uygulandı.

**Tablo 2. Poly (A) 'nın bağlanması için gereken süre.**

37° C	20 dakika
65° C	20 dakika

- Poly (A) takılı olan miRNA'lar +4 de beklemeye alındı ve bu sürede cDNA eldesi için yine aynı firmanın cDNA mix protokolü uygulanarak mixler hazırlandı. Öncelikle cDNA mix 1 hazırlandı ve içeriği tablo 3 de belirtildiği gibidir.

**Tablo 3. cDNA mix 1'in içeriği.**

RNA (poly a kuyruklu)	10 µl
miRNA oligo (dT) adapter (10 uM)	2 µl
Toplam	12 µl

- Hazırlanan mix 65° C'de 5 dakika bekletildi, sonrasında +4 de tutuldu.
- Hemen ardından cDNA mix 2 hazırlandı. Mix hazırlanırken kullanılan bileşenler ve hacimleri tablo 4 de belirtildiği gibi uygulandı.

**Tablo 4. cDNA mix 2'nin içeriği.**

dTNPs (10 mM)	1 µl
5x RT buffer	4 µl
RNase off ribonuclease inhibitör	0,5 µl
Onescript RTase	1 µl
RNase free water	1,5 µl
Toplam	20 µl

- Mix 1 ve mix 2 birbirine karıştırıldı. Hazırlanan cDNA sentez mix ve RNA karışımları yine üretici firmanın mirna onescript cDNA sentez kiti için hazırlamış olduğu kılavuzda ki tavsiyelerine uyularak aşağıda ki ısı ve sürelerde işlem görmek üzere Light Cycler 96 sistemine ait 96 kuyucuklu plate üzerine yüklendi.
  - o 42 °C de 15 dk
  - o 72 °C de 10 dk.
  - o +4 °C de saklandı
- Uygulanan protokol sonrasında cDNA'lar elde edildi. Elde edilen cDNA lar PCR aşaması öncesi nanodropp ile ölçümleri yapılarak her cDNA 250 ng düşürülecek

şekilde PCR grade water ile seyreltildi. Hazırlanan karışımlar Light Cycler 96 sistemine ait 96 kuyucuklu plate üzerine yüklendi.

### 3.3. miRNA Analizi Real Time PCR

- cDNA'ların referans gen açısından amplifikasyonunu sağlamak ve ilgili bölgeleri işaretlemek amacıyla BrightGreen Master Mix ve SNORD44 PCR Primer Mix'leri üretici firmanın tavsiyelerine uyularak tablo 5'de belirtilen hacimlere göre hazırlandı

**Tablo 5. BrightGreen Mastermix ve SNORD44 primer mastermix içeriği.**

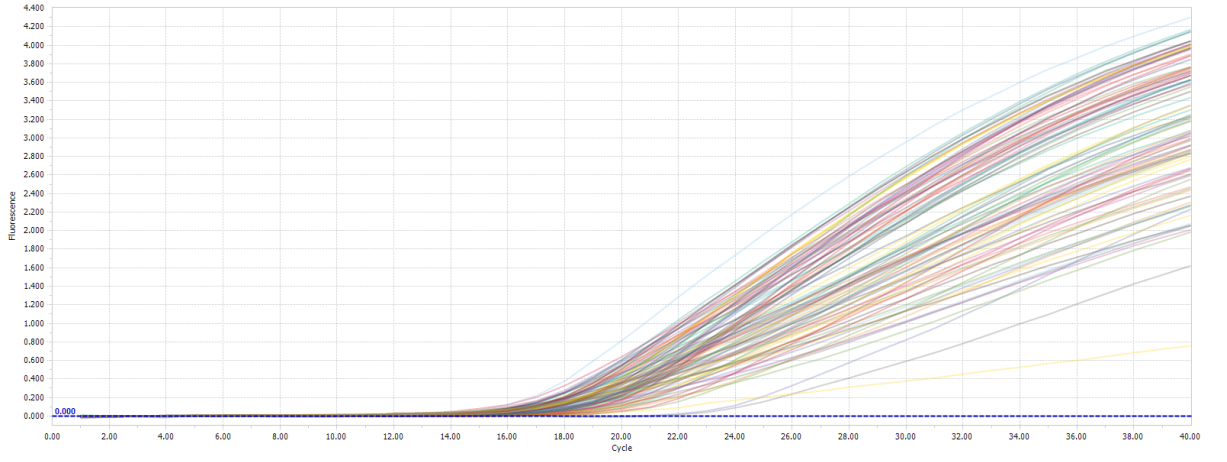
Bright Green Master Mix	10 µl
miRNA forward Primer 300 nM	1 µl
miRNA reverse primer 300 nM	1 µl
cDNA 250 ng	2 µl
H <sub>2</sub> O	6 µl
Total Volume	20 µl

- Hazırlanan referans gen real time PCR mix'leri ve hedef gen (miR-33, miR-335, miR-370, miR-758) real time PCR mix'leri uygun cDNA'lar ile Light Cycler 96 sistemine ait 96 kuyucuklu plate'ler üzerinde biraraya getirildikten sonra tablo 6' da belirtilen ısı protokolü uygulanarak Light Cycler 96 sisteminde real time PCR işlemine alındı.

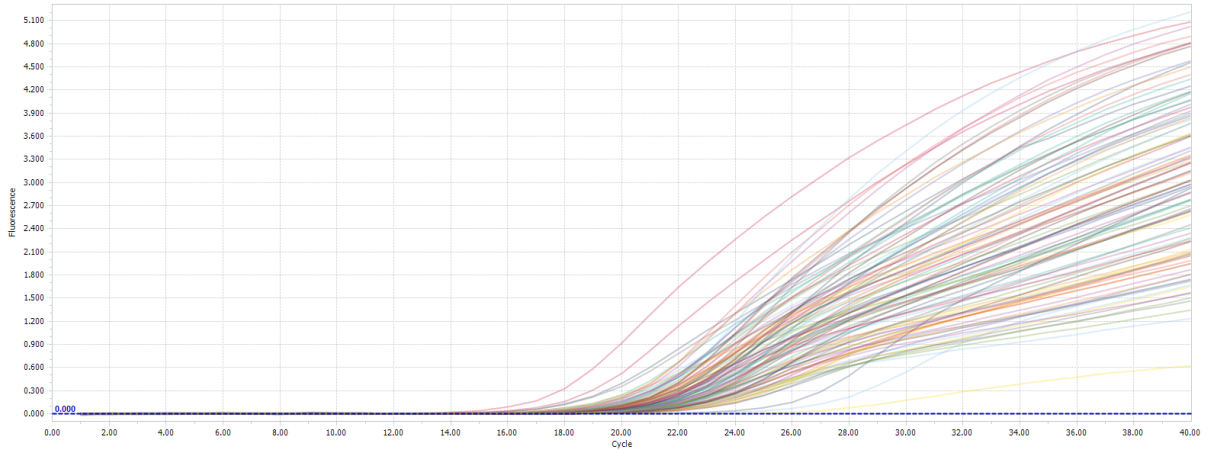
**Tablo 6. Real time PCR ısı protokolü.**

<b>Denatürasyon</b>	95°C de 10 dk.
<b>Amplifikasyon</b> Bu döngü 40 kez sağlanır. (40 cycle, Ramp-rite 1,6°C/sn, saniyedeki ısı değişimi)	95°C de 10 sn. 60°C de 15sn 72 °C de 30 sn Okuma
<b>Melting Curve</b>	95°C de 30 sn. 50 °C de 1 dk. 90 °C de continue (Acquisitions 3 per/°C)
<b>Cooling</b>	40 °C de 1 dk.

