



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DUCHENNE MUSKÜLER DİSTROFİLİ MDX FARELERDE  
YÜZME EGZERSİZİ, DÜŞÜK DERECELİ LAZER VEYA  
KOMBİNASYONLARININ DEJENERASYON, İNFLAMASYON,  
OKSİDATİF STRES VE UTROFİN PROTEİNİ İLE İRİSİN  
PEPTİTİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ**

SILASU ARIKAN  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Nuray Alaca

İSTANBUL-2021





ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DUCHENNE MUSKÜLER DİSTROFİLİ MDX FARELERDE  
YÜZME EGZERSİZİ, DÜŞÜK DERECELİ LAZER VEYA  
KOMBİNASYONLARININ DEJENERASYON, İNFLAMASYON,  
OKSİDATİF STRES VE UTROFİN PROTEİNİ İLE İRİSİN  
PEPTİTİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ**

SILASU ARIKAN  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Nuray Alaca

İSTANBUL-2021

## BEYAN

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

17/11/2021

Sılasu Arıkan

İmza

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans boyunca her konuda bana destek veren ayrıca tezimin her aşamasında yardımcı olarak ilerlememi sağlayan, yeni deneysel yöntemleri öğreten, değerli danışman hocam Doç. Dr. Nuray Alaca'ya,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaşan bölüm başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Güldal Süyen'e ve değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ergen, Dr. Hande Yapışlar ve Doç. Dr. Meltem Kolgazi'ye,

Histolojik analizdeki katkıları için değerli hocalarım Prof. Dr. Serap Arbak ve Dr. Öğr. Üyesi Merve Açıklak Elmas'a,

Tüm eğitim öğretim hayatım boyunca bilgisini, emeğini, tecrübesini esirgemeyen değerli rahmetli anneannem öğretmen Gülsen Berçin, dedem öğretmen Mevlüt Berçin'e ve yetişmemde çok büyük emekleri olan, her zaman, her konuda yanımda olan ve beni destekleyen anneme ve babama

Eğitimim boyunca her zaman bilimsel düşünceyi ve yöntemi anlamamı sağlayan bilgi ve birikimleriyle her zaman yanımda olan rahmetli öğretmenim Dr. Fırat Bayır'a

Son olarak yanımda olan bütün arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Bu tez, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 2020/03/06 numaralı proje ile desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER .....	v
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
RESİMLER LİSTESİ.....	xi
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ÖZET.....	1
ABSTRACT .....	2
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2 GENEL BİLGİLER .....	5
2.1 Distrofinin Gen Yapısı ve Fonksiyonu.....	5
2.1.1 Utrofin proteini .....	8
2.1.2 İrisin peptidi.....	10
2.1.3 Musküler distofiler .....	12
2.1.3.1 Duchenne musküler distrofi .....	12
2.1.4 Duchenne musküler distrofil hayvan modelleri .....	17
2.1.5 DMD'de tedavi yaklaşımları.....	19
2.1.6 DMD'de fizyoterapi ve rehabilitasyon.....	21
2.1.6.1 Lazer tedavisi.....	21
2.1.6.2 Duchenne tedavisinde egzersiz .....	23
3 GEREÇ VE YÖNTEM .....	28
3.1 Hayvanlar .....	28
3.1.1 Deney grupları .....	28
3.1.2 Egzersiz eğitimi .....	29
3.1.2.1 LLLT uygulanması.....	31
3.2 Kas Gücü Testleri .....	31
3.2.1 Kan ve doku örneklerinin alınması.....	33
3.3 Biyokimyasal Ölçümler .....	33
3.3.1 Kreatin kinaz (KK), utrofin ve irisin ölçümleri.....	33
3.3.2 Total oksidan kapasite (TOS) ve total antioksidan kapasite (TAS) ölçümleri.....	34
3.4 Histolojik Analizler.....	34
3.5 İstatistiksel Analiz.....	35

<b>4 BULGULAR .....</b>	<b>36</b>
<b>4.1 Kas Gücü Testleri .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2 Biyokimyasal Ölçümler .....</b>	<b>38</b>
<b>4.3 Kas Utrofin Seviyeleri .....</b>	<b>43</b>
<b>4.4 İrisin Seviyeleri .....</b>	<b>44</b>
<b>4.5 Histopatolojik Değerlendirme .....</b>	<b>46</b>
<b>5 TARTIŞMA.....</b>	<b>55</b>
<b>6 SONUÇ.....</b>	<b>68</b>
<b>7 KAYNAKLAR.....</b>	<b>69</b>
<b>8 EKLER.....</b>	<b>86</b>
<b>EK 1. Etik Kurul Onam Formu.....</b>	<b>86</b>
<b>9 ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>87</b>

## KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

<b>ABTS</b>	Azino-bis (3 etilbenzotiyazol ne-6-sülfonik asit
<b>ACE</b>	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
<b>ACU-DEHAM</b>	Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi
<b>AMP</b>	Aktive olan protein
<b>ANOVA</b>	Yönlü varyans analizi
<b>AONs</b>	Antisense oligonükleoidler
<b>ASC</b>	Asetil kolin
<b>ATP</b>	Adenozin trifosfat
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Kalsiyum
<b>CCO</b>	Sitokrom c oksidazı
<b>COX-2</b>	Prostaglandin endoperoksit sentaz 2
<b>CRISPR</b>	Düzenli aralıklarla bölünmüş palindromik tekrar kümeleri
<b>DGK</b>	Distrofin glikoprotein kompleksi
<b>DMD</b>	Duchenne musküler distrofi
<b>ECM</b>	Ekstraselüler matriks
<b>Eg</b>	Egzersiz
<b>EgL</b>	Egzersiz + lazer
<b>ELISA</b>	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
<b>ERK 1/2</b>	Ekstraselüler sinyal regüle edici kinazlar
<b>FDNC5</b>	Fibronektin tip III domain 5
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen peroksit
<b>HIF1</b>	Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1
<b>IGF1</b>	İnsulin büyüme faktörü-1
<b>IL-10</b>	Interlokin 10
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Interlokin 1 Beta
<b>IL-6</b>	Interlokin 6
<b>iNOS</b>	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
<b>JNK1</b>	Jun N-terminal kinazlar
<b>KK</b>	Kreatin kinaz
<b>LDH</b>	Laktat dehidrogenaz

<b>LEDT</b>	Işık yayan diyot terapisi
<b>LLLT</b>	Duşuk seviye lazer tedavisi
<b>MARK2</b>	Serin-treonin protein kinaz 2
<b>MD</b>	Muskuler distrofiler
<b>MRNA</b>	Mesajcı ribonukleik asit
<b>NF-κB</b>	Nukleer faktör kappa b
<b>NOS</b>	Nikrik oksit sentaz
<b>NO-CCO</b>	Nitrik oksit-sitokrom c oksidaz
<b>OSI</b>	Oksidatif stres indeksi
<b>PGC1α</b>	Peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptör-gama koaktivatörü
<b>PGE2</b>	Prostaglandin E2
<b>PPAR</b>	Peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör
<b>QSC</b>	Sessiz uydu hücreleri
<b>RNA</b>	Ribonukleik asit
<b>ROS</b>	Reaktif oksijen sistemleri
<b>SK</b>	Sedanter control
<b>SL</b>	Sedanter lazer
<b>TAS</b>	Total antioksidan kapasite
<b>TGFβ</b>	Dönüştürücü büyüme faktörü beta
<b>TNF α</b>	Tümör nekroz faktör alfa
<b>TOS</b>	Total oksidan kapasite
<b>VO2MAX</b>	Maksimum oksijen hacmi

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Duchenne geni. ....	5
Şekil 2. Distrofin ve hücre membranının ilişkisi. ....	6
Şekil 3. Distrofin-glikoprotein kompleksi. ....	7
Şekil 4. DMD'nin ilerleme süreci. ....	14
Şekil 5. DMD klinik fenotipi. ....	16
Şekil 6. DMD'de egzersizin hayvan ve insan çalışmalarındaki etkisi. ....	27
Şekil 7. Çalışma protokolu. ....	29
Şekil 8. İki ekstremiteli asma testi. ....	37
Şekil 9. Dört ekstremiteli asma testi. ....	37
Şekil 10. Rotarod testi. ....	38
Şekil 11. Grupların serum kreatin kinaz düzeyleri. ....	39
Şekil 12. Grupların serum TAS düzeyleri. ....	40
Şekil 13. Grupların kas TAS düzeyleri. ....	40
Şekil 14. Grupların serum TOS düzeyleri. ....	41
Şekil 15. Grupların kas TOS düzeyleri. ....	41
Şekil 16. Grupların serum oksidatif stres indeksi düzeyleri. ....	42
Şekil 17. Grupların serum oksidatif stres indeksi düzeyleri. ....	43
Şekil 18. Grupların kas utrofin düzeyleri. ....	44
Şekil 19. Grupların serum irisin düzeyleri. ....	45
Şekil 20. Grupların kas irisin düzeyleri. ....	46
Şekil 21. Deney gruplarının gastroknemius kası histopatolojik skor analiz grafiği. .	47
Şekil 22. Gastroknemius kası histopatolojik inceleme için kullanılan boyaların gösterimi. ....	48

Şekil 23. Gastroknemius kası çap ölçümleri. ....	49
Şekil 24. Deney gruplarının diyafram dokusu histopatolojik skor analiz grafiği. ....	50
Şekil 25. Diyafram kası histopatolojik inceleme için kullanılan boyaların gösterimi.51	
Şekil 26. Deney gruplarının kalp dokusu histopatolojik skor analiz grafiği. ....	52
Şekil 27. Kalp kası histopatolojik inceleme için kullanılan boyaların gösterimi. ....	53
Şekil 28. Kalp kası kardiyomiyosit çapı ölçümleri. ....	54



## RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Mdx fare modeli.....	18
Resim 2. Yüzme egzersizi uygulanan mdx fareler.....	30
Resim 3. LLLT uygulanan mdx fareler. ....	31
Resim 4. İkili asma testi. ....	32
Resim 5. Dörtlü asma testi. ....	32
Resim 6. Rotarod testi.....	33



## TABLolar LİSTESİ

- Tablo 1. Grupların kas testlerinin ortalamaları ve standart deviasyonları. .... 36
- Tablo 2. Grupların biyokimyasal ölçümlerin ortalamaları ve standart deviasyonları.39
- Tablo 3. Grupların biyokimyasal ölçümlerin ortalamaları ve standart deviasyonları.45



## ÖZET

### **Duchenne Musküler Distrofili Mdx Farelerde Yüzme Egzersizi, Düşük Dereceli Lazer veya Kombinasyonlarının Dejenerasyon, İnflamasyon, Oksidatif Stres ve Utrofin Proteini ile İrisin Peptiti Üzerine Olan Etkisi**

**Amaç:** Çalışmada; mdx fare modelinde faydalı etkileri gösterilen yüzme egzersizlerinin olası yan etkilerini azaltmak veya faydasını artırmak için düşük dereceli lazer tedavisi (LLLT) ile birlikte uygulanmasının kas dejenerasyonu, oksidatif stres ve utrofin proteini ile irisin peptiti üzerine olan etkisini araştırmak amaçlanmaktadır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamızda 20 adet mdx fare dört gruba ayrılmıştır. Gruplar; sedanter ve plasebo LLLT (SK), sedanter ve LLLT (SL), otuz dakika yüzme egzersizi (Eg) ve otuz dakika yüzme egzersizi ve LLLT (EgL) olarak adlandırılmıştır. Sekiz haftalık yüzme egzersizi sonrasında kas testleri, biyokimyasal olarak; total oksidan kapasite, total antioksidan kapasite, utrofin ve irisin seviyeleri ölçülmüştür. Işık mikroskopunda iskelet, diyafram ve kalp kası histopatolojik skor, iskelet kası ile kalp kası miyosit çapları belirlenmiştir.

**Bulgular:** Grup SL'de SK'ya göre sadece irisin seviyelerinin arttığı görülürken, egzersiz gruplarının (Eg ve EgL) her ikisinde total oksidan kapasite, oksidatif stres indeksi, kalp kası histopatolojik skorlarının azalttığı ve irisin seviyelerinin arttığı belirlendi ( $p<0,05$ ). Ayrıca, EgL grubunda ek olarak rotarod, utrofin seviyelerinde artma, kas ve diyafram kası histopatolojik skorlarında azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ).

**Tartışma:** Mdx fare modelinde yüzme egzersizinin uygulanması iskelet kasındaki irisin seviyesini artırırken oksidatif stres seviyelerini, kalp kasındaki dejenerasyonu, enflamasyonu ve kardiyopatiji azalttığı belirlendi. Egzersize ek olarak LLLT uygulandığında ise kas gücü, iskelet kası utrofin seviyeleri arttı ve iskelet ile diyafram kası dejenerasyonu ve enflamasyonunda azalma görüldü. Ayrıca, sadece LLLT uygulamasının iskelet kası irisin düzeyinde artma yaptığı saptandı. İrisin, LLLT ve egzersiz mekanizmaları üzerine daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Duchenne, mdx fare, egzersiz, düşük dereceli lazer tedavisi, irisin.

## ABSTRACT

### **The Effect of Swimming Exercise, Low-Level Lazer or Combinations on Degeneration, Inflammation, Oxidative Stress, and Utrophin Protein and Irisin Peptide in Mdx Mice with Duchenne Muscular Dystrophy**

**Purpose:** In the study; It is aimed to investigate the effects of low-level lazer therapy (LLLT) on muscle degeneration, oxidative stress, and utrophin protein and irisin peptide, in order to reduce the possible side effects or increase the benefit of swimming exercises, which have shown beneficial effects in the mdx mouse model.

**Materials and Methods:** In our study, 20 mdx mice were divided into four groups. Groups; sedentary and placebo LLLT (SK), sedentary and LLLT (SL), thirty-minute swimming exercise (Eg), and thirty-minute swimming exercise and LLLT (EgL). After eight weeks of swimming exercise, muscle tests, biochemically; total oxidant capacity, total antioxidant capacity, utrophin and irisin levels were measured. Skeletal, diaphragmatic and cardiac muscle histopathological scores, skeletal and cardiac muscle myocyte diameters were determined under the light microscope.

**Results:** While only irisin levels were increased in group SL compared to SK, it was determined that total oxidant capacity, oxidative stress index, heart muscle histopathological scores decreased and irisin levels increased in both exercise groups (Eg and EgL) ( $p < 0.05$ ). In addition, in the EgL group, an increase in rotarod and utrophin levels, and a decrease in muscle and diaphragm muscle histopathological scores were observed ( $p < 0.05$ ).

**Discussion:** It was determined that the application of swimming exercise in the Mdx mouse model increased the irisin level in the skeletal muscle, while reducing the oxidative stress levels, degeneration in the heart muscle, inflammation and cardiopathy. When LLLT was applied in addition to exercise, muscle strength, skeletal muscle utrophin levels increased, and skeletal and diaphragmatic muscle degeneration and inflammation decreased. In addition, it was determined that only LLLT application increased the level of skeletal muscle irisin. More studies are needed on irisin, LLLT and exercise mechanisms.

**Keywords:** Duchenne, mdx mice, exercise, low-level lazer therapy, irisin.

# 1 GİRİŞ VE AMAÇ

Musküler distrofiler, iskelet kaslarındaki ilerleyici zayıflık ve harabiyetle karakterize genetik bir grup hastalığın genel adıdır ve en yaygın görüleni duchenne musküler distrofi (DMD)'dir (1). DMD, X kromozomuna bağlı olduğu için erkekleri etkiler. İnsidansının 1/3.000-1/5.000 (ortalama 1/4.000) canlı erkek doğumda bir olduğu bildirilmiştir. Türkiye'de yaklaşık 15.000 civarında (1-60 yaş arası) DMD hastasının olduğu ve yılda 140-150 kadar yeni vakanın da eklendiği tahmin edilmektedir (2). DMD, distrofin proteininin kaybıyla sonuçlanan genetik mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (3). Distrofin eksikliği, kardiyak ve iskelet kası hücrelerinde sarkolemanın distrofin-glikoprotein kompleksini bozarak instabiliteye neden olur (1). Kas dokusu fibröz ve yağ dokusuna doğru evrilir (4). Mdx fare gibi transgenik hayvan modellerinin bu hastalıkta kullanılmasıyla, potansiyel terapötik stratejilerin keşfinde ileriye doğru büyük adımlar atılmıştır. Mdx fare en yaygın kullanılan DMD fare modelidir (5).

Utrofin, distrofin geninin protein ürünü olan, otozomik olarak kodlanmış bir distrofin homologudur ve duchenne hastalığının araştırılması sırasında bulunmuştur (6). İrisin ise ilk olarak 2012'de enerji metabolizması ile ilgili birçok yolda yer alan transkripsiyon kofaktör peroksizom proliferatörü aktive edilmiş reseptör- $\gamma$  koaktivatörü la kodlayan transgenik farelerin kas hücrelerinden salgılanan bir hormon olarak tanımlanmıştır (7). İnsanlarda serum irisin seviyelerinin biceps kasının çevre ölçümü ve insulin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF1) ile pozitif ilişkisi gösterilmiştir (8). Dolayısıyla irisinin kas kütleini artırmada görevi olabileceği öngörülmüştür. Reza ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada mdx farelere irisinin intraperitoneal olarak uygulanmasının distrofik kasta; kavrama gücünü, kas ağırlığını artırdığını ve fibrotik ile nekrotik doku yüzdesini azalttığını, sarkolemmal stabiliteyi koruduğu gösterilmiştir (9). Dolayısıyla DMD tedavisinde irisinin bir rolü olup olmayacağı ile ilgili bir soru işareti oluşturmuştur. Egzersiz sırasında serum irisin seviyelerinin arttığı bilinirken (10,8), mdx farelere egzersiz yapıldığında irisinin nasıl değiştiği konusunda literatürde henüz bir bilgi bulunmamaktadır.

DMD'li çocukların tedavisinde egzersiz uygulamaları önemli bir yer tutar. Sağlıklı insanlarda egzersizin faydaları bilinse de, musküler distrofi bireylerde tedavi edici etkisinin olup olmadığı ve kas dokusuna zarar verip vermediği halen araştırılmaktadır (4). Düzenli fiziksel egzersiz kas protein sentezini ve mitokondriyal biyogenezi uyarır (11). Bu nedenle egzersiz, kas gücünü korumak ve kontraktürleri önlemek için DMD tedavisi olarak önerilmektedir (12,13). Ancak bu öneri tümüyle kabul edilmemiştir, çünkü egzersizin distrofik kaslara zarar verebileceği de bildirilmektedir (14). Özellikle düşük-orta şiddetli aerobik egzersizlerin yararlı olabileceği literatürde bildirilmektedir (1,3,4,15,16). Yine de DMD'li çocuklarda egzersizin tipi, frekansı, şiddeti ve süresi ile ilgili bilgiler yetersizdir (4,14).

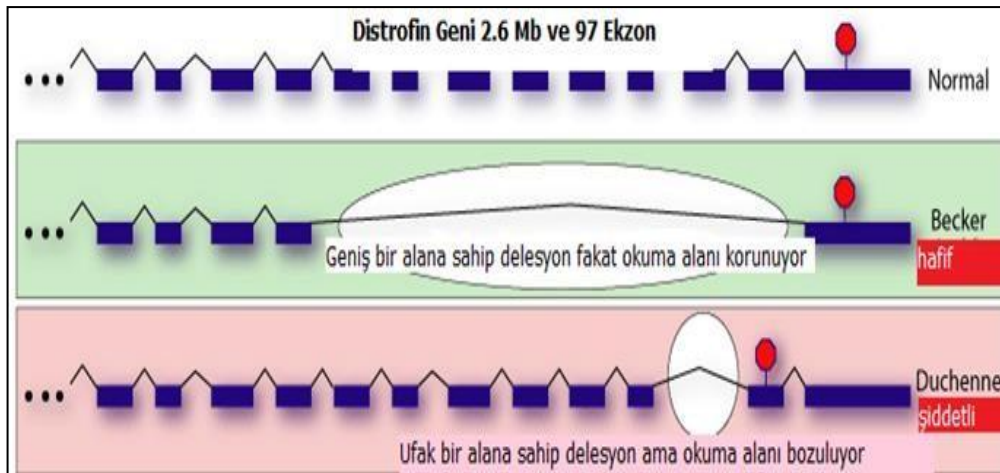
LAZER terimi, Uyarılmış Radyasyon Emisyonu ile Işık Amplifikasyonu anlamına gelir. Düşük seviye lazer tedavisi (LLLT), genellikle ortalama 10 mW-500 mW çıkış aralığına sahip bir sınıf 3B lazer cihazı kullanılarak terapötik amaçlar için ışığın uygulanmasıdır. (17). LLLT'nin doku yenilenmesini desteklediğini, iltihabı azalttığını ve ağrıyı hafiflettiğini gösteren güçlü kanıtlar vardır (18,19). İskelet kası yorgunluğunu yönetmek ve iskelet kası iyileşmesini kolaylaştırmak için LLLT kullanımı ise yeni bir araştırma alanıdır. Çalışmalarda mdx fare modelinde yapılan LLLT uygulamalarının enflamatuvar belirteçleri, kreteain kinaz seviyesini ve yorgunluğu azalttığı ve rejenarasyon döngüsüne yardımcı olabileceği gösterilmiştir (20, 21, 22, 23). Bu durum LLLT'nin, DMD semptomlarının tedavisinde yeni ve umut verici bir terapötik araç olarak kullanılabileceği, egzersizin olası yan etkilerinde etkili olabileceği inancını doğurmaktadır. Fakat DMD'de düzenli egzersizin LLLT tedavisi ile kombine etkisi konusunda bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.