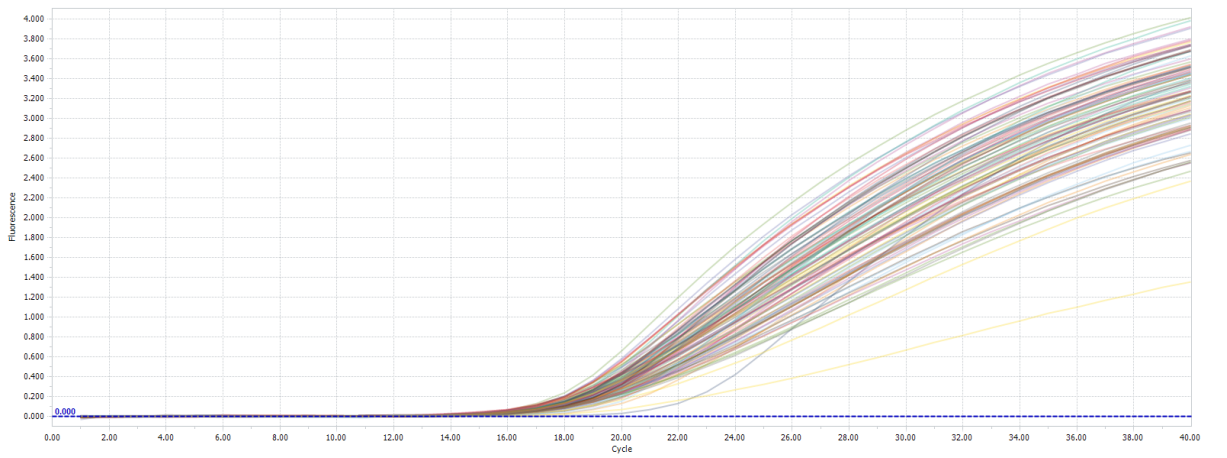
**Grafik 1. miR-33'ün amplifikasyon eğrileri.**



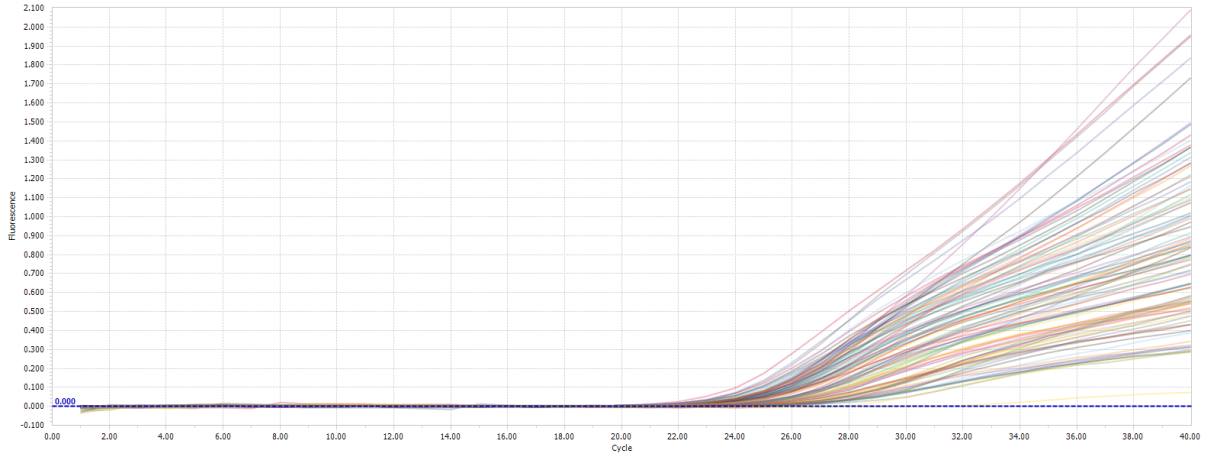
**Grafik 2. miR-335'in amplifikasyon eğrileri.**



**Grafik 3. miR-370'in amplifikasyon eğrileri.**



**Grafik 4. miR-758'in amplifikasyon eğrileri.**



### **3.4. İstatiksel Analiz**

İstatistiki analiz SPSS 16.0 programı kullanılarak yapıldı. Çalışmamızda gruplara ait sonuçlar  $X \pm SE$  olarak verildi.  $P < 0.05$  anlamlı olarak değerlendirildi. Gruplar arası farklılığı karşılaştırmak amacıyla Independent Samples Testi uygulandı. Çalışma grupları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edildi. Anlamlı bulunan gruplar arasında çoklu karşılaştırma (post-hoc) testlerinden Tukey's HSD (Tukey's Honestly Significant Difference) testi kullanıldı.

#### 4. BULGULAR

Sedanter ve egzersiz grubuna ait demografik özellikler tablo 7’de verilmiştir. Tablo 7’de görüldüğü gibi sedanter grubuna ait kilo değerleri egzersiz grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bunun yanında, sedanter ve egzersiz grupları karşılaştırıldığında yaş, boy ve VKİ arasında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

**Tablo 7. Sedanter ve egzersiz grubuna ait demografik veriler.**

Demografik özellikler	Sedanter Grubu (n=30)	Egzersiz Grubu (n=30)	p
Yaş (yıl)	23.4 ± 0.24	21.9 ± 0.88	0.12
Boy (cm)	164.9 ± 1.04	162.8 ± 1.10	0.12
Kilo (kg)	60.0 ± 1.43	55.1 ± 1.37	0.02
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	21.8 ± 0.56	20.7 ± 0.45	0.14

VKİ; Vücut kitle indeksi

Sedanter ve egzersiz grubuna ait biyokimyasal parametrelerinin düzeyleri tablo 8’de gösterilmiştir. Tablo 8’de görüldüğü gibi sedanter grubuna ait serum kolesterol ( $p<0.001$ ), serum glukoz ( $p<0.05$ ), LDL ( $p<0.05$ ), ve ALT düzeyleri ( $p<0.001$ ) egzersiz grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur. Yine tablo 8’de görüldüğü gibi sedanter grubuna ait serum VLDL ( $p<0.05$ ) düzeyi egzersiz grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı düşük bulunmuştur. İlaveeten, sedanter ve egzersiz gruplarına ait serum TG, üre, kreatinin, HDL ve AST düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

**Tablo 8. Sedanter ve egzersiz grubuna ait biyokimyasal parametrelerin düzeyleri.**

<b>Biyokimyasal parametreler</b>	<b>Sedanter Grubu (n=30)</b>	<b>Egzersiz Grubu (n=30)</b>	<b>P</b>
Glukoz (mg/dL)	92.2 ± 1.30	83.4 ± 2.71	0.01
Kolesterol (mg/dL)	166.6 ± 4.74	145.8 ± 4.08	p<0.001
LDL (mg/dL)	88.8 ± 3.97	77.5 ± 2.87	0.03
HDL (mg/dL)	56.6 ± 1.68	52.1 ± 2.02	0.09
VLDL (mg/dL)	15.9 ± 1.06	20.1 ± 1.77	0.05
TG (mg/dL)	83.2 ± 5.43	94.1 ± 6.05	0.19
Üre (mg/dL)	22.3 ± 0.84	23.2 ± 1.04	0.49
Kreatin (mg/dL)	0.71 ± 0.01	0.68 ± 0.01	0.13
ALT (U/L)	14.8 ± 1.20	7.7 ± 0.45	p<0.001
AST (U/L)	16.6 ± 0.67	17.5 ± 1.77	0.63

LDL; Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein), HDL; High Density Lipoprotein (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein, VLDL; Very Low Density Lipoprotein (Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein), TG; Trigliserid, ALT; Alanin Amino Transferaz, AST; Aspartat Amino Transferaz.