Bu nedenle mevcut çalışmada; mdx fare modelinde faydalı etkileri gösterilen yüzme egzersizlerinin olası yan etkilerini azaltmak veya faydasını artırmak için LLLT tedavisi ile birlikte uygulanmasının kas dejenerasyonu, oksidatif stres ve utrofin proteini ile irisin peptidi üzerine olan etkisini araştırmak amaçlanmaktadır.

## 2 GENEL BİLGİLER

### 2.1 Distrofinin Gen Yapısı ve Fonksiyonu

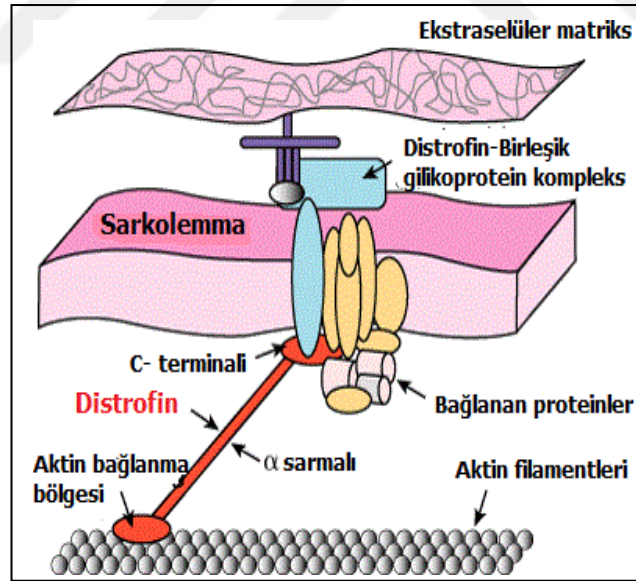
Distrofin geni insanda bu zamana kadar tanımlanan en büyük gen tipidir. Gen 14000 nükleotid içeren mRNA ve 79 ekzondan oluşur (24) ve X kromozomunun kısa kolunda, p21 bandında (Xp21) yerleşmiştir (Şekil 1) (24). Tam uzunluktaki Xp21 numaralı alana yerleşmiş distrofin proteinini kodlayan 79 ekzonun bir veya birkaçının mutasyonu sonucu duchenne musküler distrofi (DMD) fenotipine neden olan fonksiyonel bir distrofin proteininin yokluğuna sebebiyet verir (25). Genin büyük boyutlara sahip olması mutasyona maruz kalma ve oluşan hasarın büyük olma olasılığını arttırmaktadır (24). DMD hastalığı, RNA'nın açık okuma çerçevesini kesintiye uğratan delesyonlar (%65), duplikasyonlar (% 6-% 10), nokta mutasyonlar (% 10) başka yeniden düzenlemeler (26) gibi mutasyonlardan kaynaklanır. Delesyonlar ve nadiren görülen duplikasyonlar distrofin geninin her alanında oluşabilir (27). Delesyonlar en çok DMD geninin 45. ve 45-47. ekzonunda ya da 45 ve 53. ekzonları arasında gözlenmektedir (27).



Şekil 1. Duchenne geni.

Distrofin subsarkolemmal bölgede yerleşim gösterir. Sağlıklı kasta distrofin proteini, miyofiberlerin tüm uzunluğu boyunca sarkolemmanın hücre içi yüzeyinde lokalizedir. Distrofinin kastaki temel görevi, kasılmalar sırasında lifleri N-terminal

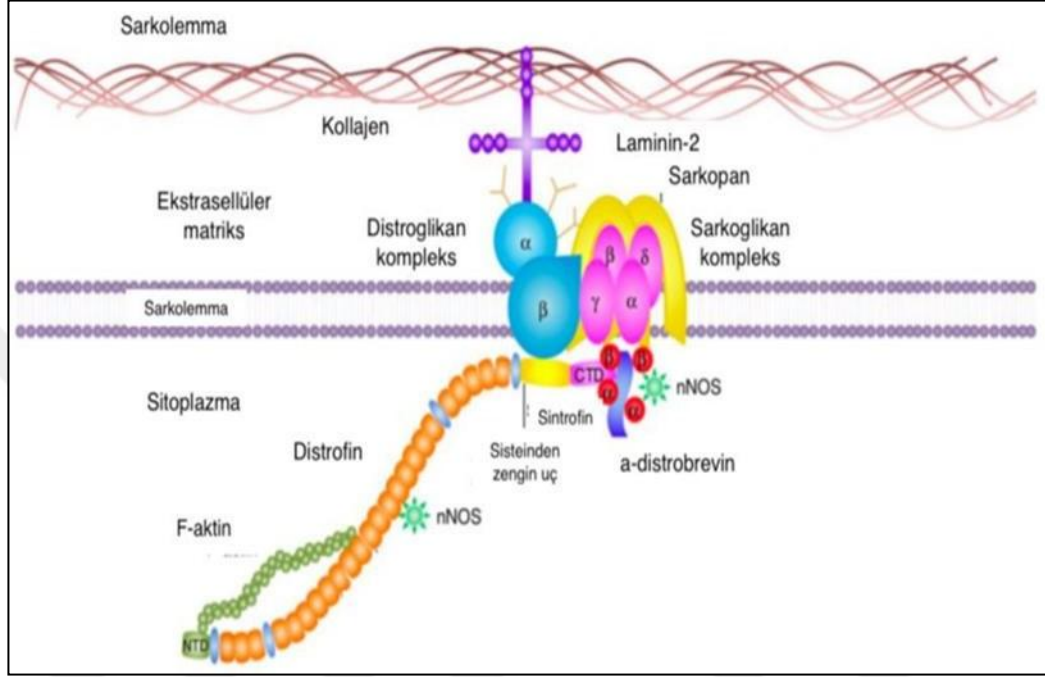
alanı ile F-aktine, C-terminal alanı ile  $\beta$ -distroglikana bağlanarak, kısıltıcı ve sabitleyici bir protein olarak hareket etmesini sağlamaktır. Ayrıca kasın hücre zarında (sarkolemma) glikoproteinlerle kompleks oluşturarak hücre membranının stabilizasyonunu sağlar (28). Distrofinin kas hücresindeki işlevlerine benzer şekilde, nöronlarda da dengeleyici bir rol oynayabileceği ve böylelikle sinapsların bütünlüğüne katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür. Distrofin sinapsların olgunlaşmasını, iyon kanallarının kalınlığı ve kapasitesini geliştirmede direkt bir rol oynar. Aynı zamanda hücresel sinyal entegrasyonu ve sinaptik plastisitenin bir modülatörü olarak işlev görür. Distrofin dendritlerde bulunur ve postsinaptik yoğunluklarda toplanma eğilimi gösterir, bu da nöronlar arası transmisyonunda olası rolünü gösterir (29-31).



**Şekil 2.** Distrofin ve hücre membranının ilişkisi.

Şekil 3'te distrofin ve Distrofin-Glikoprotein Kompleksi (DGK) görülmektedir (32). Distrofin, hücre zarındaki DGK'yı sabitleyen yapısal bir proteindir (33). Glikoprotein kompleks distrofinin sarkolemma ile bağlantısını sağlar (34,35). Bir

diğer deyişle sarkomerik kasılma tarafından üretilen kuvvetleri ekstraselüler matriks (ECM)'e ileterek plazma zarının stabilizasyonunu sağlamaktadır.



**Şekil 3.** Distrofin-glikoprotein kompleksi (6).

Distrofin sarkoglikan, distroglikan, sintrofin, sarkospan, distrobrevin, caveolin-3 ve nitrik oksit sentazla (NOS) birlikte DGK'yı oluşturur. Distrofin-glikoprotein kompleksinin görevi, tekrarlı kontraksiyonlarda kas hücre membranının bütünlüğünü sağlamaktır (36-39). Membranda bulunan sarkoglikanlar ve distroglikanlar aracılığıyla ekstraselüler matriksle bağlantı kurar. Böylece kas membranı her iki yandan hücre içine ve dışına sağlam bir şekilde (32) bağlanmış olur. Kas hücresi kasılma sırasında membran çok fazla yük altında kalarak gerildiği için bu bağlanma çok önemlidir. Çünkü membranın bütünlüğü ve bağlanması bozulursa kasın yırtılması da kolaylaşır (40). Distrofin-Glikoprotein kompleksi, ECM ve ekstraselüler aktin arasında çok güçlü bir mekanik bağlantı sağlar (37,39) ve tekrarlayan kontraksiyonlarda sarkolemmanın yapısal bütünlüğünü korur (29,41). Mekanik fonksiyonuna ek olarak DGK'nin bir transmembran sinyalleşme kompleksi olarak

hareket ederek, hücresel iletişimde önemli bir role sahip olduğu ileri sürülmüştür (42). Distrofin ve DGK'nin bileşenleri nöromusküler bileşkede bulunur ve postsinaptik matürasyonda önemli bir rol oynar (43).

Distrofin eksikliğinde, distrofin glikoprotein kompleksi ve diğer bağlantılarla birlikte sarkolemanın stabilizasyonu bozulur. Plazma zarındaki (sarkolemmada) distrofin yokluğu, distrofinle ilişkili proteinlerin hücre zarı dışına çıkmalarına, hücre şeklinde bozulmalara ve bunun sonucunda hücre zarı instabilitesine ve mekanik strese maruz kalma olasılığında artışa neden olur (35,36,44). Bunun nedeni ekstrasellüler matriksin laminin, kollajen, fibronektin ve proteoglikanlar gibi birçok önemli proteini bünyesinde barındırmasından kaynaklıdır. Distrofin glikoprotein kompleks, sarkolemma ile bu proteinler arasındaki bağlantıyı sağlar. Stabilizasyonunun bozulmasıyla kas kasılmaları sırasında plazma membranında yırtıklar oluşmaya başlar. Hücre içine kalsiyum akışı gerçekleşir ve bu hücre içi proteolitik enzimlerin aktive olmasına neden olur. Kademeli olarak şiddetlenen kas nekrozu oluşur (42).

### **2.1.1 Utrofin proteini**

İnsanda kromozom 6'da kodlanan utrofin (45), distrofinin yapısal ve işlevsel bir paraloğu olup vücudun her bölgesinde eksprese edilir. Kaslarda, utrofinin ifadesi ve konumu, farklılaşma derecesine bağlıdır. Miyotüplerde ve embriyonik liflerde utrofin, sarkolemma boyunca dağılır (45,46-50). Distrofin ve utrofin aynı proteinlerle etkileşime girer. İki protein arasındaki bu benzerlik, poliklonal antikorların ilk preparatlarının çapraz reaksiyonlar sergilediğini göstermektedir (45). Utrofin, geç embriyonik evrelerde kas zarında distrofin ile kademeli olarak yer değiştirmektedir (51). Distrofik kasta onarım sürecinin bir parçası olarak rejenere liflerin sarkomasında (52,54) utrofin seviyesi, 2-5 kat (52,53) artmaktadır. Her iki protein de yüksek düzeyde yapısal özdeşlik taşır (47,55). Utrofin, normalde distrofin ile doldurulan (56), plazma membranına bitişik aynı kortikal hücre iskelet alanını kaplar ve aynı protein tamamlayıcısını, farklı moleküler mekanizmalarla çalışan birkaç işlevle bağlar (55). Çalışmalar, utrofin ve distrofinin aynı kas lifinin sarkolemmasında birlikte ifade

edilebileceğini göstermektedir. Fakat distrofinin aksine, utrofin çoğunlukla nöromusküler bağlantılarda eksprese edilir (52). Olgun kasta, her ikisi de nöromusküler kavşaklarda bulunur, ancak farklı subjonksiyonel lokalizasyona sahiptir. Her ikisi de vasküler düz kaslarda (57) ve kardiyomiyositlerde (58) mevcuttur. Ayrıca, her iki proteinin farklı izoformları bildirilmiştir. Tam uzunlukta distrofin, dokuya özgü bir modelde ifade edilen (59,60) dört izoformdan oluşurken (59,60) utrofin tam uzunlukta iki protein olarak tanımlanmıştır (61). DMD taşıyıcılarında, hem distrofin pozitif hem de negatif miyofiberlerdeki sarkolemmada utrofin gözlenmiştir (45,47). Bu nedenle, distrofin ve utrofin tabanlı stratejilerin potansiyel olarak distrofik kaslarda kombinasyon halinde kullanılabilmesi söylenebilir. Utrofin distrofinin yerine geçebilir ve sarkolemmayı stabilize edebildiği bildirilmiştir (63).

Mdx fare modelinde, utrofin tedavisi uygulanmasının kas fonksiyonunu arttırdığı ve patolojiyi azalttığı bildirilmektedir (64). Bundan dolayı utrofin ekspresyonunu arttıran terapiler oldukça arzu edilir, ancak şu anda hiçbir klinik kullanımda değildir. Distrofin-utrofin çift mutantlarının, sadece distrofin içeren mutant farelerden (mdx fare) daha şiddetli kas güçsüzlüğü sergilediği gösterilmiştir (65, 66). Mdx farede aşırı utrofin ekspresyonu, bu farelerin herhangi bir kas distrofisi belirtisi geliştirmesini engellediği görülmüştür (67). Egzersizin utrofin ekspresyonunu artırabileceği bildirilmektedir. Sekiz haftalık aerobik egzersiz eğitiminden sonra sağlıklı yetişkin insanlarda, utrofin mRNA'sında %70 oranında artış gösterilmiştir (68). Duchenne hastalığında düşük spontane aşırı utrofin ekspresyonu, telafi edici bir rol oynayabilir ve seyri geciktirebilir, ancak ölümcül sonuçtan kaçınmak için yetersiz olabileceği düşünülmektedir. Ek olarak farelerde utrofin geninin aktivasyonu sinaptik iletimde önemli morbidite veya rahatsızlıklara neden olmadığından, utrofinin rolü belirsizliğini korumaktadır (45). Bildiğimiz kadarı ile egzersiz yapan mdx farelerde kastaki utrofin ekspresyonunun arttığını gösteren literatürde sadece bir çalışma bulunmaktadır (63).

### 2.1.2 İrisin peptidi

İrisin ilk olarak 2012 yılında Harvard Üniversitesi'nde Bostrom ve meslektaşları tarafından yayınlanmıştır. İrisin, bir transmembran protein olan fibronektin tip III domain 5 (FNDC5) den üretilen 112 amino asitten oluşan peptit yapısına sahip bir miyokin olarak tanımlanmıştır (69). FNDC5; 29-amino asit sinyal peptidi, 94-amino asit alanı ve bir C-terminalini içeren glikolize tip I membran proteinidir. FNDC5'in proteazlar aracılığıyla bölünmesi sonrası 112 aminoasitten oluşan bir yapı olarak irisin dolaşıma salınır. Sadece insana özgü değil birçok memelide bu yapı ve fonksiyon tanımlanmıştır (70). İrisin salınmasına yol açan moleküler yol kısaca şu şekilde sıralanabilir: egzersiz, peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör (PPAR) ve peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptör-gama koaktivatörü (PGC1 $\alpha$ ) ekspresyonunu artırır, bu da FNDC5 içeren fibronektin tip III alanının ekspresyonu ile sonuçlanır. FNDC5, Fndc5 geni tarafından kodlanan bir tür transmembran proteinidir ve irisin öncüsü olarak bilinir. Bu bilgiler ışığında irisinin, henüz bilinmeyen proteolitik enzimler tarafından hücre zarı seviyesinde proteolitik bölünme ile üretildiğini söyleyebiliriz (71).

İrisin esas olarak iskelet kasında, özellikle perimisyum ve endomisyumun nükleer kısımlarından salgılanmaktadır. Ayrıca yağ dokusu, pankreas, yağ bezleri ve kalp kası da irisin salgı dokuları olarak tanımlanmıştır. İrisin immünoreaktivitesi tükürük bezleri, yumurtalıklar, testisler, rektum, intrakraniyal arterler, dil, optik sinir, mide, nöron hücreleri ve ter bezlerinde salgılanır (70). Adipoz doku ayrıca önemli bir irisin kaynağıdır. Farelerde, kas dokudan üretilmiş irisin, toplam dolaşım seviyelerinin ~%72'sini temsil etmekte, geri kalan %28'i muhtemelen adipoz dokusundan üretilmektedir (72). İnsanlarda, FNDC5'in yağ dokusunda ekspresyonu, iskelet kasındakinden 100-200 kat daha düşüktür ve bu durum da yağ dokusunun birincil irisin kaynağı olmadığına işaretidir (73). İrisin için herhangi spesifik bir reseptör henüz tanımlanmamıştır. Son yapılan birtakım çalışmalarda, irisinin bazı dokularda integrinlere, özellikle  $\alpha$ v integrin ailesinin üyelerine bağlanarak etkisini gösterdiği görülmüştür (74).

İrisinin ilk tanımlanmasında, kasta transkripsiyonel ko-aktivatör PGC1 $\alpha$  'yı aşırı eksprese eden transgenik farelerde, FNDC5 ve irisin ekspresyonunun arttığı görülmüştür (69). PGC1 $\alpha$ , kas hücrelerinde mitokondriyal biyogenez ve fonksiyonun yanı sıra gen ekspresyonunu da düzenler (75). PGC1 $\alpha$  ekspresyonunun önemli tetikleyicilerinden biri egzersiz olduğundan, birçok çalışma egzersizin irisin sekresyonu üzerindeki etkisini araştırmış ve çelişkili sonuçlar bildirmiştir. Bunlara örnek olarak iki çalışmada PGC1 $\alpha$ , FNDC5, irisin ve egzersiz düzeyleri arasında bir ilişki bulunmadığı gösterilmiştir (66). Farklı fiziksel egzersiz protokollerini kullanan bazı in vivo çalışmalarda, irisin veya PGC1 $\alpha$  seviyeleri ile egzersiz arasında bir ilişki tespit edilememiştir. Bunlara karşılık insanlarda, 12 haftalık antrenmandan sonra, iskelet kasındaki mRNA PGC1 $\alpha$  ve FNDC5 seviyeleri, 26 kişide anlamlı derecede artmıştır. Ancak dolaşımdaki irisin seviyeleri paradoksal olarak 160'tan 143 ng/ml'ye düştüğü görülmüştür (70). Benzer şekilde, insan kasında FNDC5'in ekspresyonunun 8 haftalık bir dayanıklılık antrenman programından sonra değişmediği bildirilmiştir (71). Bununla birlikte, birçok başka hayvan ve insan çalışması, egzersizden sonra dolaşımdaki irisin seviyelerinin arttığını göstermiştir. Örneğin, FNDC5 mRNA seviyeleri, egzersiz yapan farelerden alınan kas örneklerinde kontrol kaslarına göre yaklaşık üç kat daha yüksek iken dayanıklılık egzersizi sonrası insanlardan alınan kas örneklerinde, egzersiz yapmayan bireylerin kaslarına göre iki kat daha yüksek bulunmuştur (63). Aynı araştırmacılar ayrıca, insanlarda 12 haftalık yüksek yoğunluklu aerobik antrenmanı sonrasında serumdaki irisin seviyelerinde 3.6 ng/ml'den 4.3 ng/ml'ye artış olduğunu göstermişlerdir (72). Başka bir çalışmada farelerde koşu bandı egzersizi sonrası, irisin seviyesi iskelet kasında iki kat, serumda bir buçuk kat daha yüksek bulunmuş fakat FNDC5 mRNA seviyelerinde eşlik eden bir değişiklik bulunamamıştır. İmmünohistokimyasal analizde ise irisinin hücre dışı olarak kas lifleri arasında da bulunduğu gösterilmiştir. Ancak akut egzersizden sonra irisin seviyelerinin artması, kas hücrelerinden artmış fizyolojik veya kas hasarına bağlı salınımının bir sonucu olup olmadığı henüz bilinmemekte ve araştırılmaktadır (73). Reza ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada mdx farelere irisinin intraperitoneal olarak uygulanmasının distrofik kasta; kavrama gücünü, kas ağırlığını artırdığını ve fibrotik ile nekrotik doku yüzdesini azalttığını, sarkolemmal stabiliteyi koruduğu göstermişlerdir (9). Dolayısıyla DMD tedavisinde irisinin bir rolü olup

olmayacağı ile ilgili bir soru işareti oluşturmuştur. Egzersiz sırasında serum irisin seviyelerinin artışı bilinirken (8,10), mdx farelere egzersiz yapıldığında irisinin nasıl değiştiği konusunda literatürde henüz bir bilgi bulunmamaktadır.

### **2.1.3 Musküler distofiler**

Musküler distrofiler (MD), ekstrasellüler matriks proteinlerini, transmembran ve membran ilişkili proteinleri, sitoplazmik enzimler ve nükleer matriks proteinlerini kodlayan genlerin mutasyonu sonucu ortaya çıkan kaslarda güçsüzlük ve ilerleyici kas dejenerasyonu ile seyreden, kas lifinin kaybı, bu kaybın yerine yağ ve bağ dokusunun artışı, iskelet kaslarındaki ilerleyici zayıflık ve harabiyetle karakterize genetik bir hastalık grubudur (36,76). Musküler distrofilere bozukluk, kasın fibrinlerinde olup, motor nöron ve periferik sinirlerde tutulum göstermez (1). Kas hücrelerinde kalsiyum homeostazının bozulduğu ve bu bozulmanın da kas dejenerasyonuna sebep olduğu düşünülmektedir (77,78).

Hastalığın başlangıç yaşında, şiddetinde, prognozunda ve yaşam beklentisinde önemli farklılık gösteren birçok farklı MD türü vardır (79). Bazı MD türleri doğum öncesi başlarken, bazı türleri erişkin dönemde ortaya çıkmaktadır. Bir kısmı hızlı bir ilerleme gösterirken, bir kısmı yavaş seyir izlemektedir. Bazı özel formları kardiyak ve merkezi sinir sistem dâhil olmak üzere çoklu sistem tutulumu ile ilişkilidir (80). Nadir görülen formlarına beyin, iç kulak, göz gibi organların veya dokuların tutulumu eşlik edebilir. Musküler distrofiler, tarihsel olarak, başlangıç yaşına, kalıtım şekline, etkilenen protein çeşidine ve ana klinik bulgulara göre sınıflandırılmıştır (79).

#### **2.1.3.1 Duchenne musküler distrofi**

Musküler distrofilere en ağır tip olan DMD; fonksiyonel kas kütlelerinde azalma, kas kütlelerinin yerine yağ ve bağ dokularının oluşmasıyla karakterize bir hastalıktır (25). İlk kez 1868 yılında, Guillaume Benjamin Duchenne tarafından tanımlanmıştır.

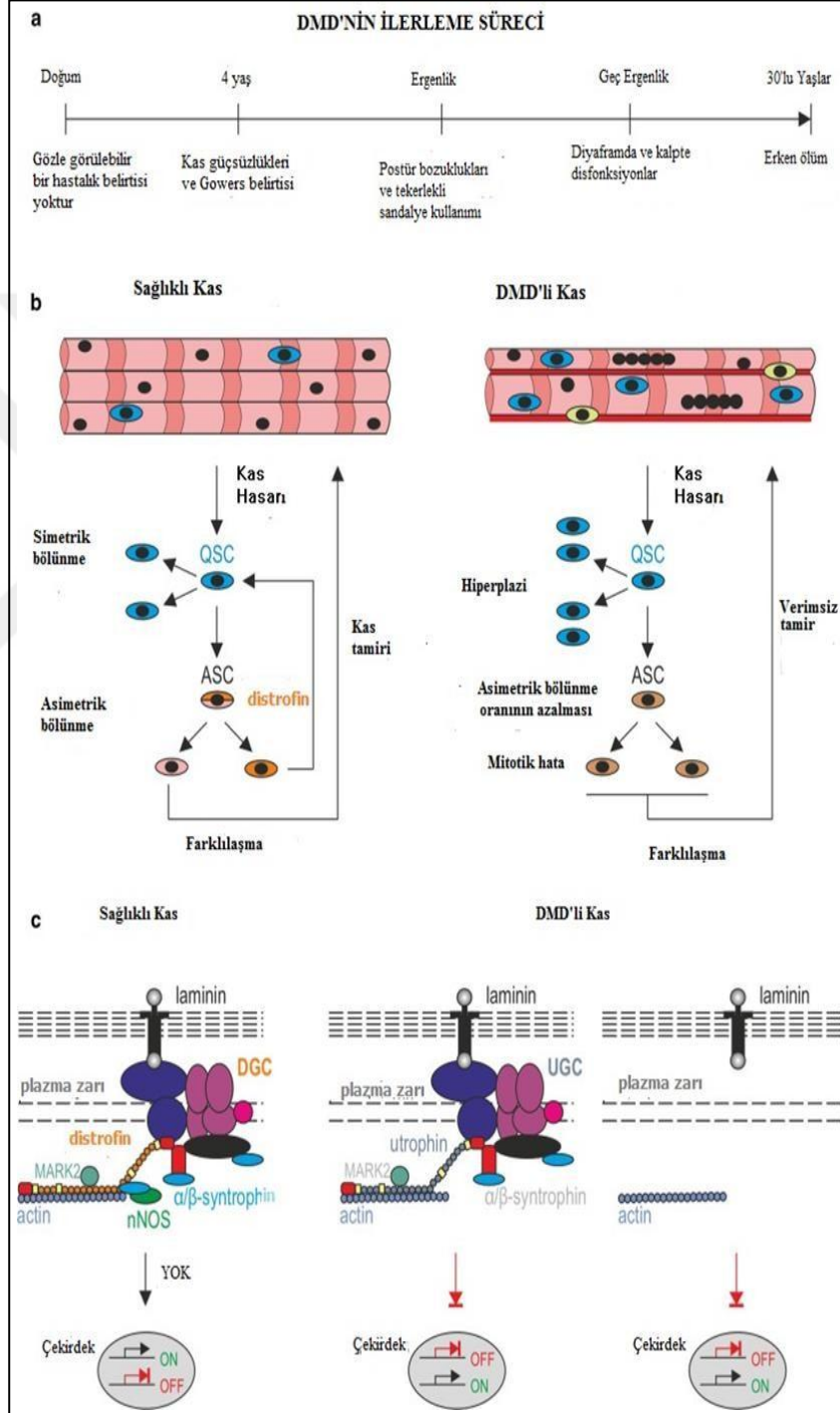
Psödohipertrofik musküler distrofi veya ilerleyici kas distrofisi adıyla da bilinir (1). DMD 3500 canlı doğumda 1 insidans (81) ile dünya üzerinde çocukluk çağında en sık gözükten, proksimal kas zayıflığı ve pseudohipertrofi ile karakterize (82) bir MD hastalığıdır. Türkiye’de yaklaşık 15.000 civarında (1-60 yaş arası) DMD hastasının olduğu ve yılda 140-150 kadar yeni vakanın da eklendiği tahmin edilmektedir. DMD,

X kromozomuna bağlı resesif genetik geçiş gösterir. Hastalık sadece erkek çocuklarında semptom verir. Yapılan araştırmalarda taşıyıcı grubun %2-20'sinde klinikte yapılan testlerde kas zayıflığı tespit edilmiştir. Bilinen taşıyıcıların %50-60'ında kreatin kinaz seviyesi (KK) yüksek görülmüştür (81,83).

Spesifik olarak, DMD ilerlemesi, uydu hücrelerin asimetrik olarak bölünmemesi ve hasar-onarım döngüsünü sürdürmemesi ile ilişkilendirilmiştir (Şekil 4a ve 4b). Bunun nedeni, DGK’da distrofinin, hücre polaritesinin kurulmasında çok önemli bir rol oynayan serin-treonin protein kinaz 2 (MARK2) ile ilişkili olmasıdır (Şekil 4c). Bununla birlikte, hastalıklı dokulardaki uydu hücrelerinin sayısı da zamanla tükenmeye uğrar (84,85) bu nedenle DMD hastalarında progresif kas kütlesi kaybının da gösterdiği üzere hasarlı miyofiberleri yenileyemez.

Distrofin eksikliğinden kaynaklı iltihaplanma sürecinin yanı sıra metabolik anormallikler ve kusurlu otofaji de ayrıca DMD'deki kas patolojisine neden olur. DMD hastalarında kas hasarının neden olduğu kronik inflamasyon, hastalığın ilerlemesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (76,86). Distrofin yokluğu birkaç nedenden dolayı fizyolojik bir problem olarak kendini gösterir (43). Birincisi, miyofiber zarının inceliğinden dolayı kronik bir dejenerasyon ile rejenerasyon döngüsü ve rejenerasyon potansiyelinde nihai bir kayıp, fonksiyonel kas kütlesinde ilerleyici bir bozulma ve atrofi ile sonuçlanır (40). İkincisi, distrofin yokluğu sekonder olarak DGK’nin sentezini etkileyerek %90 oranında azaltır. Sarkoglikan, distroglikan, sintrofin gibi DGK’nin yapılarında olan anormallikler kavşak tipi kas distrofisi gibi musküler distrofilere sebep olur (43,87). Distrofin-Glikoprotein Kompleksi’nin bileşenlerinde oluşan mutasyonlar distrofin proteinin yeteri kadar sentezlenememesine, ekstraselüler matriksle hücre iskeleti arasındaki bağlantının bozulmasına, membran hasarlarına

duyarlılığın artmasına, kas bütünlüğünün bozulmasına ve sonuçta müsküler distrofiye neden olur (12,41,88). Distrofin eksikliğinde kontraksiyonların yoğunlaştığı membran hasarlarına duyarlılık artar.



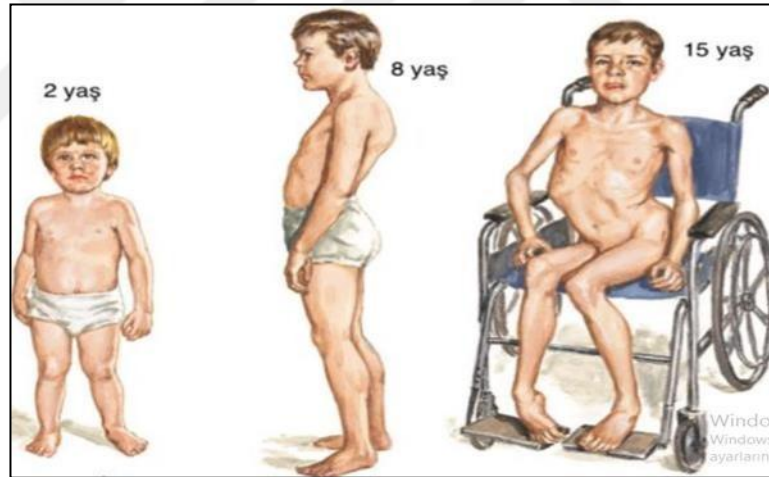
Şekil 4. DMD'nin ilerleme süreci.

Duchenne hastalığında gen mutasyonları sonucu, distrofin proteini tam olarak sentezlenememekte ve sarkolemmal stabilite bozularak kas hücresinde nekroza neden olmaktadır. DMD genindeki mutasyonlar, distrofin fonksiyonunda kayıplara neden olur ve bunun sonucunda prematüre, kısalmış, dayanıksız bir distrofin proteini oluşturulur (89). Ayrıca, DMD hastalarında, miyofiberlerin rejeneratif yeteneği, kesin olmamakla birlikte uydu hücrelerinin tükenmesine (43) ve kasın fibroadipoz doku ile değiştirilmesinden dolayı (35) kronik hasara neden olmaktadır. Fonksiyonel distrofinden yoksun iskelet kası ve kalp mekanik olarak zayıf kalır. Hücrenin kasılması (iskelet miyositleri ve kardiyak miyositlerde) hücre zarında hasara yol açar (43,90,91). Bu durum, membran bütünlüğünün kaybı, hücreye artan kalsiyum akışı ve nihai hücre ölümü ile sonuçlanır.

Klinik olarak distrofin kaybı ilerleyici kas güçsüzlüğü olarak kendini gösterir (92). Kaslar, hastalık ilerledikçe dejenere olur, daha sonra rejenerasyona girer. Buna dejenerasyon-rejenerasyon döngüsü denir. Bir süre sonra bu döngü dejenerasyon yönüne daha fazla döner, kas dokusu bozulur. Kas dokusu fibröz ve yağ dokusuna evrilir. Distrofin proteininin eksikliğinde ya da (93) yokluğunda sarkolemmada kasılmaya bağlı olarak yaralanmaya aşırı duyarlı hale gelir bu da aşırı kalsiyum (Ca<sup>2+</sup>) homeostazı kaybı, kalp aktivasyonu, oksidatif stres ve miyofibril dejenerasyonu gibi çok sayıda ikincil patolojiyi yayar (94,95). Bu durumlar ciddi kas kaybına, solunum ve kalp yetmezliğine ve çoğunlukla 30 yaşından önce ölüme sebebiyet verir (89).

Hastalar doğumda klinik belirtiler göstermemektedirler. Semptomlar ilk olarak erken çocukluk (1-3 yaş) döneminde fark edilir. Ortalama tanı ise 4-5 yaşında, hastada ilk semptomlar gözlenmeye başladığında konmaktadır (Şekil 5) (24). Duchenne hastalığına sahip çocuklar akranlarıyla yaklaşık olarak aynı zamanda yürümeye başlarlar. Fakat yürümeye başladıktan sonra yavaş yürüme, zeminden kalkmakta güçlük çekme, koşmada zorlanma, çabuk yorulma, merdiven çıkmada zorlanma, sık kucağa alınmak isteme ve sık düşme gibi belirtiler gözlemlenir (83,88). Kalçada bulunan ekstansör kasların zayıflaması nedeniyle yardım için kolları kullanmadan ayakta duramama (Gower manevrası), ayak parmağında yürüme ve akranlara ayak

uydurma zorluğu ile kendini göstermektedir. Başlangıçta gastroknemius ve gastrosoleus kaslarında psödohipertrofi gözlenir. Gastroknemius en fazla psödohipertrofiye uğrayan kastır. Psödohipertrofi baldırların çocukluktan itibaren sert ve şiş bir görünüm kazanmasına neden olur (83). Kaslardaki bu dejeneratif süreç giderek gözle görünür hale gelir ve ergenlik dönemiyle birlikte yağlı fibröz dokular baskınken geriye kalan kas dokuları azalır (43). Diğer önemli belirtilere baş tutmada gecikme, emeklemede zorluk, ayağa kalkmada zorluk, yürümede isteksizlik, parmak ucu yürüme ve aşırı yorgunluk eşlik eder. Yorgunluk kasın verilen aktiviteyi gerçekleştirebilmek için istenen ya da beklenen kuvveti gösterememesi ya da kuvveti devam ettirmede başarısızlık olarak tanımlanır (29). Nöromusküler yorgunluk DMD'li çocukların rehabilitasyon süreci boyunca fiziksel aktivitelerini kısıtlamaktadır. Fakat aynı zamanda kas harabiyetine karşı da koruyucu bir görev görmektedir (41).



**Şekil 5.** DMD klinik fenotipi (Netter koleksiyonu, tıbbi illüstrasyonlar, 2.baskı Elsevier, 2013, s.265).

Vücudun büyüme hızının hastalık hızını geçtiği 4-8 yaş arasında ebeveynler tarafından göreceli bir iyileşme olduğu söylene de bu iyileşme yanıltıcıdır (83). Klinik olarak hastalığın hızlı ilerlemesi 7-8 yaşlarında başlar (79). Arka bacak kaslarında oluşan kontraktürler aşil tendonunu kısaltır ve hastalar parmak ucunda yürümeye meyillidir (83,88). Kol ve bacak kaslarıyla birlikte kalça ve diz fleksörlerinde de kontraktürler oluşur (96). Yerden kalkmak, ayakta durmak, yürümek, merdiven

çıkmaq, giderek başkasının yardımı ile sürdürülmeye başlanır (83). Önce alt ekstremiteyi daha sonra üst ekstremiteyi etkileyen proksimal kas zayıflığı hastayı tekerlekli sandalyeye bağımlı hale getirme noktasına kadar ilerler (97). Hastalığın doğal seyrinde, hastalar yürüme yeteneğini kaybedip 11-13 yaşlarında tekerlekli sandalyeye bağımlı hale gelir (37,96). Tekerekli sandalyeye geçiş ve neredeyse bütün hastalarda ortaya çıkan skolyoz nedeniyle solunum işlevleri kötüleşir (83). Hastalarda genellikle asemptomatik taşikardi görülmekle birlikte neredeyse hepsinde kalp tutulumunu gösteren bulgular gelişir. Klinik olarak belirgin kardiyomiyopati 10 yaş civarında başlayabilir, 14 yaşında her üç hastanın birinde görülür ve neredeyse bütün hastalarda 18 yaştan sonra kardiyomiyopati bulguları saptanır (37,83). Hastalar 30'lu yaşlarından önce genellikle kalp ya da solunum yetmezliğinden dolayı hayatlarını kaybederler (43,83,97).

#### **2.1.4 Duchenne musküler distrofilı hayvan modelleri**

Hastalığın araştırmaları 1900'lü yılların ortalarında insan çalışmaları ile başlamış daha sonrasında geliştirilen yöntemler ile çeşitli hayvanlar üzerinde çalışmalara devam edilmiştir (127). Bu zamana kadar çok sayıda hayvan DMD modellemesi için kullanılmış ya da üretilmiştir. Kullanılan modellere bakacak olduğumuzda yaygın kullanıma örnek olarak kas ekstrofisi olan Golden Retriever gösterilebilir. Bu model ekzon 7 kaybına neden olan mutasyonundan dolayı distrofin üretmeyen CXMD olarak da bilinir (98,99). Başka bir köpek modeli ise, 2009 yılında Royal Veterinary Collage'da yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir. Bu model ek olarak ekzon 50 mutasyonuna sahiptir (100). Bir başka köpek modeli, CRISPR-Cas9 tekli kesim stratejisi kullanarak ekzon 51 atlanmasından kaynaklanan distrofin seviyelerini değerlendirmek için kullanılmıştır (101). Sapje zebra balığı, protein distrofinden yoksundur ve DMD'nin en küçük omurgalı modelidir. Küçük boyutları, büyük ölçekli ilaç araştırmaları için idealdir (102). Başka hayvan modelleri de geliştirilmiş ancak yayınlanmış distrofin indüksiyonu örneklerinde henüz kullanılmamıştır. Bunlar arasında distrofik kediler (103), distrofik tavşanlar (104) yer alır. Bu modellerin

içerisinde maliyet, yer tasarrufu, üretim ve araştırılma kolaylığı açısından en yaygın kullanım mdx fare modelidir.

Mdx fare, distrofin geninin ekzon 23'ünde kendiliğinden oluşan mutasyona sahiptir (105). Bu da protein translasyonunun erken durmasına ve fonksiyonel olmayan distrofinin kas distrofisinin tipik özelliklerine yol açar (106). Hasta insanlarla karşılaştırıldığında mdx farelerde fenotip daha hafif seyreder. Bu fenotip farkı boyut, mekanik yüklenme ve yaşam süresi farklılığından kaynaklanmaktadır (105,107). Fare ve insan arasında 2000-3000 kat boyut farkı vardır. Postür açısından bakıldığında ise insan iki ayak üzerinde duran bir canlı iken fare dört uzvu ile hareket eder ve ağırlık aktarımını buna göre sağlar. Son olarak yaşam süresi göz önüne alındığında insanlar farelere kıyasla daha fazla dejenerasyon-rejenerasyon döngüsüne maruz kalır bu da uzun sürede kaslarda bozulmaya neden olur (107). Bu farklılıklar distrofik türler arasında fiziksel egzersiz çalışmalarında göz önünde bulundurulmalıdır. Mdx farelerindeki farklı kaslar, distrofin yokluğundan eşit derecede etkilenmez. Arka bacak kasları diyaframa göre daha fazla nekroza uğrar ancak rejenerasyonu takiben daha az fibrozis geliştirirler (108).



**Resim 1.** Mdx fare modeli.

### 2.1.5 DMD'de tedavi yaklaşımları

İlaç tedavileri; distrofilerde hastalık progresyonunu yavaşlatabilir veya hastalık semptomlarının yönetimine yardımcı olabilir (109,110). DMD tedavisinde kullanılan ilaçlar aşağıdaki gibidir.

- i. Kortikosteroidler: Prednizon gibi glukokortikoidlerle tedavinin solunum fonksiyonuna ek olarak kasın gücünü ve kabiliyetini artırdığını gösteren birçok rapor yayınlanmıştır. Böylece kas zayıflığının ilerlemesi yavaşlatılır. Ancak bu tedavi uzun süreli kullanımda kilo alımı, kemiklerin kırılması, kan basıncında artış ve katarakt oluşumu gibi yan etkilere sebep olabilir.
- ii. Antikonvülsanlar: Bu ilaçlar kas spazmlarını ve nöbetlerini kontrol etmeye yardımcı olur.
- iii. İmmünoşupresanlar: Genellikle otoimmün bozuklukların tedavisi için önerilmektedir. Ölme aşamasında olan kas hücrelerine verilen hasarı uzatmaya yardımcı olabilir.
- iv. Antibiyotikler: Solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisi için kullanılmaktadır.
- v. Kalp ilaçları: Hastalığın durumu kalbi etkileyecek düzeyde ise beta blokerleri ve anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri kullanılabilir

Fizik tedavi; kasların ve tendonların kısılması üzerine hasta fiziksel olarak zorlanmaktadır. Bunun için çeşitli germe ve mobilizasyon içeren hareketler yapılmalıdır. Yapılan bu hareketler, uzuvların uzun süre hareketli kalmasına yardımcı olur. Bu hareketler, yürüme ve yüzme gibi standart düşük etkili aerobik egzersizleri içerir. Solunum sisteminin tedavisi; hastalık solunum fonksiyonuna yardımcı olan kasların zayıflamasına neden olur. Solunum sıkıntısı çeken hastalarda gece boyunca oksijen dağıtımını artırmaya yardımcı olan cihazlar kullanılabilir. Ciddi durumlarda, solunum için ventilatör kullanılmaktadır (110).

Ergoterapi; tekerlekli sandalyeler gibi yardımcı cihazları kullanmak, farklı teknikler kullanarak kişinin bağımsızlığını en üst düzeye çıkarmasına veya geliştirmesine yardımcı olur. Ergoterapi aynı zamanda evde de çeşitli düzenlemeleri

yaparak hastanın kendi yapabileceklerine göre daha rahat bir ortamda yaşayabilmesini sağlar (110)

Konuşma terapisi; Boğaz ve yüz kaslarında güçsüzlük yaşayan hastalar, kısa nefes alarak ve özel iletişim ekipmanı kullanarak konuşma yeteneklerini geliştirebilirler (110)

Düzeltilici cerrahiler; Hastaların distrofiden kaynaklı olarak yaşadığı ikincil sorunları düzeltmede kullanılır. Örneğin kalp pili ya da katarakt ameliyatları vb. (110).