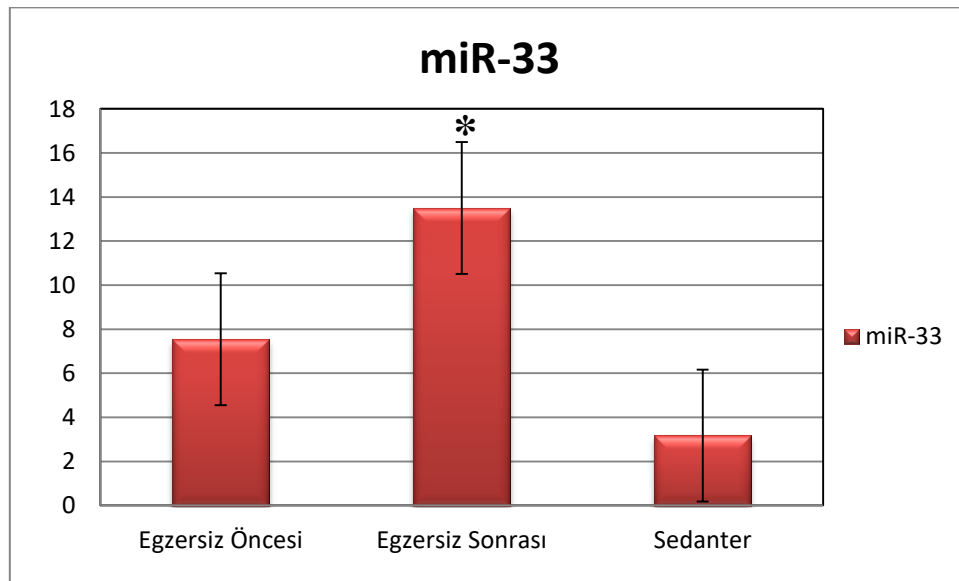
Egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter grubun plazma miRNA düzeyleri tablo 9’ da, grafik 5, grafik 6, grafik 7 ve grafik 8’de gösterilmiştir. Tablo 9’da ve grafiklerde görüldüğü gibi grupların plazma miR-33 (p<0.002), miR-335 (p<0.024), miR-370 (p<0.002) ve miR-758 (p<0.001) düzeyi arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunmuştur. Plazma miR-33 düzeyi egzersiz sonrası grup ile sedanter grup karşılaştırıldığında egzersiz sonrası grupta anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0.01). Plazma miR-335 düzeyi egzersiz sonrası grup ve sedanter grup ile karşılaştırıldığında egzersiz sonrası grupta istatistiki açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur (p<0.05). Plazma miR-370 düzeyleri egzersiz öncesi grupta sedanter grup (p<0.05) ve egzersiz sonrası grup (p<0.01) ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur. Plazma miR-758 düzeyleri egzersiz öncesi ve egzersiz sonrası grup ile karşılaştırıldığında egzersiz sonrası grupta anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p<0.01). İlave ten plazma miR-758 düzeyleri, egzersiz sonrası ve sedanter grup ile karşılaştırıldığında sedanter grupta anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.01).

**Tablo 9. Egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter gruba ait plazma miRNA düzeyleri.**

	<b>Egzersiz Öncesi (n=30)</b>	<b>Egzersiz Sonrası (n=30)</b>	<b>Sedanter Grubu (n=30)</b>	<b>p</b>
miR-33	7.55 ± 0.88	13.5 ± 3.58 <sup>a</sup>	3.17 ± 0.38	0.002
miR-335	1.15 ± 0.30	2.26 ± 0.63 <sup>b</sup>	0.82 ± 0.11	0.024
miR-370	4.04 ± 0.58 <sup>c,d</sup>	11.2 ± 2.22	8.9 ± 0.87	0.002
miR-758	0.011 ± 0.001 <sup>d</sup>	0.004 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.013 ± 0.001	p<0.001

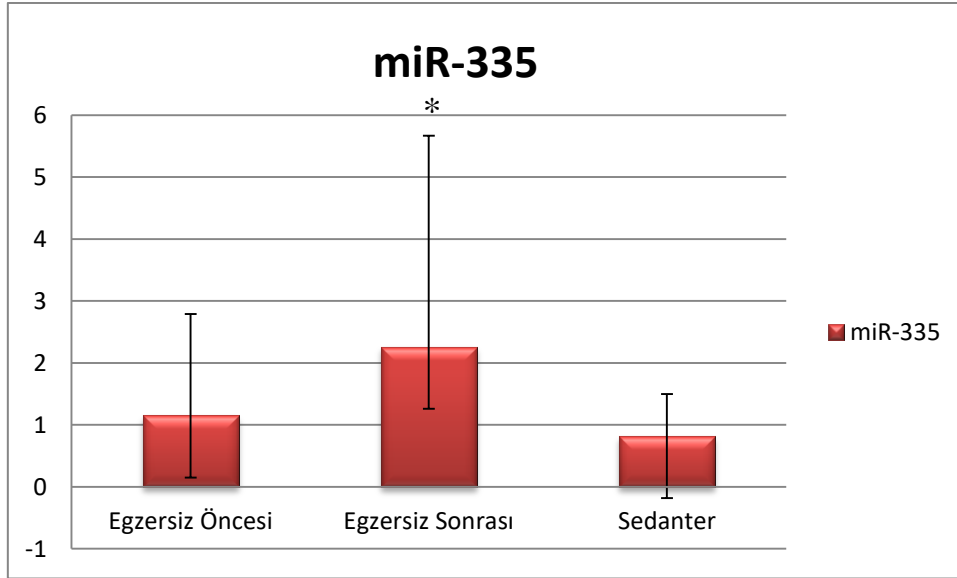
a; sedanter grupla karşılaştırıldığında (p<0.01), b; sedanter grup ile karşılaştırıldığında (p<0.05), c: sedanter grupla karşılaştırıldığında (p<0.05), d; egzersiz sonrası ile karşılaştırıldığında (p<0.01).

**Grafik 5. Plazma miR-33 düzeylerinin egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter gruptaki artışı.**



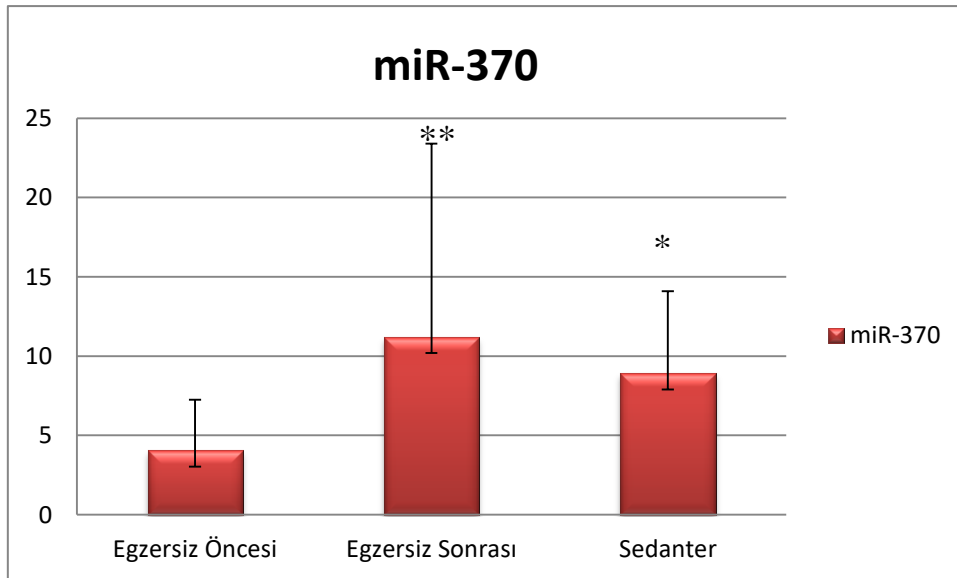
(\*sedanter grupla karşılaştırıldığında p<0.01).