Güncel tedavi yaklaşımları; DMD'li hastaların yeni tedavi yaklaşımları olarak gen terapileri, kök hücre temelli terapiler, distrofin restorasyonuna yönelik çalışmalar mevcut olup bu tedaviler ile ilgili klinik araştırmalar sürmektedir.

- i. Viral vektörler (gen tedavisi); DMD'li bireylerde iskelet ve kalp kasına fonksiyonel bir DMD geni sağlayarak mevcut olan distrofin proteininin yeniden düzenlenmesini amaçlamaktadır (111). DMD geninin kritik bölgelerini taşıyan rekombinant adeno-ilişkili viral vektörlerin kullanımı erken aşamada olup çalışmalara devam edilmektedir (112).
- ii. Antisense oligonükleoidler (AONs) ile ekzon atlama; Gen transkriptlerini hedef almak üzere tasarlanmış, küçük nükleik asit olan AONs'ların tedavide kullanılma amacı mRNA'ların değiştirilmesini (splicing) sağlamaya çalışmaktır. Yani AONs'ların okuma çerçevesini yeniden yapar ve kısmen fonksiyonu olan distrofini üretmek amacıyla ekzon atlama işlemini başlatarak ve splincingi yönlendirmeyi hedeflemektedir. Başarılı bir şekilde uygulanırsa, bir DMD gen transkripti, Becker Musküler Distrofi (BMD) benzeri proteinindeki gibi sonuç alınabilir (113).
- iii. Read-through stop kodon stratejileri; Ataluren stop kodonların ribozomal okuma stratejilerini destekleyerek, translasyonun devam etmesine ve fonksiyonel protein üretilmesini sağlayan polisiklik organik bir moleküldür (114,115). Ataluren gibi stop kodon baskılama maddeleri sadece nonsense mutasyonuna sahip bireylere yapılabilir (115). Bu konuda yapılan çalışmalar

henüz yetersiz olsa da şu ana kadar ulaşılan bilgilerde Ataluren'in distrofin üretimini %11 arttırdığı görülmüştür (116).

- iv. Utrofin modülasyonu; özel olarak gen mutasyonlarını hedeflemez. Tüm DMD'li bireylerde kas hasarını önlemeye yönelik distrofin eksikliğini telafi etmeyi hedefleyen ilaçlardır (117). Utrofin ve distrofin arasındaki benzerlik göz önünde tutularak; DMD'li bireylerde utrofinin distrofin eksikliğini gidermede etkili olup olmadığına yönelik çalışmalar sürdürülmektedir (118).

### **2.1.6 DMD'de fizyoterapi ve rehabilitasyon**

DMD'de fizyoterapi ve rehabilitasyon programlarında primer amaçlar; kas kuvvetini korumak ve mümkün mertebede geliştirmek, fonksiyonu ve ambulasyonu sürdürmek ayrıca kontraktürleri mümkün olduğunca önlemeye çalışmak sayılmaktadır (119). Kas gücünü korumak ve mümkün mertebe geliştirmede egzersiz uygulamalarının yanı sıra klinikte elektroterapi ajanlarından da yararlanılmaktadır.

Elektrik akımlarının tedavi amaçlı kullanımı, Sokrates dönemine dayanmaktadır. Günümüzde elektroterapi adıyla anılan ve elektrik akımlarının tedavi amaçlı kullanımını içeren uygulamalar ise 18. yüzyılın başlarında çalışılmaya başlanmıştır. Genel olarak elektroterapinin iki önemli fonksiyonu olduğu düşünülmektedir. Bu fonksiyonlardan birincisi ağrıyı hafifletmek, ikincisi ise kas fonksiyonunu iyileştirmek, korumak ve geliştirmektir (120). Elektroterapi ajanlarından biri olan düşük seviye lazer tedavisinin de DMD'li hayvan modellerinde iyileştirici etkileri olabileceği belirtilmektedir (20,21,22).

#### **2.1.6.1 Lazer tedavisi**

Uyarılmış Radyasyon Emisyonu ile Işık Amplifikasyonu anlamına gelen lazer tipik olarak dalga boyu, faz ve polarizasyonda nispeten tek düze elektromanyetik radyasyon üretir (121). Uyarılmış ışığa ile güçlendirilmiş ışığa lazer adı verilir. Lazer

ışığı iyi organize olmuş, düzenli ışıktır. Düşük Seviye Lazer Tedavisi (LLLT) ise doku yenilenmesini teşvik etmek, iltihabı azaltmak ve ağrıyı hafifletmek için uygulanan biyolojik bir sisteme ışık uygulamasıdır. Diğer tıbbi lazer prosedürlerinden farklı olarak, LLLT'nin ablatif (uzaklaşabilen) veya termal bir mekanizmaya sahip değildir. Bunun yerine ışığın emildiği ve kimyasal bir değişikliğe neden olduğu anlamına gelen bir fotokimyasal etki göstermektedir (122). Tekniğin düşük seviye olarak adlandırılmasının nedeni, verilen optimum enerji yoğunluğu seviyelerinin düşük olmasından kaynaklanır (121). Uygulandığı bölgede lazer ışığının etkisiyle enzimatik ve histokimyasal değişiklikler oluşmaya başlar. Kollajen lifleri ve hücre bölünmesini artırır. Yaraların esneme direncini artırır. Vaskülarizasyon artışa geçer. Aynı zamanda lenfatik akımın hızlanması eksuda absorpsiyonunu (ödemin azalmasını) sağlar. İmmun sistem üzerinde de (prostoglandinin azalması ile) olumlu etkileri olan lazer ışınının ayrıca antiinflamatuvar etkisi de vardır (123). Moleküler ve hücrel mekanizmaları, LLLT'nin fotonlarının mitokondri tarafından emildiğini göstermektedir. LLLT'nin yararlı etkilerinden sorumlu birçok gen, transkript ürününü indüklemek için daha fazla ATP üretimini ve düşük reaktif oksijen sistemleri (ROS) seviyelerini stimüle eder, bu da daha sonra NF-κB gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu sağlar. Nitrik oksit ayrıca LLLT'de de rol oynar ve solunum zincirindeki ve başka yerlerdeki bağlanma bölgelerinden ışıkla salınabilir. Düşük doz ışıkla düşük miktarlarda nitrik oksit salınımında da yararlı olabileceği düşünülmektedir (121).

Elektroterapi ajanlarından olan LLLT'nin analjezik, antiinflamatuvar ve biyostimüle edici etkileri günümüzde kanıtlanmış durumdadır. Kas-iskelet ağrısında ilk plasebo kontrollü LLLT çalışması 1980'de yayınlanmış olup LLLT'nin romatoid artritli hastalarda ağrıyı ve kavrama gücünü iyileştirdiğini bulunmuş ve bundan sonra osteoartrit, tendinopatiler, yaralar, sırt ağrısı, boyun ağrısı, periferik sinir yaralanmaları ve inme gibi birçok hastalıkta tedavi olarak kullanılmaya başlamıştır. LLLT'nin farmakolojik tedaviye göre önemli bir avantajı, yan etkilerin minimal düzeyde olmasıdır (124). Leal Junior ve arkadaşları yaptığı çalışmalarda, egzersizden önce LLLT ve ışık yayan diyot terapisi (LEDT) uygulandığında hem hayvanlarda hem de insanlarda iskelet kası yorgunluğunun başlamasının geciktiğini göstermiş hem de

iskelet kası iyileşmesi ile ilgili biyokimyasal belirteçlerin durumunun iyileştirdiği sonucuna varmışlardır (125,126). Bu bulgular sonucunda, LLLT'nin iskelet kası dokusu üzerinde koruyucu etkileri olabileceği günümüzde tartışılmaktadır (124).

İskelet kası yorgunluğunu yönetmek ve iskelet kası iyileşmesini kolaylaştırmak için LLLT kullanımını ise yeni bir araştırma alanıdır. Çalışmalarda mdx fare modelinde yapılan LLLT uygulamalarının enflamatuar belirteçleri ve kreatin kinaz seviyesini azalttığı ve rejenarasyon döngüsüne yardımcı olabileceği gösterilmiştir (20-22). Ek olarak Silva ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları çalışmalarında ise mdx farelerde gastrokinemius kasına yapılan üç günlük LLLT uygulamasından sonra, bir seans yüksek yoğunluklu egzersiz yaptırılmış ve LLLT uygulanan farelerde, KK ve oksidatif stresin daha az olduğu görülmüştür (23). Bu çalışmada LLLT ile tedavi edilen mdx farelerinde yüksek yoğunluklu egzersiz sırasında koşu bandında daha uzun süre çalışabildiğinden, redoks durumunu iyileştirdiği yani, bu hayvanlarda kas yorgunluğu geciktirdiği de görülmüştür (23).

Bu durum LLLT'nin, DMD semptomlarının tedavisinde yeni ve umut verici bir terapötik araç olarak kullanabileceği, egzersizin olası yan etkilerinde etkili olabileceği inancını doğurmaktadır. Fakat DMD'de düzenli egzersizin LLLT tedavisi ile kombine etkisi konusunda bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.

### **2.1.6.2 Duchenne tedavisinde egzersiz**

Egzersiz canlı organizmanın karşılaştığı en büyük stres kaynaklarından biridir. Şiddeti ve süresi kademeli olarak arttırılan fiziksel aktivitelere karşı vücut zaman içerisinde adaptasyon göstermektedir. Böylece karşılaşılan strese direnç zaman içerisinde artmış olur. Canlı organizmaya verilen uyarıya karşı organizma bir cevap oluşturur ve bir süre sonra organizma bu uyarana uyum sağlar. Sonuç olarak fizyolojik stres vücut tarafından tolere edilebilir ölçülerde olduğunda organizmada da fizyolojik değişiklikler (fizyolojik kapasitede artış) gerçekleşir. Egzersizin olumlu etkileri pek çok bilimsel araştırma ile kanıtlanmıştır. Düzenli yapılan egzersizin vücutta fonksiyon

gösteren bütün sistemler üzerinde kalıcı ve olumlu etkileri mevcuttur. Sistemleri güçlendirmek, metabolik süreçleri düzenlemek, motiliteyi arttırmakla beraber aynı zamanda kronik hastalıklara gidişi engellemek, sağlık risklerini azaltmak ve yaşam kalitesini arttırmak gibi etkileri de mevcuttur (127).

Yaklaşık 50 yıldır kas distrofisi olan hastalarda sınırlı egzersiz kullanımı bildirilmiştir. Düşük yoğunluktaki egzersizin bazıları tarafından faydalı olduğu gösterilmiştir (128). Fakat egzersizin bir tedavi olarak kullanımına ilişkin kesin bir insan çalışması yoktur. Düzenli fiziksel egzersiz, kas protein sentezini ve mitokondriyal biyogenezi uyarır (11). Bu nedenle egzersiz, kas gücünü korumak ve kontraktürleri önlemek için DMD için bir tedavi olarak önerilmiştir fakat kabul edilen kesin bir tedavi yöntemi değildir (4). Bunun nedeni egzersizin kendisinin de DMD hastalarında kas hasarını şiddetlendirebilmesidir. Bu nedenle, kas fonksiyonunu iyileştirmek ve kas hasarını en aza indirmek için sınırlar dikkatlice belirlenmelidir (129).

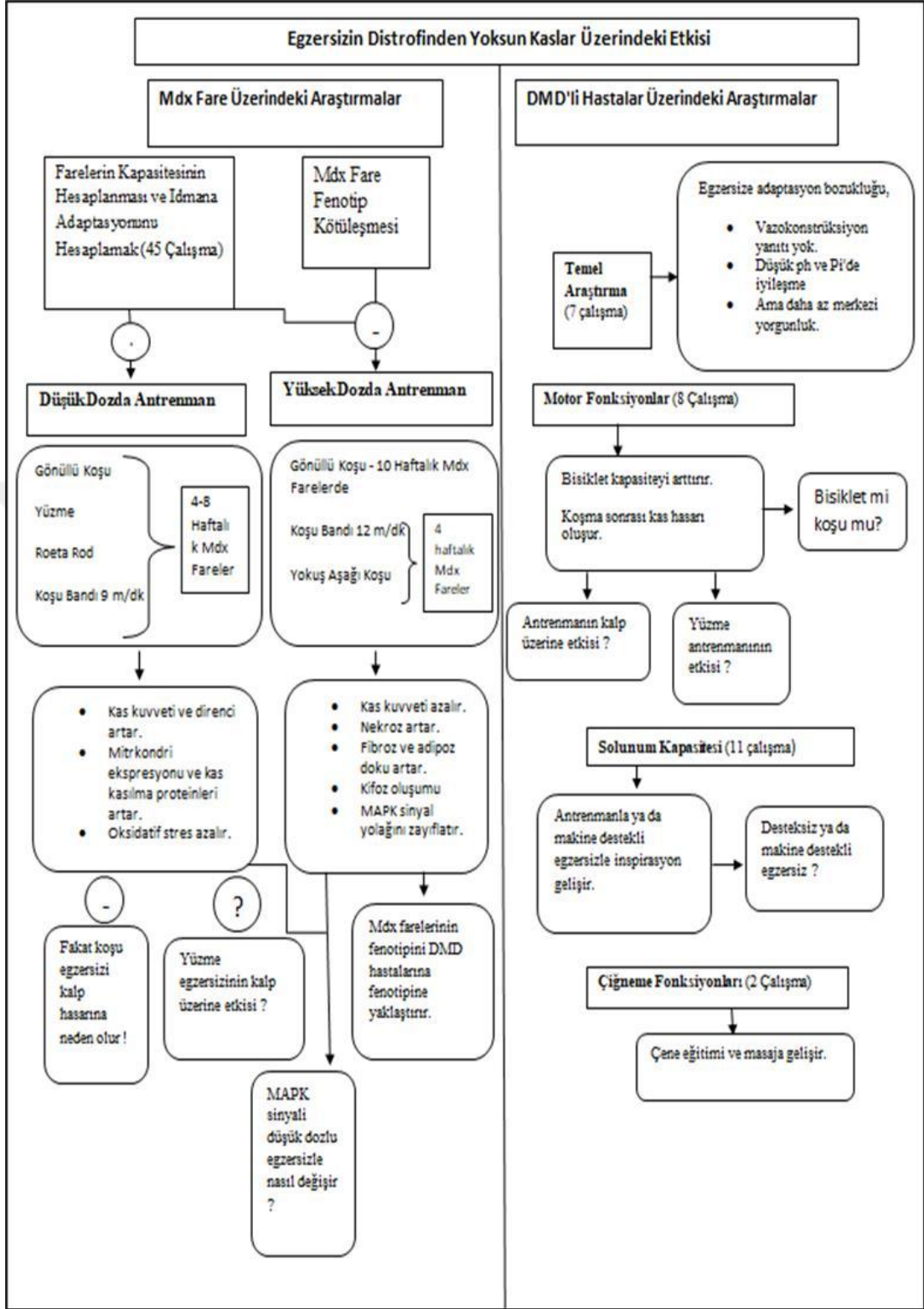
Fizyolojik bir stres etkeni olarak egzersiz, strese adaptasyonu temsil eden genlerin ve protein ürünlerinin ifadesini artırmak için çeşitli sinyal yollarını uyarır (130) ve sonuçta fizyolojik işlevde değişiklikler görülür. Bu yolların tüm ayrıntıları henüz netlik kazanmamıştır fakat uyandırılan yollar stres etkeni türüne bağlı olarak değişir. Egzersizin fizyolojik sonuçları; fiziksel aktivite sırasında daha fazla güç, daha az yorgunluk sağlamak için artan kas kütlesi ve metabolik değişiklikleri içerir. Yaşam kalitesi açısından bakıldığında, bunların tümü DMD'li bireyler için istenen ve son derece olumlu sonuçlardır (129). Egzersizin iskelet kası zarı üzerindeki potansiyel yararlı etkileri spesifik olarak bilinmemekle birlikte, sağlıklı bir kas lifi zarının üzerine yerleştirilen streslere uyum sağlayacağı düşünülmektedir ve zar yoluyla sinyal verme işlemlerinin daha verimli hale geldiği bilinmektedir (örneğin glikoz alımı). Distrofik kas zarlarının benzer şekilde tepki verip vermediği veya mekanik ve sinyal bütünlüğünün düzenli egzersizle daha da tehlikeye atılıp atılmadığı henüz netlik kazanmamıştır. Egzersiz tipi ve miktarı, potansiyel olarak fiziksel aktivitenin gerçekleştirildiği yaş (hastalığın ilerleme durumu) distrofik başlangıç ve ilerlemenin önemli belirleyicileri olabilir (129).

Duchhene Musküler Distrofi'de egzersiz araştırmalarını sınırlayan etkenleri temelde beş grupta inceleyebiliriz. Bunlardan ilki DMD tedavisinde egzersizin oynayabileceği rol hakkındaki bilginin yetersizliğidir. İnsan alışmaları ve mdx farelerdeki egzersiz çalışmaları azdır ayrıca dayanıklılık egzersiz performansının tanımlayıcı ölçümleriyle de sınırlı olduğu için düzgün bir biçimde tanımlanamamaktadır (131,132). Bu sınırlılık, DMD'nin tedavi edilemeyen hastalıklar grubunda kalmasına buna bağlı olarak hastaların distrofik sürecinin kötüleşmesine ve sonuç olarak etik sorunlara yol açmaktadır. İkincisi; egzersiz, dejenerasyonu/rejenerasyon döngüsünü şiddetlendirebilir ve potansiyel olarak bağ dokusu birikiminin artmasına ve uydu hücre proliferatif kapasitesinin tükenmesine neden olabilir. Üçüncüsü, distrofik kas zarının kırılabilirliğinden dolayı kas fonksiyonundaki iyileşme sınırlı seyredebilir. Dördüncüsü, şu anda hayvan veya insan distrofik kaslarının, distrofik olmayan kaslarla aynı şekilde bir egzersiz stresörüne tepki verip vermediği bilinmemektedir. Son olarak, ilk dört sınırlama göz önüne alındığında, fiziksel aktiviteden kaynaklanabilecek yaralanmayı önlemek için doğru bir egzersiz reçetesinin nasıl yapılacağı ve sonuçları iyi bir şekilde tahlil edilememektedir (129).

DMD, kas distrofilerinin en şiddetli olanıdır ve sağlam bilimsel verilere dayanmadığı sürece egzersiz reçetesi kontrendike olabilir. Hasta bireylerde yapılan çalışmalarda submaksimal aerobik egzersizlerin özellikle hastalığın erken evrelerinde yararlı olabileceği belirtilmektedir (133,134). Kas fibrilleri DMD'de sarkolemmal membranın mekanik desteğindeki yetersizlik nedeniyle kontraksiyona bağlı yaralanmalara açık hale gelmektedir (135). Belirli bir miktarda gerçekleştirilen kas aktivitesinin kullanmama atrofisini önlemekte, rezidüel kuvveti devam ettirmekte, aktif hareketin potansiyel trofik etkilerini korumakta, fonksiyonel durumu ve esnekliği koruyup geliştirmekte olduğu varsayılırken (133,136-138); eksantrik kas aktivitesi ve yüksek dirençli egzersizin kontraksiyona bağımlı kas yaralanmalarına sebep olabileceği nedeniyle uygunsuz olduğu, yaşam boyunca kullanılmaması gerektiği belirtilmektedir (133,136-139). Son dönemde yapılan çalışmalara dair sonuçlara göre; distrofin ve DGK olmamasına rağmen, distrofik membranlar erken olgunlaşma sırasında yaralanmaya daha az duyarlıdır (140). Bu sonuçlar bize egzersizlerin erken

yaşta başlatılması gerektiğini göstermektedir (141). Yüksek dirençli kuvvetlendirme egzersizleri DMD'li çocuklara önerilmez. Yüzme gibi submaksimal aerobik egzersizler önerilmektedir (115). Hyzewicz ve ark., 2015 yılında yayınladığı derlemede o güne kadar yapılan egzersiz çalışmalarının sonuçları Şekil 6'da özetlenmektedir (4).

Bu bilgiler ışığında mevcut tez çalışmamızın sorusu aerobik egzersizin (yüzme), LLLT'nin veya bu yöntemlerin kombine uygulanmasının DMD'li mdx farelerde; dejenerasyon, oksidatif stres ve utrofin proteini ile irisin peptiti üzerine etkileri olup olmadığı ve yöntemlerin birbiri üzerine üstünlükleri olup olmadığıdır. Bu nedenle çalışmamızda DMD'li mdx fare modelinde faydalı etkileri gösterilen yüzme egzersizlerinin olası yan etkilerini azaltmak veya faydasını artırmak için LLLT tedavisi ile birlikte uygulanmasının veya tek tek uygulanmasının kas dejenarasyonu, oksidatif stres, utrofin proteini ve irisin peptiti üzerine olan etkisini araştırmak amaçlanmaktadır.



Şekil 6. DMD'de egzersizin hayvan ve insan çalışmalarındaki etkisi (4).

### 3 GEREÇ VE YÖNTEM

“Duchenne musküler distrofilisi mdx farelerde yüzme egzersizi, düşük dereceli lazer veya kombinasyonlarının dejenerasyon, inflamasyon, oksidatif stres ve utrofin proteini ile irisin peptidi üzerine olan etkisi” adlı çalışmamıza Acıbadem Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alınmıştır (HADEK-2020-21 Onay yazısı ekte sunulmuştur). Çalışmamız Acıbadem Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Komisyonu (20/04/2020) tarafından desteklenmiştir.

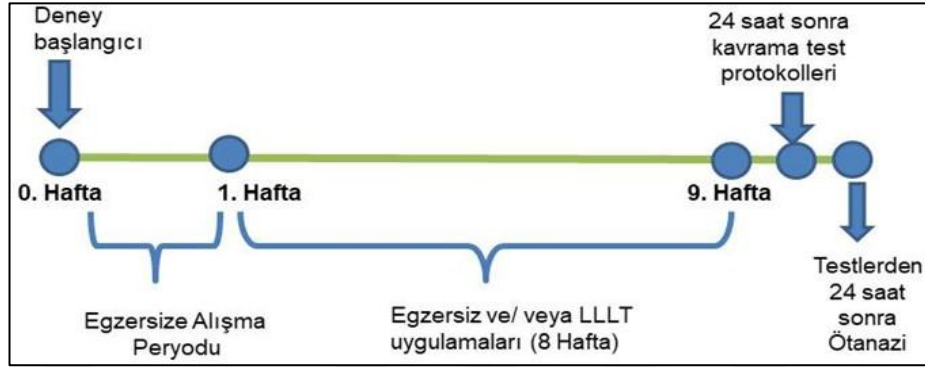
#### 3.1 Hayvanlar

Çalışmamız için Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezinden (ACU-DEHAM) 8 haftalık erkek Transgenik (20 gr) mdx fare (n=20) temin edilmiştir. Fareler 20-22 °C sıcaklıkta beşerli olarak kafeslerde rahat hareket edebilecekleri şekilde korunmuşlardır. Laboratuvarında 12 saat gündüz /12 saat gece ışık uygulanmış, deney başlangıcından sonuna kadar ki süre boyunca ACU-DEHAM laboratuvarında havalandırma ile diğer temizlik kurallarına dikkat edilerek ve laboratuvar hayvanları bakım kılavuzlarına (1985 revize NIH yayın numarası 85-23) uygun olarak bakım yapılmıştır (United States. Department of Health and Human Services. NIH Publication. 1985 revize). Hayvanlara; su ve yem (standart laboratuvar yemi) ad libidum olarak verilmiştir. Tüm farelerin vücut ağırlığı her hafta cuma günü saat 08:00-09:00 arasında tartılmıştır.

##### 3.1.1 Deney grupları

Örneklem büyüklüğü; G Power 3.1 programı (Kiel Üniversitesi, Kiel, Almanya) ile, %95 güven sınırında, 0,05 hata payı ile çalışmanın güç oranını %95 olarak elde etmek için her grupta en az 5, toplam 20 fare olacak şekilde Zelikovich ve

arkadaşlarının çalışmasındaki kas gücü artışının ortalamaları ve standart hatası göz önüne alınarak belirlenmiştir (3). Deneyin protokolü Şekil 7’de gösterilmiştir.



**Şekil 7.** Çalışma protokolü.

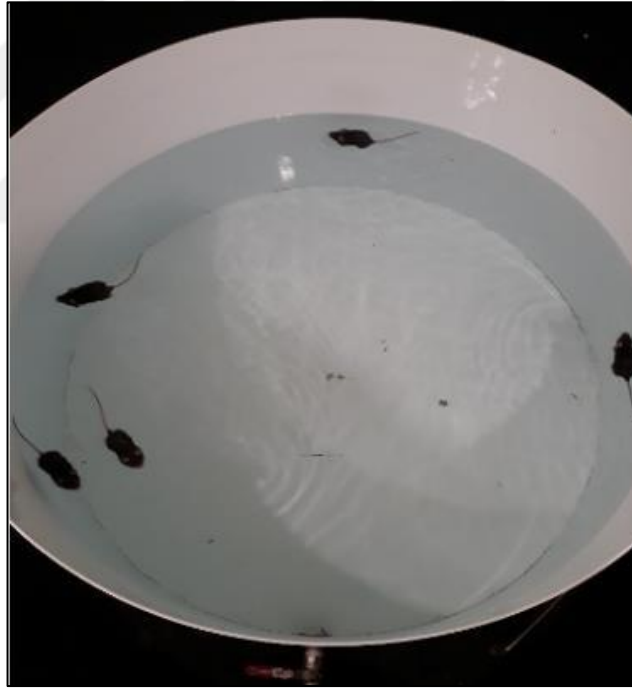
Hayvanlar kapalı zarf usulu şeklinde aşağıdaki gibi dört gruba ayrıldı:

- i. Sedanter mdx fare + plasebo LLLT uygulanan grup (SK): n=5
- ii. Sedanter mdx fare + LLLT uygulanan grup (SL):n=5
- iii. 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare (Eg): n=5
- iv. 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare + LLLT uygulanan grup (EgL): n=5

### 3.1.2 Egzersiz eğitimi

Hayvanlar aerobik fiziksel aktivite olan yüzme eğitim protokolüne alındı (sedanter gruplar hariç). Eğitim protokolü adaptasyon ve egzersiz fazı olarak ikiye ayrılıp, ilk olarak adaptasyon fazının birinci günü, bir yuvarlak plastik tank içinde [60 cm x 150 cm x 45 cm; su sıcaklığı  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ ] 10 dakika yüzdürüldü. Adaptasyon süresi boyunca hayvanlar 30 dk kesintisiz egzersiz yapabilene kadar her gün 10 dakika egzersizde artırma yapılarak yüzmeye alıştırıldı. Bir haftalık adaptasyon fazından sonra egzersiz fazına geçildi (142).

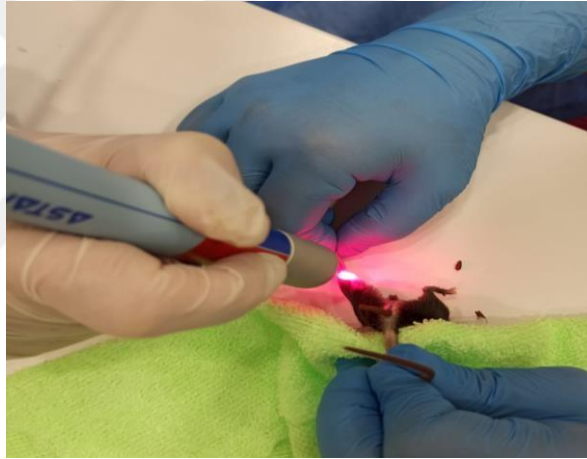
Hayvanlar, her zaman aynı iki çalışmacının gözetiminde aynı saatte tanka yerleştirildi. Tüm deney boyunca çalışmacılar havuzunun başında durarak nazik bir şekilde yüzmeyen hayvanları dokunarak, birbiri üstüne çıkan hayvanları ayırarak hayvanların hepsinin eşit bir şekilde yüzmesini sağlandı. Tüm yüzme egzersiz fazı 8 hafta boyunca ve haftada 3 gün 30'ar dakikalık yüzme egzersizi olarak yapıldı. Her egzersiz seansının sonunda, hayvanlar kurutularak ve sıcak bir ortamda muhafaza edildi (143). Yüzme egzersizinin Benthem ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Maksimal oksijen tüketiminin ( $VO_{2max}$ ) %60'ına denk geldiği ve orta dereceli aerobik egzersiz olarak tanımlandığı da belirtilmektedir (144). Yüzme egzersiz protokolü laboratuvarımızın ve yürütücünün kullandığı bir yöntem olduğu ve distrofik farelerde yararlı etkileri gösterildiği için seçilmiştir.



**Resim 2.** Yüzme egzersizi uygulanan mdx fareler.

### 3.1.2.1 LLLT uygulanması

Sedanter mdx fare + plasebo LLLT (SK) grubu hayvanlar 8 hafta boyunca haftada 3 kez gastrokinemiuslar üzerinde LLLT (Polaris 2, ASTAR<sup>®</sup>, Bielsko-Biata, Poland) makinesi çalışmadan kullanılarak plasebo olarak tedavi edildi. Sedanter MDX fare + LLLT uygulanan grup (SL) ile 30 dk yüzme egzersizi yapan MDX fare + LLLT (EgL) uygulanan grup hayvanlara haftada 3 kez gastrokinemiuslar üzerinde noktasal LLLT (Polaris Sonda Puntale IR 400 mW / 808 nm) 90 sn boyunca uygulandı. Lazerin uygulanma gücü üreticinin talimatlarına göre kas dokusuna kadar etki eden güç olduğu için seçilmiştir.



**Resim 3.** LLLT uygulanan mdx fareler.

## 3.2 Kas Gücü Testleri

Hayvanlar sekiz haftalık egzersizi bitirdikten 24 saat sonra kas gücünü testetmek için Aartsma-Rus ve arkadaşlarının 2014'te yaptığı çalışmadaki gibi asma testleri ve rotarod test protokollerine alındı (5).

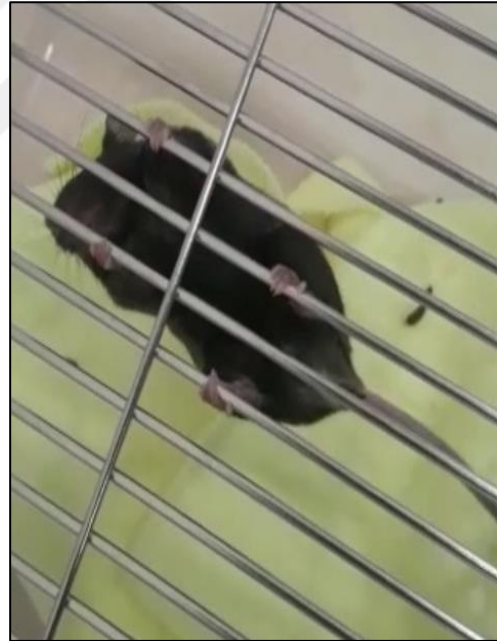
Asma testleri (iki uzuvlu ve dört uzuvlu) ile denge, koordinasyon ve kas durumu değerlendirilebilir. Bu testler, farelerin tükenene kadar bir tel veya ızgara üzerinde asılı

kalmaya istekli oldukları bilgisine dayanmaktadır. Testin başlangıcında sırasıyla bir tel kullanılarak sadece iki ön ayak ve dört uzvun kullanıldığı iki ayırt edici asma testi kullanılır. Bu testlere göre fareler iki uzuvlu asma testinde ilk olarak ön ayakları 2 mm kalınlığında askıyı tutacak şekilde asılı tutturuldu (Resim 5) yaklaşık 37 cm altında bezden yatak yapılarak konuldu. Üç deneme yaptırıldı ve en uzun süre kalma süresi saniye olarak not edildi.

Dört uzuvlu asma testine sıçan kafesinin ızgarasına dört ayakla farenin tutunması sağlandıktan sonra ızgara ters çevrildi (Resim 6). Yaralanmasını önlemek için 25 cm altına sünger yatak konuldu. Üç deneme yaptırıldı en uzun süre kalma süresi saniye olarak not edildi. Yabani tip farelerin çoğu 600 saniye asılı kalabilirken distrofik fareler 600 saniyeyi tamamlayamadığı bildirilmiştir. (5).

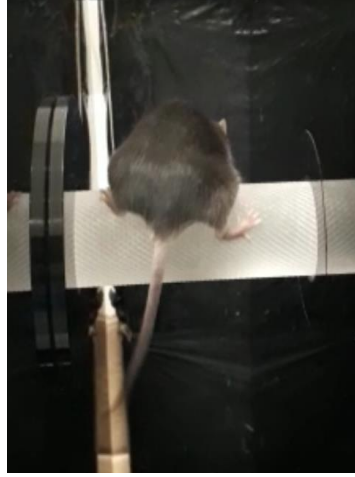


**Resim 4.** İkilili asma testi.



**Resim 5.** Dörtlü asma testi.

Rotarod testi ile kas kuvveti koordinasyonu ve denge durumu belirlenebilir. Bu test için fareler dönen bir tüp üzerinde çalıştırıldı (Resim 7). Fareler başlangıç olarak bir alışma sürecine tabi tutuldu ve bunun için eğitim programı başlatıldı. Bir gün öncesinden eğitim verilen fareler daha sonra rotarod üzerine konuldu. 3 kere test tekrarlandı ve sağlanan en yüksek durma süreleri saniye olarak not edildi (5).



**Resim 6.** Rotarod testi.

### **3.2.1 Kan ve doku örneklerinin alınması**

Testlerin yapılmasından 24 saat sonra Ketamin/Ksilazin (100/10 mg/kg) anestezisi intraperitoneal olarak uygulanan hayvanlar kalplerinden kan alınarak feda edildi. Serum hazırlanması için alınan kan örnekleri, 6000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Gastroknemiuslar, diafram kasları ve kalp dokusu çıkartıldı. Sağ gastroknemius, diafram kasları ve kalp dokusu histopatolojik analizler için %10 tamponlu formaldehit fiksasyonuna alındı. Sol gastroknemius westren blot ve ELİSA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) ölçümleri için  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

## **3.3 Biyokimyasal Ölçümler**

### **3.3.1 Kreatin kinaz (KK), utrofin ve irisin ölçümleri**

Serum örneklerinde serum KK, serum ve kas örneklerinde utrofin ve irisin seviyeleri ELISA (Okuyucu cihaz: Biotek ELx800, Yıkayıcı cihaz: Biotek Elx50, Almanya) ticari kiti üreticinin talimatlarına göre kullanılarak belirlendi.

### 3.3.2 Total oksidan kapasite (TOS) ve total antioksidan kapasite (TAS) ölçümleri

Serum TAS ve TOS ölçülerek oksidatif stres indeksi belirlenecektir. TAS ve TOS seviyeleri ticari olarak temin edilebilen kitler kullanılarak ölçüldü (Relassay®, Gaziantep, Türkiye). Yeni otomatik yöntem, antioksidanlar tarafından daha kararlı bir ABTS (2,2 Azino-bis (3 etilbenzotiyazol ne-6-sülfonik asit)) radikasyonunun karakteristik renginin ağartılmasına dayanmaktadır. Test, %3'ten daha düşük mükemmel hassasiyet değerlerine sahiptir. Sonuçlar m mol Troloksequivalent / L cinsinden ifade edildi (145).

TOS yönteminde; numunede mevcut olan oksidanlar, ferrosiyon odianisidin kompleksini ferriyona oksitlendi. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri ile artırıldı. Demir, asidik bir ortamda ksilenolorange ile renkli bir kompleks üretildi. Spektro fotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarıyla ilişkilidir. Deney hidrojen peroksit ile kalibre edilecek ve sonuçlar mikromolar hidrojen peroksit eşdeğer entperlitre ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  eşdeğeri / L) cinsinden ifade edildi. (145). Ayrıca TOS'un TAS'ye oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak kabul edildi. Hesaplama için;  $\text{OSI} = \text{TOS} (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eşdeğeri / L}) / \text{TAS} (\mu\text{mol Troloksequivt / L})$  (145).

### 3.4 Histolojik Analizler

Diseksiyon sonrası alınan gastroknemius kası, diyafram ve kalp dokusu örnekleri, %10'luk nötral tamponlu formalin ile 72 saat fikse edildi. Fiksasyonu takiben dokular, yükselen etil alkol serisi (%70, %90, %96, %100) ile dehidrasyon ve ksilenle saydamlaştırma aşamalarından geçirildi. Dokular daha sonra parafine gömüldü. Mikrotom ile 5  $\mu\text{m}$  kalınlığında alınan kesitler sıcak su banyosuna aktarıldı. Daha sonra doku bloklarından elde edilen kesitler histolojik boyamalar için lamlara alındı. Alınan kesitlere, gastroknemius kası, diyafram ve kalp dokusundaki histopatolojik

değişiklikleri göstermek amacıyla Hematoksilen-Eosin, Masson trikrom ve pikrosirius boyaları uygulandı. Elde edilen preparatlardaki doku iyileşme/hasar derecesinin histopatolojik değerlendirilmesi için iyileşme ve hasar alanlarında her preparat saat yönünde kaydırarak rastgele seçilen 5 benzer alanda, x400 büyütme altında kas dejenerasyonu, lökosit infiltrasyonu ve vazokonjesyon bazındaki histopatolojik parametrelerle, her kriter için 0 ile 3 arasında değişen (0:hiç yok; 1:az; 2:orta ve 3:ciddi) bir skora sistemi kullanılarak (maksimum skor değeri 9) yapıldı (146).

### **3.5 İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel değerlendirme için Graphpad Prism 9 programı kullanıldı. Tüm veriler ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde ifade edildi. Grupların karşılaştırılmasında parametrik verilerde; tek yönlü varyans analiz (ANOVA) sonrası Tukey-Kramer çoklu testi ile değerlendirilmesi yapıldı. Nonparametrik verilerin değerlendirilmesinde Kruskal Wallis sonrası Dunn testi ile yapıldı. P değerinin 0,05 ve 0,05'ten küçük olması ( $p \leq 0,05$ ) anlamlı kabul edildi.

## 4 BULGULAR

Çalışmamızda DMD'li mdx farelerde yüzme egzersizi, düşük dereceli lazer veya kombinasyonlarının dejenerasyon, inflamasyon, oksidatif stres ve utrofin proteini ile irisin peptidi üzerine etkileri araştırılmış olup bulgular sırayla aşağıda verilmiştir.

### 4.1 Kas Gücü Testleri

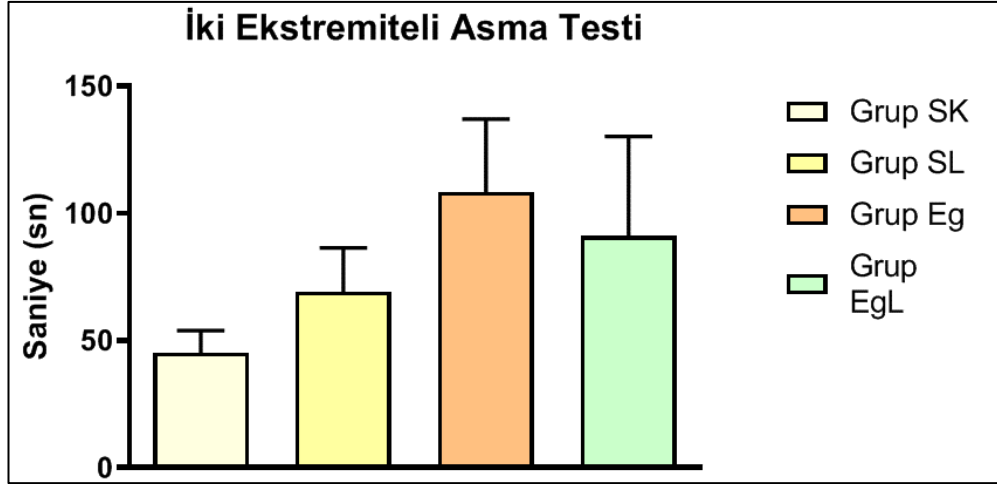
Grupların iki ekstremiteli, dört ekstremiteli asma ve rotarod testi ortalamaları ile standart deviasyonları Tablo 1'de gösterilmektedir. İki ekstremiteli ( $F(3, 12) = 1,089$ ,  $p = 0,39$ , Şekil 8) ve dört ekstremiteli asma ( $F(3, 12) = 1,819$ ,  $p = 0,19$ , Şekil 9); testlerinde grupların birbiri ile karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel bir anlamlılık görülmedi.

Rotarod testinde grupların birbiri ile karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel anlamlılık görülürken ( $F(3, 12) = 2,624$ ,  $p = 0,09$ , Şekil 10); grup EgL'nin grup SK'ya göre rotarod testi süresi anlamlı olarak yüksekti ( $p = 0,03$ , Şekil 10). Diğer grupların birbiri ile karşılaştırılmasında bir farklılık görülmedi ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 1.** Grupların kas testlerinin ortalamaları ve standart deviasyonları.