**Grafik 6. Plazma miR-335 düzeylerinin egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter gruptaki artışı.**



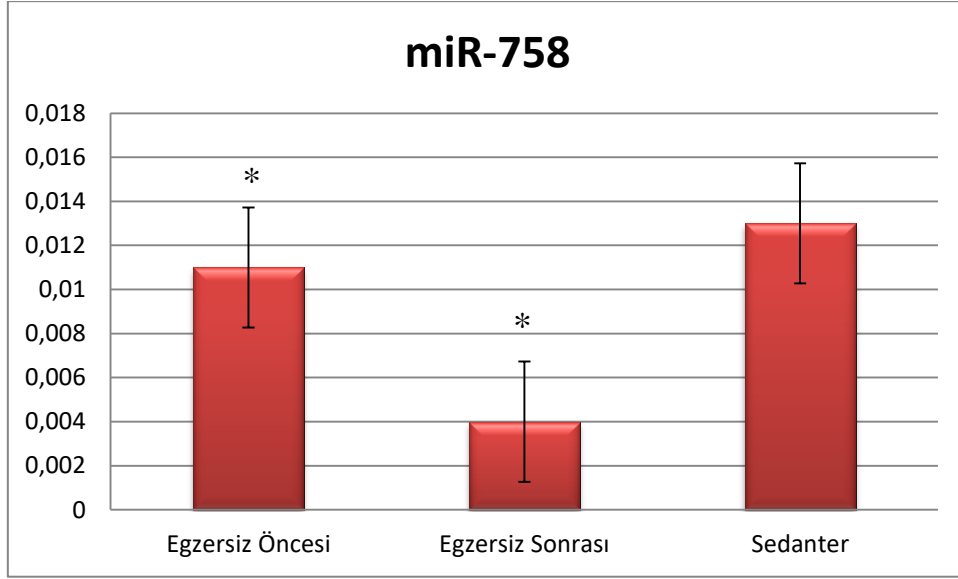
(\*sedanter grupla karşılaştırıldığında  $p < 0.05$ ).

**Grafik 7. Plazma miR-370 düzeylerinin egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter gruptaki artışı.**



(\*egzersiz öncesi karşılaştırıldığında, egzersiz öncesi grup  $p < 0.05$ , \*\*egzersiz öncesi ile karşılaştırıldığında egzersiz öncesi grup  $p < 0.01$ ).

**Grafik 8. Plazma miR-758 düzeylerinin egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter gruptaki artışı.**



(\*egzersiz sonrası ile karşılaştırıldığında  $p < 0.01$ , \* sedanter grupla karşılaştırıldığında  $p < 0.01$ ).

Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-33 düzeyleri ile korelasyonu Tablo 10'da verilmiştir. Tablo 10'da görüldüğü gibi plazma miR-33 düzeyleri ile kilo, VKİ, kolesterol, HDL, VLDL ve TG değerleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. Bunun yanında plazma miR-33 düzeyleri ile serum LDL değerleri arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r=0.347$ ;  $p<0.05$ ).

**Tablo 10. Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-33 düzeyleri ile korelasyonu.**

<b>Parametreler</b>	<b>miR-33</b>	
Kilo	$r = 0.01$	$p = 0.95$
VKİ	$r = 0.18$	$p = 0.29$
Kolesterol	$r = -0.26$	$p = 0.13$
LDL	$r = 0.35$	$p = 0.04$
HDL	$r = -0.11$	$p = 0.55$
VLDL	$r = 0.07$	$p = 0.69$
TG	$r = 0.01$	$p = 0.94$

Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-335 düzeyleri ile korelasyonu Tablo 11’de gösterilmiştir. Tablo 11’de görüldüğü gibi plazma miR-335 düzeyleri ile demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin arasında istatistiki açıdan anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

**Tablo 11. Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-335 düzeyleri ile korelasyonu.**

<b>Parametreler</b>	<b>miR-335</b>	
Kilo	$r = -0.16$	$p = 0.35$
VKİ	$r = -0.12$	$p = 0.48$
Kolesterol	$r = -0.19$	$p = 0.27$
LDL	$r = -0.26$	$p = 0.13$
HDL	$r = -0.05$	$p = 0.81$
VLDL	$r = 0.25$	$p = 0.15$
TG	$r = 0.24$	$p = 0.18$

Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-370 düzeyleri ile korelasyonu Tablo 12’de gösterilmiştir. Tablo 12’de görüldüğü gibi plazma miR-370 düzeyleri ile kilo ( $r = -0.365$ ;  $p < 0.05$ ) değerleri arasında anlamlı negatif korelasyon bulunmuştur. Plazma miR-370 düzeyleri ile VKİ, serum kolesterol, LDL, HDL, VLDL, TG değerleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

**Tablo 12. Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-370 düzeyleri ile korelasyonu.**

<b>Parametreler</b>	<b>miR-370</b>	
Kilo	$r = -0.37$	$p = 0.03$
VKİ	$r = -0.33$	$p = 0.05$
Kolesterol	$r = -0.28$	$p = 0.10$
LDL	$r = -0.23$	$p = 0.17$
HDL	$r = -0.13$	$p = 0.48$
VLDL	$r = 0.29$	$p = 0.09$
TG	$r = 0.28$	$p = 0.11$

Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-758 düzeyleri ile korelasyonu Tablo 13’de gösterilmiştir. Tablo 13’de görüldüğü gibi plazma miR-758 düzeyleri ile kilo, VKİ ve serum kolesterol, LDL düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. İlaveten plazma miR-758 düzeyleri ile serum HDL ( $r=-0.366$ ;  $p<0.05$ ) düzeyleri arasında negatif korelasyon, VLDL ( $r=0.319$ ;  $p<0.05$ ) ve TG ( $r=0.387$ ;  $p<0.05$ ) düzeyleri arasında ise istatistiki açıdan anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur.

**Tablo 13. Sedanter gruba ait demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-758 ile korelasyonu.**

<b>Parametreler</b>	<b>miR-758</b>	
Kilo	$r = 0.22$	$p = 0.20$
VKİ	$r = 0.31$	$p = 0.07$
Kolesterol	$r = 0.05$	$p = 0.79$
LDL	$r = 0.06$	$p = 0.72$
HDL	$r = -0.37$	$p = 0.04$
VLDL	$r = 0.32$	$p = 0.05$
TG	$r = 0.39$	$p = 0.03$

Egzersiz grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-33 düzeyleri ile korelasyonu Tablo 14’de gösterilmiştir. Tablo 14’de görüldüğü gibi egzersiz grubuna ait plazma miR-33 düzeyleri ile demografik veriler ve biyokimyasal parametreler arasında istatistiki açıdan anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

**Tablo 14. Egzersiz grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-33 düzeyleri ile korelasyonu.**

<b>Parametreler</b>	<b>miR-33</b>	
Kilo	$r = 0.86$	$p = 0.65$
VKİ	$r = 0.18$	$p = 0.33$
Kolesterol	$r = 0.15$	$p = 0.44$
LDL	$r = 0.15$	$p = 0.43$
HDL	$r = 0.03$	$p = 0.89$
VLDL	$r = -0.09$	$p = 0.65$
TG	$r = -0.28$	$p = 0.15$

Egzersiz grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-335 düzeyleri ile korelasyonu Tablo 15’de gösterilmiştir. Tablo 15’de görüldüğü gibi plazma miR-335 düzeyleri ile demografik veriler ve biyokimyasal parametreler arasında istatistiki açıdan anlamlı korelasyon bulunamamıştır

**Tablo 15. Egzersiz Grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-335 düzeyleri ile korelasyonu.**

<b>Parametreler</b>	<b>miR-335</b>	
Kilo	$r = 0.17$	$p = 0.37$
VKİ	$r = 0.13$	$p = 0.49$
Kolesterol	$r = -0.03$	$p = 0.86$
LDL	$r = -0.13$	$p = 0.51$
HDL	$r = -0.06$	$p = 0.76$
VLDL	$r = -0.22$	$p = 0.25$
TG	$r = -0.30$	$p = 0.11$

Egzersiz grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-370 düzeyleri ile korelasyonu Tablo 16’da gösterilmiştir. Tablo 16’da görüldüğü egzersiz grubuna ait plazma miR-370 düzeyleri ile demografik verilerin ve biyokimyasal parametreler arasında istatistiki açıdan anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

**Tablo 16. Egzersiz grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-370 düzeyleri ile korelasyonu.**

<b>Parametreler</b>	<b>miR-370</b>	
Kilo	$r = -0.97$	$p = 0.61$
VKİ	$r = 0.06$	$p = 0.76$
Kolesterol	$r = 0.02$	$p = 0.91$
LDL	$r = 0.17$	$p = 0.37$
HDL	$r = -0.35$	$p = 0.06$
VLDL	$r = 0.12$	$p = 0.54$
TG	$r = 0.04$	$p = 0.86$