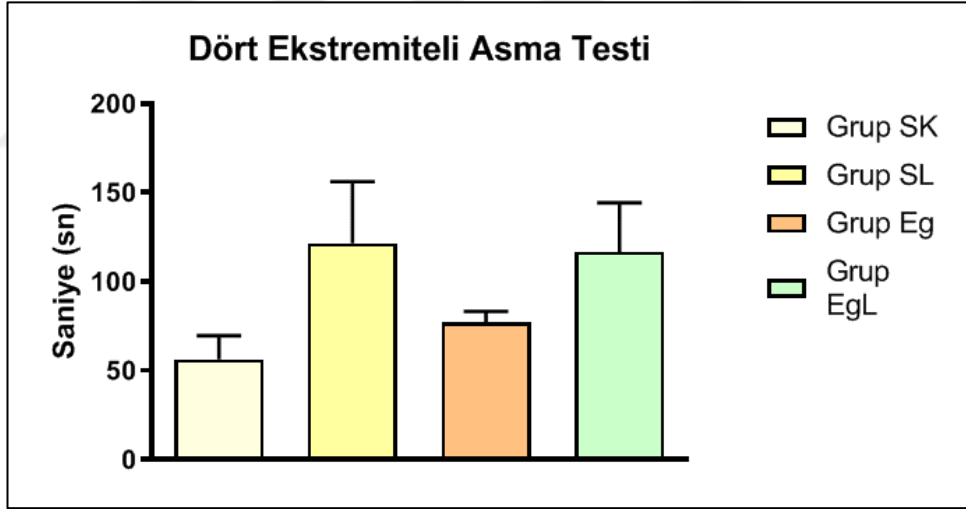
Kas Testi Sonuçları	Grup SK <i>Ort ± SD</i>	Grup SL <i>Ort ± SD</i>	Grup EG <i>Ort ± SD</i>	Grup EGL <i>Ort ± SD</i>
İki ekstremiteli asma testi (sn)	45,00 ± 7,80	69,00 ± 4,77	108,3 ± 57,73	91,00 ± 78,58
Dört ekstremiteli asma testi (sn)	56,25 ± 6,59	121,5 ± 69,02	77,25 ± 12,09	116,5 ± 55,43
Rotarod Testi (sn)	75,5 ± 62,04	157,5 ± 54,71	177,5 ± 78,27	190,3 ± 57,05

*Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Ort ± SD: ortalama ± standart deviasyon.*



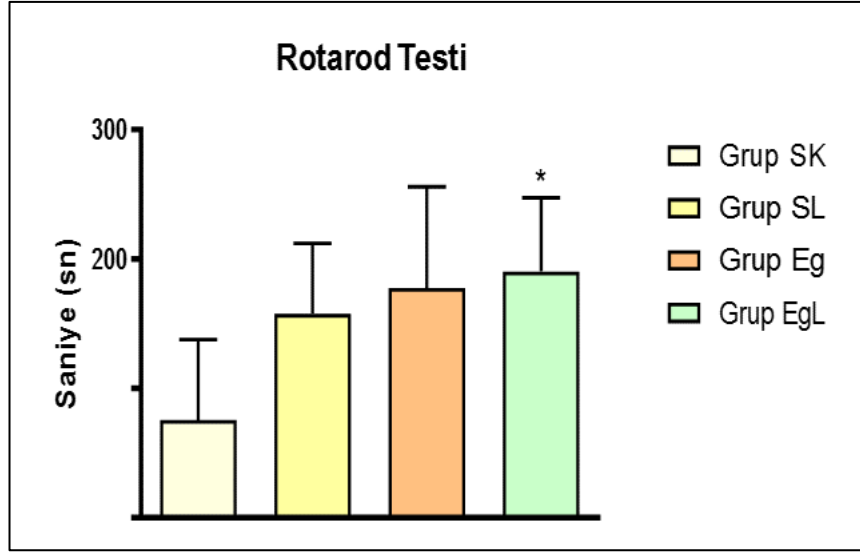
**Şekil 8.** İki ekstremiteli asma testi.

*Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan Mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test.*



**Şekil 9.** Dört ekstremiteli asma testi.

*Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test.*



**Şekil 10.** Rotarod testi

*Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test, \* $p < 0,05$ , grup SK'ya göre anlamlılık.*

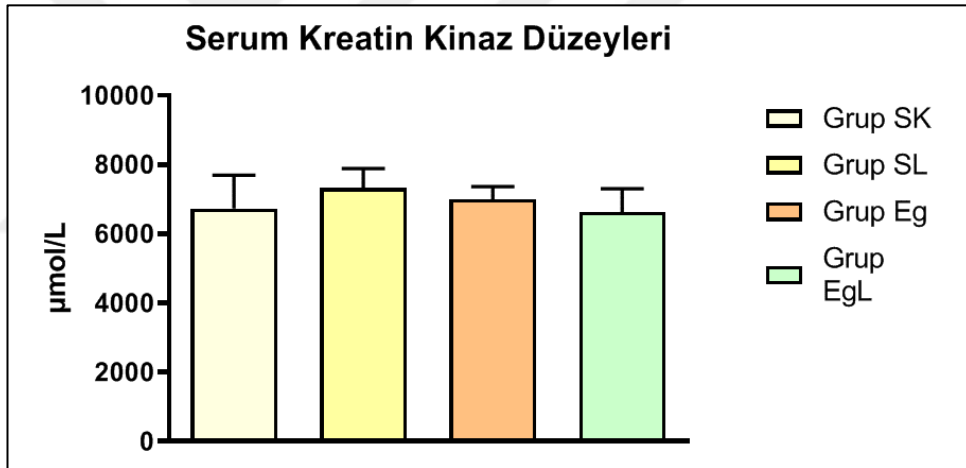
## 4.2 Biyokimyasal Ölçümler

Biyokimyasal ölçümlerden serum KK, serum ile kas TAS, TOS ve OSI'lerinin ortalamaları ve standart deviasyonları Tablo 2'de gösterilmektedir. Serum KK düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel bir anlamlılık görülmedi ( $F(3, 14) = 0,214$ ,  $p = 0,88$ , Şekil 11). Serum TAS düzeyleri ( $F(3, 14) = 0,876$ ,  $p = 0,47$ , Şekil 12) ve kas ( $F(3, 16) = 1,764$ ,  $p = 0,19$ , Şekil 13) gruplar arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmadı.

**Tablo 2.** Grupların biyokimyasal ölçümlerin ortalamaları ve standart deviasyonları.

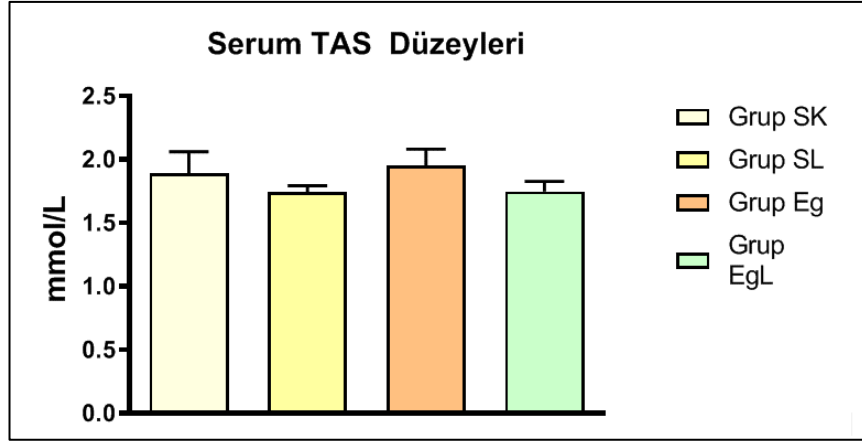
Değerlendirmeler	Grup SK	Grup SL	Grup EG	Grup EGL
	Ort± SD	Ort± SD	Ort± SD	Ort± SD
Serum KK (U/L)	6731 ± 1935	7318 ± 1133	6993 ± 819,6	6623 ± 1522
Serum TAS (mmol/L)	1,890 ± 0,33	1,740 ± 0,13	1,952 ± 0,28	1,746 ± 0,17
Serum TOS (µmol/L)	14,86 ± 7,86	12,77 ± 8,29	6,360 ± 1,21	5,322 ± 1,58
Serum Oksidatif İndeks	0,96 ± 0,58	0,77 ± 0,52	0,32 ± 0,04	0,30 ± 0,08
Kas TAS (mmol/L)	0,93 ± 0,22	1,136 ± 0,22	1,204 ± 0,18	1,080 ± 0,10
Kas TOS (µmol/L)	19,68 ± 3,33	20,07 ± 2,50	13,65 ± 4,90	13,75 ± 2,00
Kas Oksidatif İndeks	2,179 ± 0,47	1,621 ± 0,15	1,109 ± 0,27	1,279 ± 0,19

KK, Kreatin Kinaz, TAS, Total Antioksidan Kapasite, TOS, Total Antioksidan Kapasite, LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Ort ± SD: ortalama ± standart deviasyon.



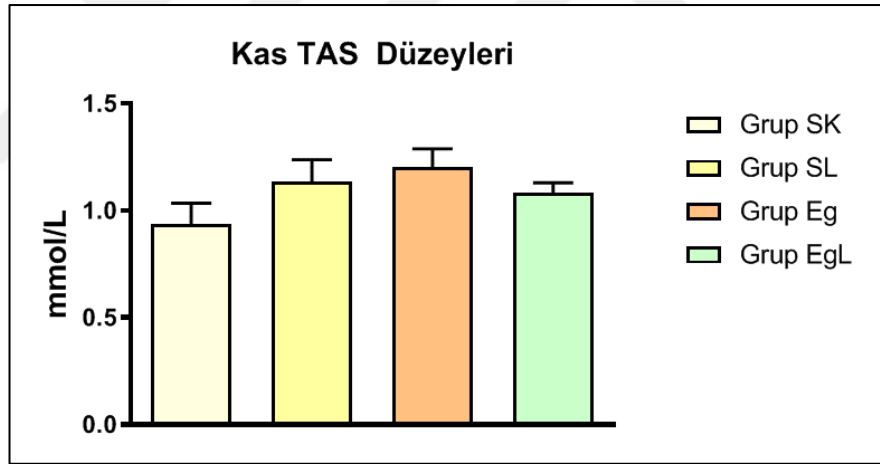
**Şekil 11.** Grupların serum kreatin kinaz düzeyleri.

LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test.



**Şekil 12.** Grupların serum TAS düzeyleri

TAS, Total Antioksidan Kapasite, LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test.

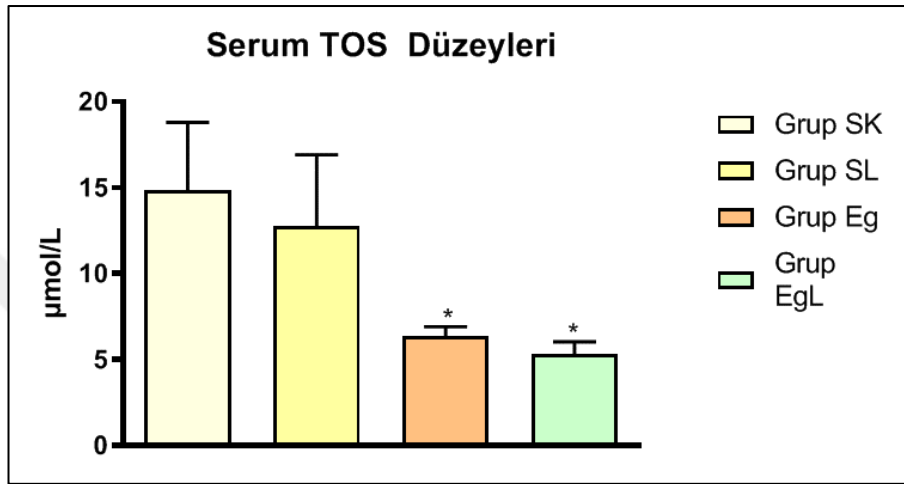


**Şekil 13.** Grupların kas TAS düzeyleri

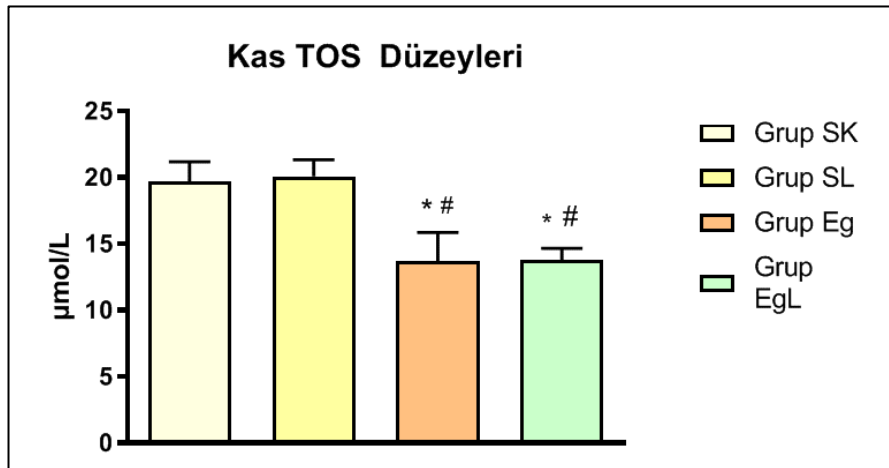
TAS, Total Antioksidan Kapasite, LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test.

Serum TOS seviyelerinde grupların birbiri ile karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel anlamlılık görülürken ( $F(3, 14) = 3,365$ ,  $p = 0,04$ ); grup Eg ( $p = 0,05$ ) ve grup EgL'nin ( $p = 0,03$ ), grup SK'ya göre anlamlı olarak serum TOS seviyeleri düşüktü (Şekil 14).

Kas TOS seviyelerinde grupların birbiri ile karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel anlamlılık görüldü ( $F(3, 15) = 5,104, p = 0,01$ ). Grup SK'ya göre Eg ( $p = 0,05$ ) ve EgL grubu ( $p = 0,01$ ) kas TOS seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü. Ayrıca Grup SL'ye göre Eg ( $p = 0,02$ ) ve EgL grubu ( $p = 0,04$ ) kas TOS seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (Şekil 15).



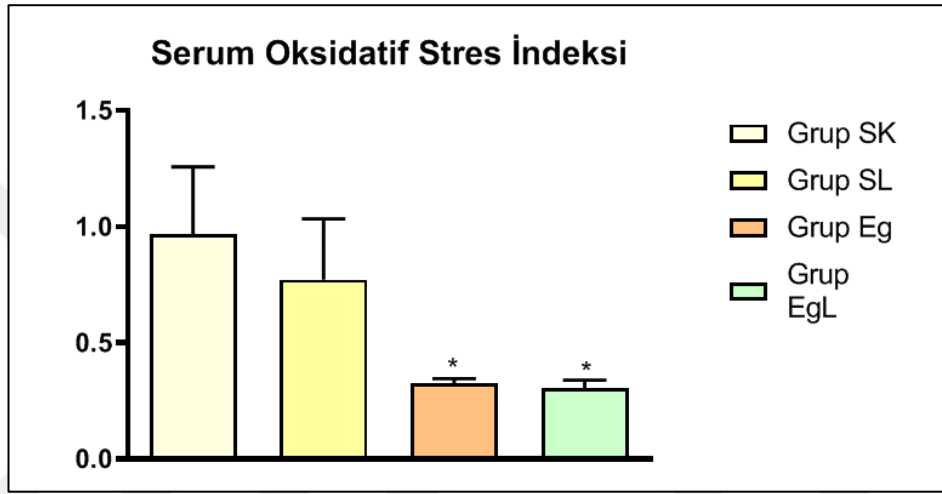
Şekil 14. Grupların serum TOS düzeyleri



Şekil 15. Grupların kas TOS düzeyleri

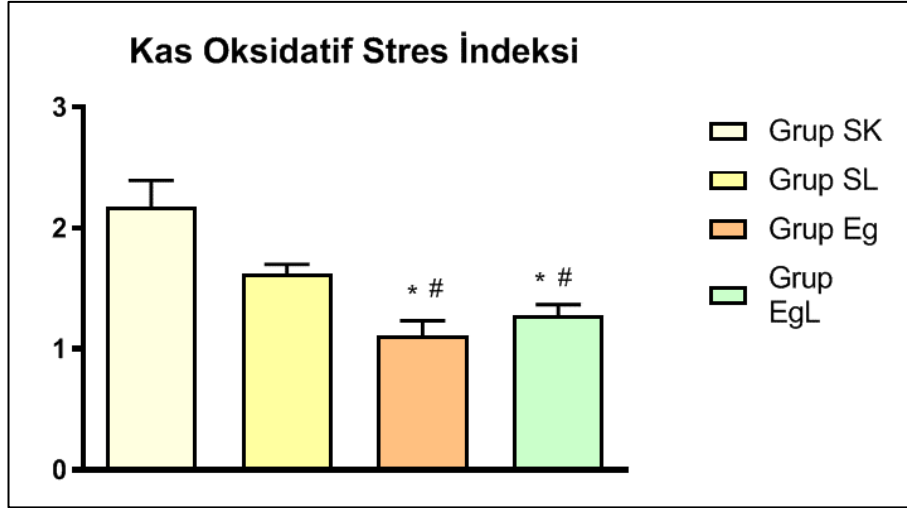
TOS, Total Oksidan Kapasite, LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test, \* $p < 0,05$ , grup SK'ya göre anlamlılık, #  $p < 0,05$ , grup SL'ye göre anlamlılık.

Serum OSI değerlerinde grupların birbiri ile karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel anlamlılık görülürken ( $F(3, 14) = 3,576, p = 0,04$ ), grup SK'ya göre grup Eg ( $p = 0,04$ ) ve grup EgL'de ( $p = 0,03$ ) OSI değeri anlamlı derecede düşüktü (Şekil 16). Kas OSI değerlerinde ise grupların birbiri ile karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel anlamlılık bulundu ( $F(3, 15) = 11,48, p = 0,0004$ ). Grup SK'ya göre grup Eg ( $p = 0,002$ ) ve grup EgL'de ( $p = 0,004$ ) OSI değeri anlamlı olarak azaldı (Şekil 17).



**Şekil 16.** Grupların serum oksidatif stres indeksi düzeyleri

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test, \* $p < 0,05$ , grup SK'ya göre anlamlılık*

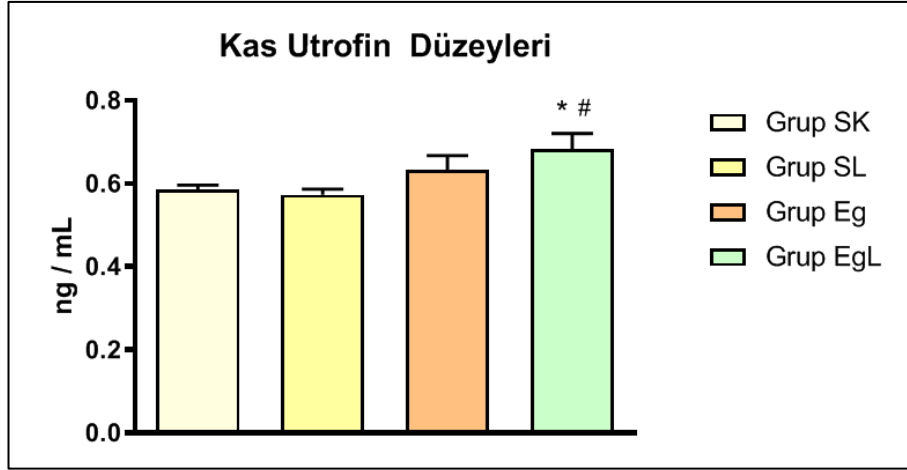


**Şekil 17.** Grupların serum oksidatif stres indeksi düzeyleri

LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test, \* $p < 0,05$ , grup SK'ya göre anlamlılık; #  $p < 0,05$ , grup SL'ye göre anlamlılık.

### 4.3 Kas Utrofin Seviyeleri

Kas utrofin seviyelerinde grupların birbiri ile karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel anlamlılık bulundu ( $F(3, 14) = 3,478$ ,  $p = 0,04$ ). Grup SK'ya göre grup EgL'de utrofin anlamlı olarak arttı ( $p = 0,04$ , Şekil 18). Ayrıca Grup SL'ye göre yine grup EgL'de anlamlı olarak utrofin değerlerinde artış görüldü ( $p = 0,01$ , Şekil 18).



**Şekil 18.** Grupların kas utrofin düzeyleri

LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test, \* $p < 0,05$ , grup SK'ya göre anlamlılık; #  $p < 0,05$ , grup SL'ye göre anlamlılık.

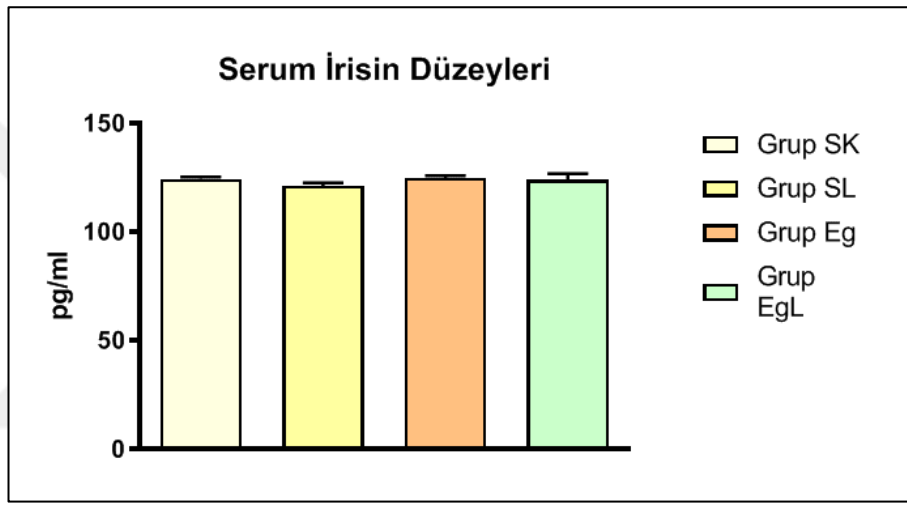
#### 4.4 İrisin Seviyeleri

Kas utrofin, serum ve kas irisin seviyelerinin ortalamaları ve standart deviasyonları Tablo 3'te gösterilmektedir. Serum irisin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel bir anlamlılık belirlenmedi ( $F(3,14) = 0,665$ ,  $p = 0,58$ ). Kas irisin değerlerinde ise grupların birbiri ile karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel anlamlılık bulundu ( $F(3,14) = 10,18$ ,  $p = 0,0008$ ). Grup SK'ya göre grup SL'de ( $p = 0,001$ ), grup Eg'de ( $p = 0,01$ ) ve EgL'de ( $p = 0,001$ ) anlamlı olarak kas irisin seviyeleri arttı (Şekil 20).

**Tablo 3.** Grupların biyokimyasal ölçümlerin ortalamaları ve standart deviasyonları.

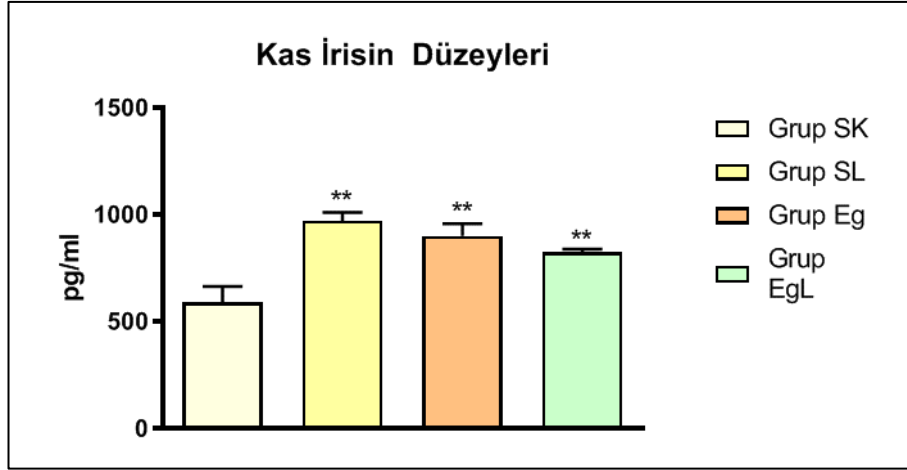
<i>Değerlendirmeler</i>	<b>Grup SK</b>	<b>Grup SL</b>	<b>Grup EG</b>	<b>Grup EGL</b>
	<b>Ort± SD</b>	<b>Ort± SD</b>	<b>Ort± SD</b>	<b>Ort± SD</b>
Utrofin (ng/ml)	0,586 ± 0,02	0,573 ± 0,03	0,633 ± 0,07	0,683 ± 0,07
Serum İrisin (pg/ml)	124,3 ± 1,73	121,2 ± 2,54	124,8 ± 2,22	123,8 ± 6,58
Kas irisin (pg/ml)	588,6 ± 148,2	970,0 ± 79,68	900,1 ± 127,5	824,6 ± 31,28

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT*



**Şekil 19.** Grupların serum irisin düzeyleri.

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test.*

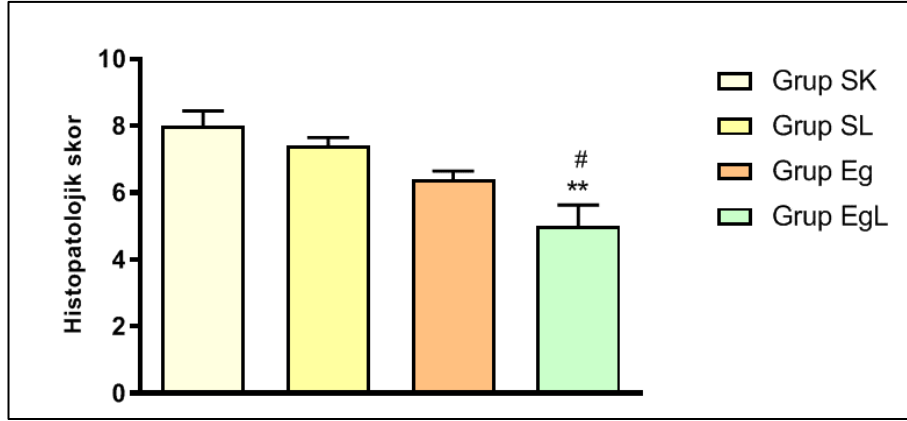


**Şekil 20.** Grupların kas irisin düzeyleri

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test, \*\*p <0,001, grup SK'ya göre anlamlılık.*

#### 4.5 Histopatolojik Değerlendirme

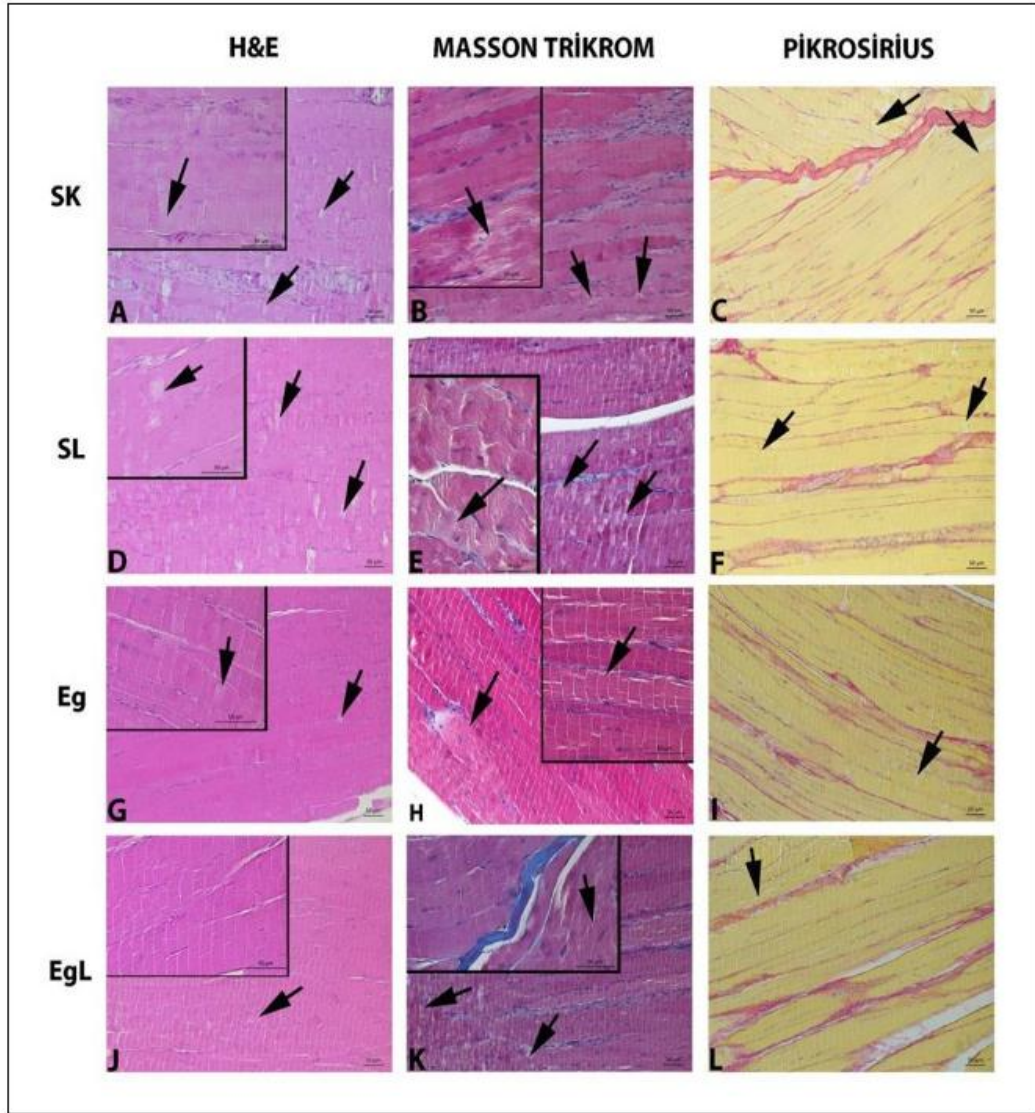
Gastroknemius kas dokusunun dejenerasyon ve inflamasyonu belirten lökosit infiltrasyonu ile vazokonjeksiyon skorlarının birleştirildiği histolojik skor sonuçlarında deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulundu ( $F(3, 16) = 1,846$ ,  $p = 0,17$ , Şekil 21). Grup EgL'nin histopatolojik skoru SK ( $p = 0,004$ ) ve SL ( $p = 0,017$ ) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (Şekil 21).



**Şekil 21. Deney gruplarının gastroknemius kası histopatolojik skor analiz grafiği.**

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test, \*\* $p < 0,01$ , grup SK'ya göre anlamlılık; #  $p < 0,05$ , grup SL'ye göre anlamlılık.*

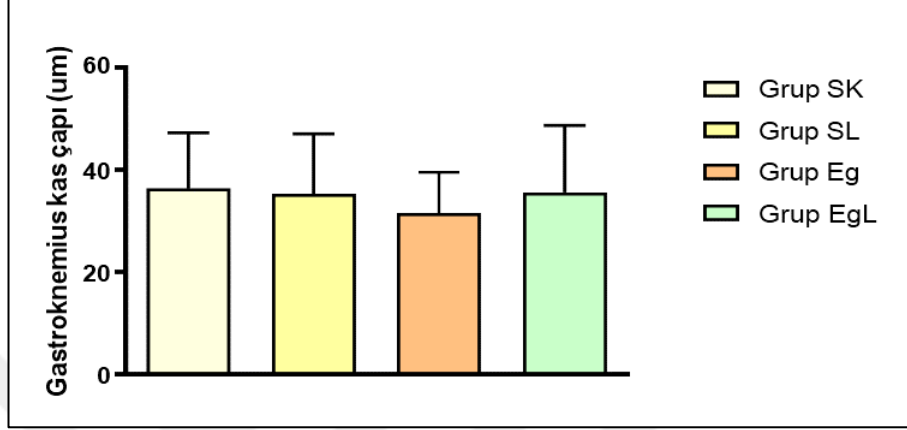
Gastroknemius kası histopatolojik inceleme için kullanılan boyaların gösterimi Şekil 22'de gösterilmektedir. SK grubunda gastroknemius kas morfolojisinde dejenerasyon, lökosit infiltrasyonu ve vazokonjesyon daha fazla gözlenirken (şekil 22 A-C) SL (Şekil 22 D-F) ve Eg (Şekil 22 G-I) gruplarında SK grubuna nazaran daha az histopatolojik hasar gözlendi. EgL grubunda ise diğer deney grupları ile karşılaştırıldığında morfolojik hasar daha azdı (Şekil 22 J-L).



**Şekil 22.** Gastroknemius kası histopatolojik inceleme için kullanılan boyaların gösterimi.

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, (A-C), Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT; (D-F), Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT; (G-I), Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare; (J-L), Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Ok: dejenere kas lifi (A-J: H&E, B-K: Masson trikrom, C-L: Picrosirius, Parafin kesit). (x400 büyütme alanında bakılmıştır.)*

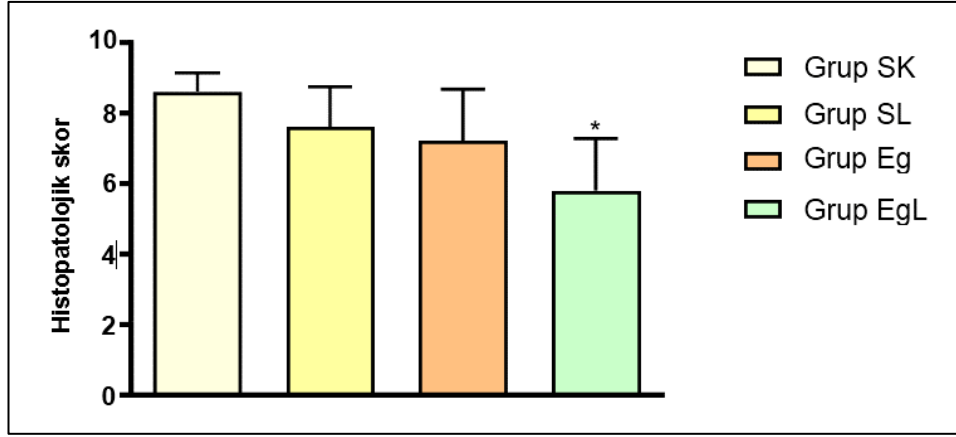
Gastroknemius kası örnekleri çap parametreleri bazında istatistiksel olarak analiz edilmiş ve anlamlı olarak fark gösterilememiştir ( $F(3, 194) = 1,923, p = 0,12$ ) (Şekil 23).



**Şekil 23.** Gastroknemius kası çap ölçümleri.

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test*

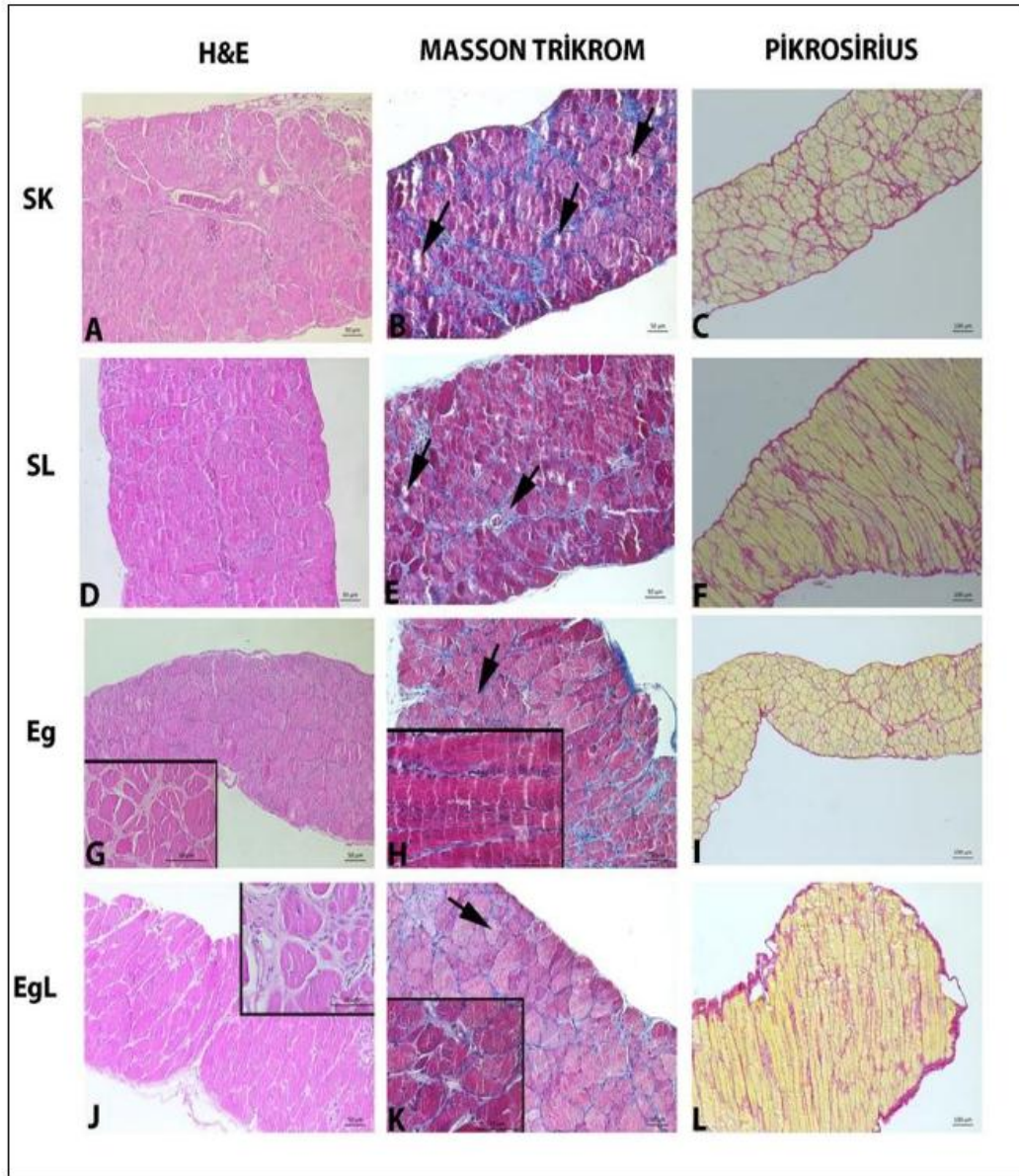
Diyafram kas dokusunun dejenarasyon ve inflamasyonu belirten lökosit infiltrasyonu ile vazokonjeksiyon skorlarının birleştirildiği histolojik skor sonuçlarında deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulundu ( $F(3, 16) = 4,489, p = 0,01$ ). Deney grupları arasında, EgL grubuna ait örneklerde histopatolojik parametreler bazında SK grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ( $p = 0,022$ ) bir skor düşüşü gözlemlendi (Şekil 24).



**Şekil 24.** Deney gruplarının diyafram dokusu histopatolojik skor analiz grafiği.

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test, \* $p < 0,05$ , grup SK'ya göre anlamlılık*

Diyafram kası histopatolojik inceleme için kullanılan boyaların gösterimi Şekil 25'te gösterilmektedir Sedanter kontrol (Şekil 25 A-C) grubunda diyafram dokusunda kas liflerinde dejenerasyon daha fazla gözlenirken, SL (Şekil 25 D-F) ve Eg (Şekil 25 G-I) gruplarında SK grubuna nazaran daha az histopatolojik hasar gözlemlendi. EgL grubunda ise diğer deney grupları ile karşılaştırıldığında morfolojik hasar daha azdı (Şekil 25 J-L).

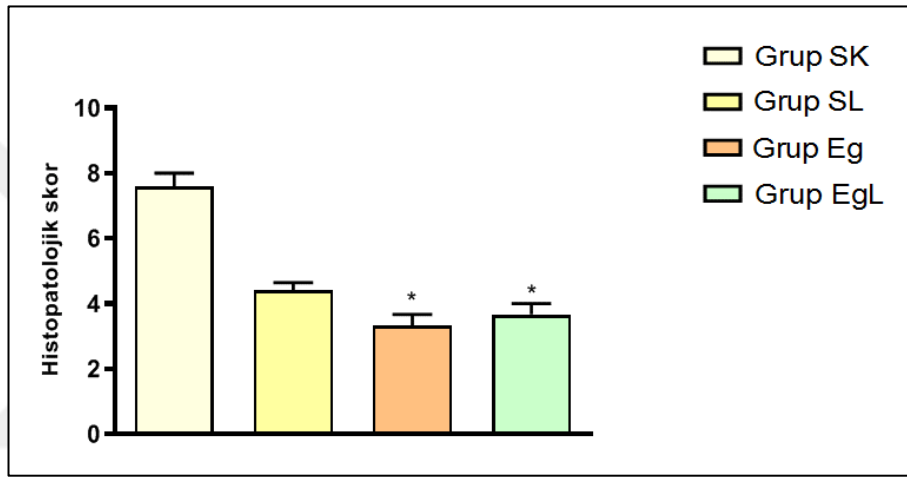


**Şekil 25.** Diyafram kası histopatolojik inceleme için kullanılan boyaların gösterimi.

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, (A-C), Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT; (D-F), Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT; (G-I), Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare; (J-L), Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Ok: dejenere kas lifi (A-J: H&E, B-K: Masson trikrom, C-L: Pikrosirius, Parafin kesit). (x400 büyütme alanında bakılmıştır.)*

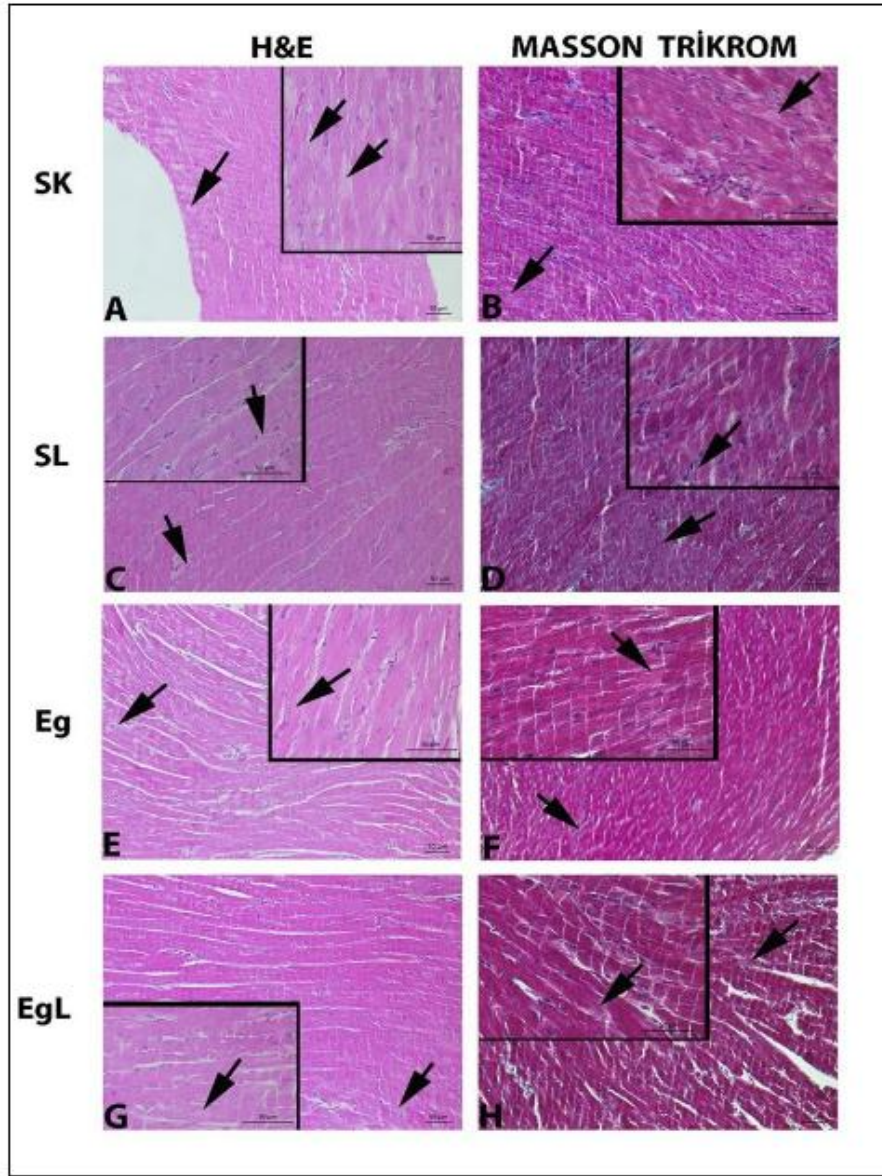
Kalp kas dokusunun dejenarasyon ve inflamasyonu belirten lökosit infiltrasyonu ile vazokonjeksiyon skorlarının birleştirildiği histolojik skor sonuçlarında deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulundu ( $F(3, 16) = 9,846, p = 0,0006$ ). Deney grupları arasında, Eg ( $p = 0,0179$ ) ve EgL ( $p = 0,018$ ) grubuna ait örneklerde histopatolojik parametreler bazında SK grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel

olarak anlamlı bir skor düşüşü gözlemlendi. (Şekil 26). Kalp kası histopatolojik inceleme için kullanılan boyaların gösterimi Şekil 26'da gösterilmektedir SK (Şekil 27A-B) grubunda kalp dokusunda kas liflerinde dejenerasyon diğer deney grupları ile karşılaştırıldığında daha fazlaydı, SL (Şekil 27 C-D) ve Eg (Şekil 27 E-F) gruplarında kas morfolojisinde SK grubuna nazaran iyileşme gözlemlendi. EgL grubunda ise morfolojik hasarın çalışmadaki tüm diğer deney grupları arasında daha az olduğu gözlemlendi (Şekil 27 G-H).