Egzersiz grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-758 düzeyleri ile korelasyonu Tablo 17’de gösterilmiştir. Tablo 17’de görüldüğü egzersiz grubuna ait plazma miR-758 düzeyleri ile demografik verilerin ve biyokimyasal parametreler arasında istatistiki açıdan anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

**Tablo 17. Egzersiz grubuna ait (egzersiz öncesi değerleri) demografik verilerin ve biyokimyasal parametrelerin plazma miR-758 düzeyleri ile korelasyonu.**

<b>Parametreler</b>	<b>miR-758</b>	
Kilo	$r = -0.07$	$p = 0.73$
VKİ	$r = -0.15$	$p = 0.44$
Kolesterol	$r = -0.08$	$p = 0.70$
LDL	$r = -0.09$	$p = 0.65$
HDL	$r = 0.16$	$p = 0.40$
VLDL	$r = 0.26$	$p = 0.17$
TG	$r = -0.31$	$p = 0.10$

## 5. TARTIŞMA

Fiziksel aktivite, enerji harcamasını arttıran iskelet kasının kasılmasıyla yapılan bedensel hareket olarak tanımlanmaktadır. Egzersiz ise fiziksel zindeliği geliştirmek veya sürdürürebilmek için planlı olarak yapılan ve tekrarlayan bedensel hareket olarak tanımlanır. Sedanter yaşam tarzı, düzenli bir egzersiz programına katılmayan veya minimum fiziksel aktiviteye sahip olunan yaşam tarzı olarak bilinmektedir (Ekelund ve ark., 2014).

Dünya çapında, yaklaşık yetişkinlerin üçte biri ve ergenlerin beşte biri, günlük tavsiye edilen egzersiz yoğunluğuna ve kalitesine ulaşamamaktadır. Mevcut halk sağlığı önerileri, hipertansiyon, koroner kalp hastalığı, obezite, tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ve yaşa bağlı kas kaybı gibi çok sayıda kronik durumun önlenmesi ve tedavisinde, temel egzersiz ve fiziksel aktiviteyi bir köşe taşı olarak kabul etmektedir. Diyet müdahalesi ile birlikte düzenli egzersiz T2DM ve sarkopeni (kas erimesi) tedavisinde ve önlenmesinde farmakolojik müdahaleden daha başarılı olduğu çalışmalarla desteklenmiştir (Egan ve Zierath, 2012).

Egzersiz metabolik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde ki yararının yanında, kandaki glukoz ve lipid düzeylerinin iyileştirilmesinde de önemli bir unsur olarak kabul edilmektedir. Kronik egzersiz eğitimi, kas kütlelerini ve kapasitesini artırırken, akut egzersiz, kas kasılmalarını desteklemek için glikoz ve lipitlerin kullanımını kolaylaştırır (Huh ve ark., 2014). Düzenli egzersizin yararları ve adaptasyonları uzun zamandır bilinirken, moleküler biyologlar kısa bir süre önce, uyarıcı tepkileri koordine eden sinyalizasyon yolları ve düzenleyici moleküller ağlarını ortaya çıkarmışlardır (Egan ve Zierath, 2012).

Bu moleküler düzenleyiciler arasında ilk kez 1993 yılında keşfedilen 20-22 nükleotid uzunluğunda kodlanmayan RNA molekülü olarak tanımlanan mikroRNA (miRNA) bulunmaktadır (Mohr ve Mott, 2015). miRNA'lar hedef mRNA'nın 3' UTR bölgesine bağlanarak ya translasyonel baskılamaya yaparlar ya da hedef mRNA'yı keserek gen ekspresyonunu azaltırlar (Zhang ve ark., 2006).

Çalışmamızda daha önce lipid metabolizması ile ilişkilendirilmiş miRNA'ların (miR-33, miR-335, miR-370, miR-758) egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve sedanter gruptaki seviyelerini araştırdık. Bununla beraber, gruplarda bu miRNA'ların lipid paneli parametreleri ile ilişkisini de araştırdık. Çalışmamızda sedanter grupta plazma miR-758 ile serum VLDL ve TG düzeyleri arasında pozitif, serum HDL düzeyleri arasında negatif korelasyon bulundu. Literatür taramamızda bu bulgularımızı destekler bulgulara ulaştık (Li ve ark., 2017; Ramirez ve ark., 2011 ).

ABCA-1 proteini karaciğerde HDL oluşumunu başlatmak, kolesterol akışını düzenlemek gibi görevleri bulunduğundan bu proteinin ekspresyon seviyelerindeki artış kolesterol ve lipit metabolizması açısından önem arz etmektedir. Ramirez ve ark. (2011), ABCA-1'in transkripsiyonel düzenlenmesinde miR-758'in rolünü makrofajlarda araştırmışlardır, RT-PCR yöntemleri kullanarak yaptıkları bu çalışmanın sonucunda. ABCA-1 ile miR-758 arasında anlamlı negatif bir korelasyon olduğunu bulmuşlardır. miR-758 düzeylerinde ki azalma ABCA-1'in ekspresyonunu artırdığını, tam tersi miR-758 düzeylerinin artmasının da ABCA-1 ekspresyonunu azalttığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda yukarıdaki araştırmacının bulgularını destekler sonuçlara ulaştık. Bizim çalışmamızda da plazma miR-758 egzersiz sonrası düşük bulunmuş ve sedanter gruba göre de devamlı egzersiz yapanlarda düşük bulunmuştur. Buradan anlaşılan, bu bulgular egzersizin lipit profili üzerine pozitif etkisinin miRNA düzeyindeki ispatının bir göstergesidir.

Can ve ark. (2015), yaptıkları bir çalışmada obez ve normal kilolu çocuklarda dolaşımdaki lipit metabolizması ile ilişkili olduğu öne sürülen miRNA düzeylerini araştırmışlardır. Mevcut çalışmanın sonucunda obez çocuklar normal kilolu çocuklar ile kıyaslandığında plazma miR-335, miR-143 ve miR-758 seviyeleri düşük, plazma miR-27, miR-378, miR-33 ve miR-370 seviyeleri yüksek bulmuşlardır. Araştırmacılar bu miRNA'ların seviyelerindeki değişiminin obez çocuklardaki bozulmuş lipit pnaelinden sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bizde çalışmamızda sedanter grupta egzersiz grubu ile kıyasladığımızda plazma miR-370 seviyeleri yüksek, plazma miR-758 seviyeleri düşük bulduk. Sedanter yaşamın obeziteyi doğurduğu bir süreçte araştırmacıların bulguları bizim çalışmamızın bulgularını desteklemektedir.

Çalışmamızda, plazma miR-335 düzeyi sedanter grup ile karşılaştırıldığında egzersiz sonrası grupta anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Nakanishi ve ark. (2009), 9 haftalık erkek C57BL/6 ve obez KKAy fareleri ile gerçekleştirdiği çalışmada, miR-335'in bu fare modellerinde metabolik sendrom için yeni bir biyobelirteç olabileceğini göstermişlerdir. Çalışmalarında miR-335'in normal farelere kıyasla, obez fare modeli olan db/db farelerinin karaciğerinde yüksek seviyede bulunduğunu göstermişlerdir. Obez farelerde miR-335'in yükselmesinin metabolik bozuklukla sıkı sıkıya ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Kan ve ark. (2017), yaptıkları bir çalışmada tiroid kanseri hastalarında miR-335'in mRNA ve çinko parmak E-kutu ciltleme homebox-2 (ZEB2)'nin protein ifadesi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Ve çalışmanın sonucunda, miR-335'in aşırı ekspresyonunun tiroid kanser hücrelerinin proliferasyonunu, göçünü ve invazyonunu önemli ölçüde inhibe ettiğini

gösterilmiştir. ZEB2, RT-PCR ve western blotlama ile teyit edilmiş ve miR-335'in doğrudan bir hedefi olarak tanımlanmıştır. Araştırmacılar, bu bulguların miR-335'in bir tümör baskılayıcısı olarak işlev görebileceğini ve ZEB2'yi hedefleyerek tiroid kanser hücrelerinin büyüme ve metastatik davranışını baskıladığını belirtmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, miRNA-335'in papillertiroid kanserli hastaların tedavisinde terapötik aday olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da sedanter gruba göre egzersiz sonrası grupta ilgili miRNA yüksek bulunmuştur. Tümör baskılayıcı olarak lanse edilen bu miRNA'nın egzersiz ile yükselmesi ve genel olarak sedanter grupta diğer gruplara göre düşük düzeylerde olması egzersizin kanser üzerine olumlu etkilerini de desteklemektedir. Çalışmamız bu yönü ile de farklı konulara da ışık tutmaktadır.

Plazma miR-370 düzeyleri egzersiz öncesi grupta sedanter grup ve egzersiz sonrası grup ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur. Benatti ve ark. (2014), hepatik yağ asidi sentezi,  $\beta$ -oksidasyonu yolakların da miR-122 ve miR-370'in rolünü araştırmak istemeleri üzerine 11 isveç faresi üzerinde yapmış oldukları çalışmada fareleri rastgele iki gruba ayırmışlardır. Bir grup yüksek fruktozlu diyet ile beslenirken diğer grup laboratuvar yemi ile beslenmişlerdir. Yapılan RT-PCR yöntemi sonucunda. Yüksek fruktozlu diyet ile beslenen farelerde artmış adipoz doku kitlesi ve hepatik yağ birikimi, laboratuvar yemi ile beslenenlere oranla fazla bulunmuştur. Ayrıca, yüksek fruktozlu diyet ile beslenen farelerinin, karaciğerde laboratuvar yemi ile beslenen farelerden daha yüksek miR-370 düzeylerini bulmuşlardır. Bizimde çalışmamızda devamlı egzersiz yapan kişilerde sedanter gruba göre plazma miR-370 düşük düzeylerde bulunmuştur. Dahası egzersiz yapan kişilerde plazma miR-370 seviyeleri ile serum HDL düzeyi arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Bu kapsamda bizim çalışmamızda ulaştığımız sonuçlar ve yukarıdaki araştırmanın bulguları, plazma miR-370'in yağ asidi  $\beta$ -oksidasyonun da hız sınırlayıcı basamağını kontrol eden CPT1- $\alpha$ 'yı doğrudan azalttığı yönündeki literatür bilgisini desteklemektedir.

Yine çalışmamızda araştırdığımız noktalardan biriside egzersiz ile miRNA'ların değişip değişmeyeceğini gözlemlemektir. Yaptığımız literatür taramasında, Radom-Aizik ve ark. (2010), 19-30 yaş aralığının da 12 sağlıklı erkek katılımcı ile yaptıkları çalışmalarında dolaşımdaki nötrofillerde miRNA ekspresyonunun kısa süreli egzersizden etkilenip etkilenmeyeceğini araştırmışlardır. Bu araştırma kapsamında  $VO_2$ max seviyesinin %76 olduğu, 10'ar dakikalık süren arada 1 dakika dinlenme süresinin olduğu 2 döngülü bir kısa egzersiz programı dizayn etmişlerdir. RT-PCR yöntemi kullanarak yaptıkları analiz sonucunda miRNA'ların (miR-17, miR-18a, miR-20a, miR-223) egzersize yanıt olarak

nötrofil homeostazında olumlu rol oynadıkları sonucuna ulaşmışlardır. Bu çalışmada bakılan miRNA' lar bizim çalışmamızda bakılmamıştır, ama egzersiz ile miRNA' ların değişebileceği gösterilmiştir.

Nielsen ve ark. (2014), gerçekleştirdikleri çalışmalarında egzersiz öncesi, sonrası ve istirahat sürecinde 32 sağlıklı ve profesyonel sporcunun kan örneklerini almışlar ve RT-PCR yöntemi kullanılarak 742 miRNA taraması yapmışlardır. Mevcut çalışmada akut egzersiz seansından hemen sonra 0 saatte (miR-106a, miR-221, miR-30b, miR-151-5p, let-7i, miR-146, miR-652 ve miR-151-3p), egzersizden 1 saat sonra (miR-338-3p, miR-330-3p, miR-223, miR 139-5p ve miR-143) ve 3 saat sonra (miR-1) değişim gösteren miRNAları tespit etmişlerdir. Bununla beraber kronik dayanıklılık antrenmana yanıt olarak, yedi miRNA'nın (miR-342-3p, let-7d, miR-766, miR-25, miR-148a, miR-185 ve miR-21) plazmadaki seviyelerinin azalmış olduğunu bildirmişlerdir. Her iki egzersiz sonrasında miR-103 ve miR-107 seviyelerinin yükseldiğini bulmuşlardır. Sonuç olarak, akut egzersiz ve kronik dayanıklılık eğitimi, muhtemelen her uyarının kendine özgü mekanizmaları yoluyla, insan plazmasının miRNA ifadesini güçlü bir şekilde değiştirdiği kanısına varmışlardır.

Calvo ve ark. (2015), farklı yoğunluktaki egzersizlerin dolaşımında yer alan inflamatuvar miRNA'lar üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında 18 gönüllü erkek katılımcıya üç ayrı yarış organize etmişlerdir. Bu yarışta koşu yolu ilki 10 km, ikinci 21,1 km, üçüncü ise 42 km olarak ayarlanmıştır. Egzersiz türü aynı olsa da süre, yoğunluk ve enerji kullanımı açısından çalışmalarında bazı miRNA'ların değiştiğini göstermişlerdir. Bu kapsamda, 10 km'lik yarıştan hemen sonra miR-150-5p'de ve inflamasyonla ilişkilendirilmiş bazı miRNA'ların (let-7d-3p, let-7f-2-3p, miR-125b-5p, miR-132-3p, miR-143-3p, miR-148a-3p, miR-223-3p, miR-223-5p, miR-29a-3p, miR-34a-5p, miR-424-3p ve miR-424-5p) seviyelerinde bir artış gözlemlenmiştir. Bu miRNA'ların 24 saatin sonunda bazal seviyelere tekrar döndüğü de ayrıyeten bildirilmiştir. Çalışma sonucunda akut aerobik egzersizin inflamasyonla ilişkilendirilmiş bazı miRNA'ların yanıtını değiştirdiği ve bu cevabın egzersiz dozu ile farklılık arz edebileceğini bildirmişlerdir. Bizde çalışmamızda lipit metabolizması ile ilişkili olan plazma miR-370'in egzersiz sonrası düzeylerinin azalmış olduğunu bulduk. Yukarıdaki araştırmacıların bulguları ve kendi bulgularımız ile birlikte egzersizin miRNA'ların düzeylerini değiştirebileceğini ifade edebiliriz.

Bununla beraber bazı araştırmacıların çalışmalarında egzersiz ile bazı miRNA'ların çelişkili değişimlerinin olduğu ifade edilmiştir. Örneğin; Horak ve ark. (2018), yapmış oldukları çalışmalarında, 8 hafta süren patlayıcı kuvvet antrenmanına (EXPL), hipertrofik güç

antrenmanına (HYP) ve yüksek yoğunluklu interval antrenmanına (HIIT), yanıt olarak seçilmiş 4 adet miRNA seviyelerini (miR-16, miR-21, miR-93 ve miR-222) karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Çalışma kapsamında 22-26 yaş arası 30 erkek atletin başlangıçta, 5.haftada ve 8.haftada kan plazma örnekleri alınmıştır. Egzersiz grupları arasında başlangıçta miRNA seviyelerinde hiçbir fark görülemedi. Yüksek yoğunluklu interval antrenmanında, glukoz transportu ile ilişkili olan miR-21 ve miR-93 seviyeleri 5 haftalık egzersizden sonra artmış ve 8 haftalık egzersizden sonra başlangıç seviyesinin altına inmiş, anjiyogenez ve inflamasyonda etken olduğu düşünülen miR-16 ise yavaş yavaş azalmıştır. Patlayıcı kuvvet antrenmanında, 5 haftalık egzersizden sonra miR-222 seviyesinde bir düşüş gözlemlenmiş, daha sonra da programının sonuna kadar stabil kaldığı bildirilmiştir. miR-16 seviyesinde ise kademeli bir düşüş gözlemlenmiştir. Hipertrofik güç antrenmanında, 5 haftalık bir egzersiz sonunda miR-93, miR-16 ve miR-222'de genel bir artış ve egzersiz programının tamamlanmasından sonra başlangıç miRNA seviyesinin altına düştüğünü gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Bu çalışma miR-16, miR-21, miR-222 ve miR-93'ün patlayıcı güç, hipertrofik güç antrenmanı ve yüksek yoğunluklu interval antrenmanı sırasında arttığını sonrasında azaldığını göstermektedir. Sonuçların bu derece farklı çıkması ve yorumlamada sorun yaşayan araştırmacılar, bunun nedeni olarak çalışmaya katılanların aktif sporcular olduğu ve çalışmaya fiziksel uygunlukları açısından bireysel farklılık gösterebilmeleri sayılabilmektedir. Ayrıca, 8 haftalık sürenin, gruplar arasında ölçülebilir farklılıklar oluşturmak için çok kısa olabileceği de bildirilmiştir.

Safdar ve ark. (2009), gerçekleştirdikleri çalışmada C57BI/6J tipi fareleri sedanter (n=7) ve dayanıklılık egzersiz (n=7) grubu olarak gruplandırmışlardır. Bu fare modellerinin kuadriseps femoris kasında, mitokondriyal biyogenezde, lipid metabolizmasında ve iskelet kas metabolizmasında aktif rol oynadığı düşünülen 5 miRNA'yı ( miR-181, miR-1, miR-133, miR-23, miR-107) araştırmışlardır. Egzersiz grubu sedanter ile karşılaştırıldığında miR-181, miR-1 ve miR-107'nin ifadesinde sırasıyla % 37, % 40 ve % 56 oranında artma görülmüştür. Ayrıca miR-23 ekspresyonunun yine aynı gruplar arasında % 84 oranında azaldığını belirtmişlerdir. miR-133 ise herhangi bir değişikliğe uğramadığını belirtmişlerdir. Çalışmanın sonucunda dayanıklılık egzersizinin iskelet kası gen ekspresyonunu düzenlediği ve miRNA'ların egzersiz ile değişebileceğini göstermişlerdir.

Çalışmamızda plazma miR-33 düzeylerinin egzersiz sonrası grupta arttığını, serum LDL ile de pozitif korelasyonu olduğunu bulduk. Yapılan çalışmaların çoğu fare modellerinde gerçekleştirilmiş olup miR-33 inhibisyonu ile ABCA-1 arasında negatif korelasyonu olduğu belirtilmiştir. miR-33 ile alakalı insan üzerinde yapılan çalışmaların olmaması ve var olan

çalışmaların çelişkili sonuçlar içermesi ile bu konunun aydınlığa kavuşması için daha çok çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz (Jan ve ark., 2015).

Sonuç olarak çalışmamızda lipitle ilişkilendirilmiş miRNA'ların bazı lipit parametreleri ile korelasyonu literatürle uyumlu olarak ortaya konmuştur. Bununla beraber çalışmamız da egzersiz ile miRNA'ların (miR-33, miR-335, miR-370 ve miR-758 ) değişebileceğini göstermiş olmaktadır. Sedanter yaşamın miRNA düzeyinde düzenlenme ile negatif bir lipit paneli sergilemesi bu tür yaşam stilini benimseyenler de lipit paneli bozukluğu ile ilişkili, hastalıklar için potansiyel risk taşıdıklarını öngör dürmektedir. Bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu kanısındayız.

## KAYNAKLAR

- Akbulut E. Sedanter bayanlarda aerobik egzersiz programının kan lipitleri ve vücut kompozisyonu üzerine etkileri. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Antrenörlük Eğitimi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2011 (Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Hasan Akkuş).
- Atabek HÇ. Şiddeti giderek artan direnç egzersizin oksidatif stres üzerine etkisinin direnç egzersiz antrenmanı yapan ve yapmayan bireylerde incelenmesi. Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Eskişehir, 2012 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Güven Sevil).
- Bağcı Ö. mikroRNA'lar (miRNA) ve Kanser. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg.* 2014; 40(2): 105-9.
- Benatti RO, Melo AM, Borges FO, Ignacio-Souza LM, Simino LA, Milanski M, Velloso LA, Torsoni MA, Torsoni AS. Maternal high-fat diet consumption modulates hepatic lipid metabolism and microRNA-122 (miR-122) and microRNA-370 (miR-370) expression in offspring. *British Journal of Nutr.* 2014; 111(12): 2112-22.
- Can U, Büyükinan M, Yerlikaya FH. The investigation of circulating microRNAs associated with lipid metabolism in childhood obesity. *Pediatric Obesity.* 2015; 11(3): 228–34.
- Camkurt MA. Major depresyon Tedavisinde ve Etiyolojisinde Yeni Umutlar, Yeni Ufuklar: MikroRNA'lar. *Journal of Mood Disorders.* 2015; 5(1): 23-30.
- Çelik DA, Koşar PA, Özçelik N. MikroRNA'lar ve kanser ile ilişkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg.* 2013; 20(3): 121-27.
- Çiçek G. Sedanter kadınlarda farklı egzersiz türlerinin ekokardiyografi ve bazı kan parametreleri üzerine etkisinin araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, 2014 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Osman İmamoğlu).
- De Gonzalo-Calvo D, Davalos A, Montero A, Garcia-Gonzalez A, Tyshkovska I, Gonzalez-Medine A, Soares SM, Martinez-Cambor P, Casas-Agustench P, Rabadan M, Diaz-Martinez AE, Ubada N, Iglesias-Gutierrez E. Circulating inflammatory miRNA signature in response to different doses of aerobic exercise. *J Appl Physiol.* 2015; 119(2): 124–34.
- Demirci N. Egzersiz esnasında enerji tüketiminde leptin mi karnitin mi daha etkilidir. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Derg.* 2013; 2 (3): 122-29.
- Demiriz M, Erdemir İ, Kayhan RF. Farklı dinlenme aralıklarında yapılan anaerobik interval antrenmanın, aerobik kapasite, anaerobik eşik ve kan parametreleri üzerine etkileri. *Uluslararası Spor, Egzersiz ve Antrenman Bilimi Derg.* 2015; Cilt 1: 1-8.
- Egan B, Zierath JR. Exercise Metabolism and the Molecular Regulation of Skeletal Muscle Adaptation. *Cell Metab.* 2013; 17(2): 162-84.
- Ekelund U, Hildebrand M, Collings PJ. Physical activity, sedentary time and adiposity during the first two decades of life. *Proc Nutr Soc.* 2014; 73(2): 319-29.
- Fernandez-Hernando C, Suarez Y, Rayner KJ, Moore KJ. MicroRNAs in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol.* 2011; 22(2): 86–92.
- Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Spor Med.* 2006; 36(4): 327-58.
- Flowers E, Froelicher ES, Aouizerat BE. MicroRNA Regulation of Lipid Metabolism. *Metabolism.* 2013; 62(1): 12–20.
- Gökgül BŞ. Kadınlarda sekiz haftalık döngüsel egzersiz ve plates egzersizlerinin bazı fiziksel özelliklere ve kan yağlarına etkisi. Niğde Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Niğde, 2013 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serkan Hazar).
- Güzelgül F, ve Aksoy K. Bir Gen İfade Düzenleyicisi miRNA. *Arşiv Kaynak Tarama Derg.* 2015; 24(4): 472-493.
- Hargreaves M. Skeletal muscle metabolism during exercise in humans. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2000; 27(3): 225–28.
- Harris MA, Hammond KM, Fell JM, Morton JP. Regulation of muscle glycogen metabolism during exercise: implications for endurance performance and training adaptations. *Nutrients.* 2018; 10(3): 298.
- Hitić M, Kurar E, Güzeloğlu A. MikroRNA Biyogenezi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimler Derg.* 2015; 10(3): 211-18.
- Horak M, Zlamal F, Iliev R, Kucera J, Cacek J, Svobodova L, Hlavonova Z, Kalina T, Slaby O, Vasku JB. Exercise-induced circulating microRNA changes in athletes in various training scenarios. *PLoS One.* 2018; 13(1): e0191060.

- Iliopoulos D, Drosatos K, Hiyama Y, Golberg I.J, Zannis VI. MicroRNA-370 controls the expression of MicroRNA-122 and Cpt1 $\alpha$  and affects lipid metabolism. *Journal of Lipid Research* Volume. 2010; 51(6): 1513-23.
- Jan A, Karasinska JM, Kang MH, De-Haan W, Ruddle P, Kaur A, Connolly C, Leavitt BR, Sorensen PH, Hayden MR. Direct intracerebral delivery of a miR-33 antisense oligonucleotide into mouse brain increases brain ABCA1 expression. *Neurosci Lett*. 2015; 598: 66-72
- Kan Q, Su Y, Yang H. MicroRNA-335 is downregulated in papillary thyroid cancer and suppresses cancer cell growth, migration and invasion by directly targeting ZEB2. *Oncology Lett*. 2017; 14(6): 7622-28.
- Karagün BŞ, Antmen B, Şaşmaz İ, Kılınç Y. Mikro RNA ve Kanser. *Türk Klinik Biyokimya Derg*. 2014; 12(1): 45-56.
- Karahasanoğlu A. Akut ve düzenli egzersizin biyokimyasal parametreler üzerine etkisi. Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Bitirme Ödevi, Kayseri 2011 ( Danışman: Yrd. Doç. Dr. Behzat Çimen).
- Karatan OV. Yetişkin bireylerde aerobik egzersiz programının kan lipitleri ve vücut kompozisyonu üzerine etkileri. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Rekreasyon Anabilim Dalı, Muğla, 2016 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülsüm Baştuğ).
- Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, Banham AH, Pezella F, Boulwood J, Wainscoat JS, Hatton CS, Harris AL. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2008; 141(5): 672-5.
- Li BR, Xia LQ, Liu J, Liao LL, Zhang Y, Dang M, Zhong HJ, Feng TT, He PP, Ouyang XP. miR-758 5p regulates cholesterol uptake via targeting the CD36 3'UTR. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 494(1-2): 384-9.
- Mandolini C, Santovito D, Marcantonio P, Buttitta F, Bucci M, Ucchina S, Mezetti A, Cipollone PF. Identification of MicroRNAs 758 and 33b as potential modulators of ABCA1 expression in human atherosclerotic plaques. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2015; 25(2): 202-9.
- Moore KJ, Rayner KJ, Suarez Y, Fernandez-Hernando C. The Role of MicroRNAs in Cholesterol Efflux and Hepatic Lipid Metabolism. *Annu Rev Nutr*. 2011; 31: 49-63.
- Mortola JP, Marghescu D, Johstone RS. Respiratory sinus arrhythmia in the immediate post-exercise period: correlation with breathing-specific heart rate. *Eur J App Physiol*. 2018; 118(7): 1397-406.
- Mul JD, Stanford KI, Hirshman MF, Goodyear LJ. Exercise and Regulation of Carbohydrate Metabolism. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci*. 2015; 135: 17-37.
- Nakanishi N, Nakagawa Y, Tokushige N, Aoki N, Matsuzaka T, Ishii K, Yahagi N, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Suzuki H, Urayama O, Yamada N, Shimano H. The up-regulation of microRNA-335 is associated with lipid metabolism in liver and white adipose tissue of genetically obese mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009; 385(4): 492-6.
- Nielsen S, Akerström T, Rinnov A, Yfanti C, Scheele C, Pedersen BK, Laye MJ. The miRNA Plasma Signature in Response to Acute Aerobic Exercise and Endurance Training. *PLoS One*. 2014; 9(2): e87308.
- Pilegaard H, Keller C, Steensberg A, Helge JW, Pedersen BK, Saltin B, Neufer PD. Influence of pre-exercise muscle glycogen content on exercise-induced transcriptional regulation of metabolic genes. *J Physiol*. 2002; 541(1): 261-71.
- Price NL, Singh AK, Rotllan N, Shulman GI, Cabo R, Fernandez-Hernando C. Genetic Ablation of miR-33 Increases Food Intake, Enhances Adipose Tissue Expansion, and Promotes Obesity and Insulin Resistance. *Cell Reports*. 2018; 22(8): 2133-45.
- Radom-Aizik RS, Zaldivar FJ, Oliver, Galassetti P, Cooper DM. Evidence for microRNA involvement in exercise-associated neutrophil gene expression changes. *J Appl Physiol*. 2010; 109(1): 252-61.
- Ramirez CM, Davalos A, Goedeke L, Salerno AG, Warriar N, Salinas DC, Suarez Y, Rayner KJ, Suarez Y, Davalos A, Parathath S, Fitzgerald ML, Tamahiro N, Fisher EA, Moore KJ, Fernandez-Hernando C. MicroRNA-758 regulates cholesterol efflux through posttranscriptional repression of ATP binding cassette transporter A1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31(11): 2707-14.
- Rayner KJ, Moore KJ. MicroRNA control of high-density lipoprotein metabolism and function. *Circ Res*. 2014; 114(1): 183-92.
- Safdar A, Abadi A, Akhtar M, Hettinga BP, Tarnopolsky MA. miRNA in the regulation of skeletal muscle adaptation to acute endurance exercise in C57Bl/6J male mice. *PLoS One* 2009; 4(5): e5610.
- Saydam F, Değirmeci İ, Güneş HV. MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Tıp Dergisi*. 2011; 38(1): 113-20.
- Scott C. Misconceptions about aerobic and anaerobic energy expenditure. *Journal of the International Society of Sports Nutr*. 2005; 2: 32-37.
- Shete AN, Bute SS, Deshmukh PR. A study of VO<sub>2</sub>max and body fat percent age female athletes. *Journal of Clinical and Diagnostic Res*. 2014; 8(12): 01-3.

Singh AK, Aryal B, Zhang X, Fan Y, Price NL, Suarez Y, Fernandez-Hernando C. Posttranscriptional regulation of lipid metabolism by non-coding RNAs and RNA binding proteins. *Seminars in Cell and Developmental Bio.* 2018; 81: 129-40.

Spriet LL. New insights into the interaction of carbohydrate and fat metabolism during exercise. *Sports Med.* 2014; 44(1): 87-96

Thanikachalam PV, Ramamurthy S, Wong ZW, Koo BJ, Wong JY, Abdullah MF, Chin YH, Chia CH, Tan JY, Neo WT, Tan BS, Khan WF, Kesharwani P. Current attempts to implement microRNA- based diagnostics and therapy in cardiovascular and metabolic disease: a promising future. *Drug Discov Today.* 2018; 23(3): 460-80.

Tüzün S, Sargın M. Biochemistry of exercise. *Türkiye Klinikleri J Physi other Rehabil-Special Topics.* 2016; 2(1).

Yang Z, Cappello T, Wang L. Emerging role of microRNAs in lipid metabolism. *Acta Pharm Sin B.* 2015; 5(2): 145-50.

Yıldız SA. What is the meaning of aerobic and anaerobic capacity? *Solunum Dergisi.* 2012; 14: 1-8.

Yılmaz C. Sedanter ve amatör sporcu sağlıklı genç erişkinlerde tek seanslık orta ve şiddetli aerobik egzersize kardiyovasküler yanıtların karşılaştırılması. Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Spor Fizyoterapisi Programı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2017 (Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Zuhâl Didem Takinacı).

Zhang X, Price NL, Fernandez-Hernando CF. Non-codingRNAs in Lipid Metabolism. *Vascul Pharmacol.* 2018; 1537-891.

Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. MicroRNAs as Oncogenes and Tumor Suppressors. *Developmental Biol.* 2007; 302(1): 1-12.

Zhu L, Chen L, Shi CM, Xu GF, Xu LL, Zhu LL, Guo XR, Ni Y, Cui Y, Ji C. MiR-335, an adipogenesis-related microRNA, is involved in adipose tissue inflammation. *Cell Biochem Biophys.* 2014; 68(2): 283-90.

Zimmer P, Bloch W. Physical exercise and epigenetic adaptations of the cardiovascular system. *Herz.* 2015; 40(3): 353-60.