**Şekil 26.** Deney gruplarının kalp dokusu histopatolojik skor analiz grafiği.

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test, \* $p < 0,05$ , grup SK'ya göre anlamlılık.*

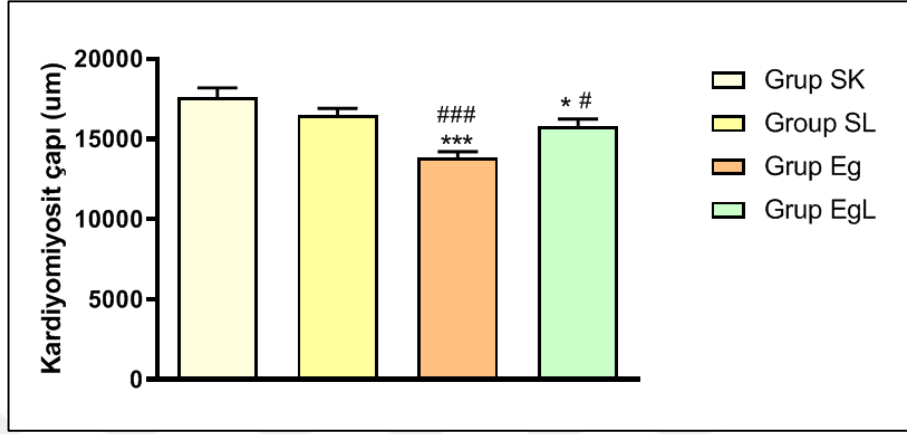


**Şekil 27.** Kalp kası histopatolojik inceleme için kullanılan boyaların gösterimi.

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, (A ve B), Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT; (C ve D), Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT; (E ve F), Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare; (G ve H), Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Ok: dejenere kas lifi (A-G: H&E, B-H: Masson trikrom, Parafin kesit). (x400 büyütme alanında bakılmıştır.)*

Kalp kası örnekleri çap parametreleri bazında istatistiksel olarak analiz edildi ve anlamlı olarak fark gösterdi ( $F(3, 203) = 12,05, p < 0,001$ ). Deney grupları arasında, Eg ( $p < 0,001$ ) ve EgL ( $p = 0,037$ ) grubuna ait örneklerde kardiyomiyosit çap ölçümleri bazında SK grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma belirlendi (Şekil 28). Ayrıca deney grupları arasında Eg ( $p < 0,001$ ) ve EgL ( $p < 0,001$ )

grubuna ait örneklerde kardiyomiyosit çap ölçümleri bazında SL grubu ile karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak azalma gözlemlenmiştir (Şekil 28).



**Şekil 28.** Kalp kası kardiyomiyosit çapı ölçümleri.

*LLLT, Düşük dereceli lazer tedavisi, Grup SK: Sedanter mdx fare ve plasebo LLLT, Grup SL: Sedanter mdx fare ve LLLT, Grup Eg: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare, Grup EgL: 30 dk yüzme egzersizi yapan mdx fare ve LLLT; Tek Yönlü Anova, Tukey-Kramer Post-Hoc Test, \*\*\* $p < 0,001$ , grup SK'ya göre anlamlılık; #  $p < 0,05$ , ###  $p < 0,001$ , grup SL'ye göre anlamlılık.*

## 5 TARTIŞMA

Musküler distrofiler içerisinde en sık gözlenen DMD erken çocukluk çağında başlayan kas fonksiyon kaybı hastalığı olup X kromozomuna bağlı genetik bir bozukluktur. Bu bireyler için henüz kesin bir tedavi yöntemi bulunamamıştır. Düşük ve orta dereceli aerobik egzersizin yararlı olabileceği belirtilmektedir (3). Düşük dereceli lazer tedavisinin, DMD semptomlarının tedavisinde yeni ve umut verici bir terapötik araç olarak kullanılabileceği, egzersizin olası yan etkilerinde etkili olabileceği düşünülmektedir (147). DMD’de düzenli egzersizin LLLT tedavisi ile kombine etkisi konusunda bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu nedenle mevcut çalışmamızda; mdx fare modelinde faydalı etkileri gösterilen yüzme egzersizlerinin olası yan etkilerini azaltmak veya faydasını artırmak için LLLT tedavisi ile birlikte uygulanmasının veya tek tek uygulanmasının kas dejenerasyonu, oksidatif stres ve utrofin proteini ile irisin peptidi üzerine olan etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Mevcut çalışmada sedanter ve LLLT grubunda sedanter kontrole göre sadece irisin seviyelerinin arttığı görülürken, egzersiz gruplarının her ikisinde total oksidan kapasite (dolayısıyla OSI’nin de), kalp kası histopatolojik skorlarının azaldığı ve irisin seviyelerinin sedanter kontrole göre arttığı belirlendi. Ayrıca, egzersiz ve LLLT uygulamasının birlikte uygulandığı grupta ek olarak rotarod, utrofin seviyelerinde artma, kas ve diyafram kası histopatolojik skorlarında azalma görülmüştür.

Mdx fare en yaygın kullanılan DMD fare modelidir (5). Mdx fare, artmış kas hasarı ve zayıflığının olduğu hafif bir DMD formudur ve hastalardaki DMD semptomlarına kıyasla hafif bir tutulum gösterirler (105,107). DMD hastaları ile karşılaştırıldığında, mdx farelerinde progresif kas hasarı daha azdır ve kas dokusunda daha az yağ ve yağ dokusuna dönüşüm görülür (148,149). Mdx fareler daha 3 haftalık iken musküler nekrozun başladığı gösterilmiştir (150). Literatüre göre erken yaşta kas gelişiminin arttırılması ve olan kas kuvvetinin korunması amacı ile fareler 8 haftalıkken deneye başlanmıştır. Deney sonunda henüz 16 haftalık olan farelerin de literatürde hem mdx fare olması hem de yaşam süresi bakımından kıyaslandığında insan DMD hastalarına göre daha az tutulum gösterdiği bildirilmektedir (5).

Düşük dereceli lazer tedavisi, genellikle ortalama 10 mW-500 mW çıkış aralığına sahip bir sınıf 3B lazer cihazı kullanılarak terapötik amaçlar için ışığın uygulanmasıdır (17). Günümüze kadar lazer tedavisinin doku yenilenmesini desteklediği, iltihabı azalttığı ve ağrıyı hafiflettiğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (18,19). Yapılan çalışmalar LLLT'nin Prostaglandin E2 (PGE2), Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF $\alpha$ ), Interlokin 1 Beta (IL-1b) ve doku plazminojen aktivatörü dahil enflamatuvar belirteçlerin salınımını değiştirdiğini gösterirken aynı zamanda ödem ve hemorajik formasyon, nekroz, nötrofil hücre akımı, makrofajlar, lenfositler ve nötrofillerin aktivitesi dahil olmak üzere inflamatuvar sürecin çeşitli yönlerini modüle ettiği gösterilmiştir (2). İskelet kası yorgunluğunu yönetmek ve iskelet kası iyileşmesini kolaylaştırmak için LLLT kullanımı ise yeni bir araştırma alanıdır. Literatür de bu konuda yapılan çalışmalarda LLLT'nin hücre mitokondrilerinde fotokimyasal ve fotofiziksel olayları uyararak hücrel enerji metabolizması gibi hareket ettiği belirlenmiştir. Ayrıca LLLT kasta; mitokondriyal membran potansiyelini (151) ve solunum zincirinde enzim aktivitesini artırır (122,152) Yapısal değişiklik, daha küçük ve komşu mitokondrilerin zarlarının birleşmesi yoluyla dev mitokondri oluşumunu içerir (153). Bu değişiklikler mitokondrinin hücrelere daha yüksek düzeyde solunum ve ATP sağlmasına olanak tanır (154-157).

LLLT'nin kas hasarı ve iyileşmesini artırmasının nedeni olarak kas dokusunun mitokondri yönünden zengin olması, mitokondrinin başlıca fotoalıcılar olması ve mitokondride biraz önce bahsettiğimiz değişiklikleri oluşturması örnek gösterilebilir. Ayrıca LLLT'nin kök hücreleri ve progenitör hücreleri uyarma yeteneği, kas uydu hücrelerinin LLLT'ye iyi yanıt verebileceği ve kas onarımına yardımcı olabileceği anlamına gelir. LLLT'nin iltihabı azaltma ve oksidatif stresi azaltma yeteneği, kas yorgunluğu ve yaralanma durumlarında da faydalıdır (147). Fakat mevcut çalışmada sadece lazer uygulamasının gastroknemius, diyafram ve kalp kasında kas dejenerasyonu ve lökosit infiltrasyonu ile vazokonjesyon (enflamasyon değerlendirmeleri) değerlendiren histopatolojik skorda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik mdx fare modelinde oluşturamamıştır. Egzersiz yapan gruba LLLT eklendiğinde ise bu durum değişerek anlamlı bir azalma meydana getirdiği görülmüştür.

Düşük seviye lazer tedavisinin mdx fare modelinde iskelet kası üzerine yaptığı değişikliklerle ilgili olarak literatürde birkaç çalışma bulunmaktadır. Oron ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmalarında sekiz yeni doğan mdx farede Ga-Al-de diod LLLT (810 nm), 10 mW/cm bir güç yoğunluğu ile uygulanmıştır. Doğumdan 1 hafta sonra başlayarak 4 ardışık hafta boyunca haftada bir kez LLLT uygulanmıştır. Sonuçta doğum sonrası gelişim sırasında mdx farelerine uygulanan LLLT'nin, bu farelerde rejeneratif kapasitenin indüklenmesinde ve dejeneratif kas odaklarının azaltılmasında önemli bir faydalı etkiye sahip olabileceğini göstermiştir (20). Yine Macedo ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları çalışmalarında; mdx iskelet kası hücrelerinin primer kültürleri LLLT ile 5 J / cm<sup>2</sup> akışta 830 nm dalga boyu ile sadece bir kez ışınlandı ve 24 ve 48 saat sonra analiz edilmiş sonuç olarak inflamasyon ve oksidatif stres belirteçlerinde azalma ve rejenerasyon seviyesinde artma görülmüştür (22). Leal-Junior ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada 6 haftalık mdx farelere 14 hafta boyunca haftada 5 kez tibialis anterior kasının üstündeki bir noktaya LLLT (904 nm, 15 mW, 700 Hz, 1 J) veya plasebo LLLT ile tedavi yapılmış ve LLLT'nin TNF-a, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 ve Prostaglandin Endoperoksit Sentaz 2 (COX-2) dahil olmak üzere çeşitli enflamatuar belirteçlerin mRNA gen ekspresyonunu azalttığını bulmuştur (17). Ayrıca, KK aktivitesi plasebo-kontrol grubuna göre LLLT grubunda anlamlı olarak daha düşük çıkmıştır. Bu çalışmalarda görülen anlamlı farklılık bizim çalışmamızda görülmemiştir. Bunun nedeni olarak üreticinin kas üzerine etkili olduğunu bildirdiği gücü kullanmamıza rağmen lazerin gücünün (Polaris Sonda Puntale IR 400 mW / 808 nm) diğer çalışmalardaki güçlere göre biraz daha düşük olmasından kaynaklanabileceğini öngörmekteyiz. Bu durum tezimizin bir kısıtlılığını oluşturmaktadır.

Duchenne hastalığına sahip çocukların tedavisinde egzersiz uygulamaları önemli bir yer tutar. Sağlıklı insanlarda egzersizin faydaları bilinse de, musküler distrofi bireylerde tedavi edici etkisinin olup olmadığı ve kas dokusuna zarar verip vermediği halen araştırılmaktadır. DMD'li çocuklarda egzersizin tipi, frekansı, şiddeti ve süresi ile ilgili bilgiler yetersizdir (4). Düzenli fiziksel egzersiz kas protein sentezini ve mitokondriyal biyogenezi uyarır (11). Bu nedenle egzersiz, kas gücünü korumak ve kontraktürleri önlemek için DMD tedavisi olarak önerilmektedir (12,13). Ancak bu

öneri tümüyle kabul edilmemiştir, çünkü egzersizin distrofik kaslara zarar verebildiği de bildirilmektedir (14). Zorlayıcı aktiviteler, maksimal dirençli ve eksantrik egzersizler kas harabiyetini arttır (1). Bu durumu yaratan distrofin eksikliği olan kasları egzersize karşı savunmasız hale getiren beş mekanizma Markert ve arkadaşlarının yaptığı derlemede belirtilmiştir. Bunlar; sarkolemmanın zayıflaması, artan kalsiyum akışı, oksidatif stres, tekrarlayan kas iskemisi ve bağışıklık sisteminin sınırlarının, hücrelerinin çevre dokulara anormal sinyal vermesidir (151). Aerobik egzersizin ise DMD olan çocuklarda kas gücünü arttırmak ve kontraktürleri önlemek için kullanıldığı görülmektedir. Özellikle düşük-orta şiddetli aerobik egzersizlerin yararlı olabileceği literatürde bildirilmektedir (1,3).

Hyzewicz ve arkadaşları 2015 yılında DMD'li olan hayvanlar ve insanlarda yapılan egzersiz çalışmalarını derlemişlerdir. Derlemede belirtilen çalışmalarda mdx fare ile yapılan 57 çalışmanın 37'si egzersizin olumsuz etkilerini, 15'i sadece faydalı etkilerini ve 5'i hem olumsuz hem de olumlu etkilerini bildirmiştir (4). Mdx fareler ile yapılan egzersiz çalışmalarının üç amaçla yapıldığı görülmektedir. İlk amaç farelerin fiziksel kapasitelerinin değerlendirilmesi olurken, ikinci amaç bir ilacın etkilerini değerlendirmeden önce fenotipin kötüleşmesi için yüksek derecede egzersiz yapmaktır. Üçüncü amaç ise egzersizin distrofik kaslar üzerindeki etkilerinin araştırılmasıdır. Egzersiz eğitimi modellerinde farklı tipte egzersiz çeşitleri denenmiştir. Bunlar arasında kullanılan en hafif yöntemler arasında yüzme, gönüllü tekerlek koşusu, rotarod veya düşük hızlı koşu bandı (<9 m/dk.) bulunmaktadır. En zor olanlarda yüksek hızlı koşu bandı (>12 m/dk.) veya yokuş aşağı koşular kullanılmıştır. Altı ve sekiz haftalık mdx fareleri kullanan kronik egzersiz çalışmalarında, bir saat boyunca 23 m/dk'da 7° eğimde (10 hafta) yokuş aşağı koşturduklarında MAPK sinyal yollarının aşağı çekilerek proteinlerin aşırı fosforile olduğunu gösterilmiştir (158,159). Bu protokol aynı zamanda bağışıklık hücrelerinin hücre içine sızmasına, fibroze ve yağ dokularının iskelet kası ve kalbe birikmesine neden olmuştur. Buna karşılık, düşük yoğunluklu antrenman faydalı olarak gözükmektedir. Mitokondriyal ve kas farklılaşması genlerinin ekspresyonu, 4-8 haftalık hayvanlarda gönüllü tekerlek çalışmasından sonra arttığı gösterilmiştir (160,161). Genç mdx farelerde düşük yoğunluklu yüzme ve koşma egzersizlerinin tip

IIb ve tip IIa kas liflerinin, tip I kaslara geçişi uyardığı gösterilmiştir (15,16). Matsakas ve arkadaşlarının 2013'te yaptığı 4 haftalık farelerde düşük yoğunluklu yüzme çalışması sonrasında hem tip 1 hem de tip 2 tip iskelet kasında sarkoglikan ekspresyonu gösterilmiştir (15). Kontrol hayvanlarla ve mdx farelerin karşılaştırılmasında; düşük yoğunluklu yüzme egzersizinin mdx kas fibrillerinde daha sarkoglikan seviyelerini gösterdiği bildirilmiştir (162). Bu gözlem, mdx farelerinin kaslarında, hipoksinin kontrol hayvanlarından daha şiddetli olması ile açıklanabilir. Çünkü HIF-1'in uyarılması, MAPK sinyal yolu yoluyla egzersize adaptasyonu başlatır (15).

Yüzme egzersizinin Bentham ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Maksimal oksijen tüketiminin (VO<sub>2</sub>max) %60'ına denk geldiği ve orta dereceli aerobik egzersiz olarak tanımlandığı da belirtilmektedir (144). Bu nedenle mevcut çalışmada yüzme egzersizi kullanıldı ve fenotopi kötüleştirmeyen tam tersine egzersizin distrofik kaslar üzerindeki etkilerini araştırmak için kullanılan yüzme egzersizi 30 dk boyunca uygulandı. Literatüre baktığımızda mdx fareler ile farklı yaşlarda ve farklı düzeylerde çalışılmış yüzme egzersizi çalışması görülmektedir. Matsakas ve arkadaşlarının 2013 yılında 6-8 haftalık erkek mdx fareler ile yaptığı çalışmada farelere her gün 30 dk yüzdürülmüş bunun sonucunda çalışmamızın tersine KK seviyelerin arttığı görülmesine (15) rağmen çoğu çalışma da çalışmamıza benzer şekilde KK seviyelerinde bir farklılık belirlenmemiştir (3,4). Hyzewicz ve arkadaşları 2015 yılında yayınladıkları çalışmada 4 haftalık erkek mdx fareleri 4 hafta boyunca haftada 4 gün olmak üzere günde 30 dk yüzme egzersizine tabi tutmuşlar ve çalışmamıza benzer şekilde KK seviyelerinin gruplar arasında değişmediğini göstermişlerdir (4). Ek olarak çalışmalarda ve çalışmamızda görülen KK düzeyinin artmaması kullandığımız egzersiz ve LLLT tedavisinin kasa bir hasar vermediğini bize gösterebilir.

Hyzewicz ve arkadaşları çalışmalarında 4 haftalık mdx farelere 4 hafta boyunca yüzme egzersizi çalıştırdıklarında hayvanların kavrama gücünün arttığını ve kontraksiyonda artış gördüklerini belirtmişlerdir (4). Wineinger ve arkadaşları 4 haftalık mdx fareleri 56 hafta boyunca günde 30 dk yüzdürmüş ve kasta yorgunluğun azaldığı sonucuna varmışlardır (163). Hayes ve arkadaşlarının 1993 yılında yaptıkları

çalışmada 5 haftalık mdx fareleri 15 hafta boyunca hergün yüzme süresini 5 dk arttırarak toplamda 2 saat yüzdürme yaptıkları çalışmada kasın yorgunluk direncinde yükselme gözlenirken (164). Aynı grubun 1998 yılında 96 haftalık farelerle 10 hafta boyunca yaptığı çalışmada fareler yorulana kadar yüzdürülmüş ve kaslarda göreceli olarak yorgunluk gözlenmiştir (165). Mevcut çalışmada ise egzersiz yapılan gruplarda kavrama gücünü belirten asma testlerinde artış görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmedi. Sadece lazer ve egzersizin birlikte kullanıldığı grupta denge ile koordinasyon gerektiren ve kas gücünü de ölçen rotarod testi istatistiksel olarak sedanter kontrol grubundaki hayvanlara göre daha fazla çıkmıştır. Ayrıca mevcut çalışmada Zelikovich ve arkadaşlarının çalışmalarına (3) benzer şekilde iskelet kası çapında bir değişiklik görülmemiştir. Bu durum da kas gücü testlerinin bazılarında neden anlamlılık çıkmadığını bize açıklayabilir.

Hem insan DMD hem de mdx fare kası çalışmaları, lipid, protein ve DNA oksidatif hasarının (166,167) ve daha yüksek antioksidan mRNA seviyelerinin ve enzim aktivitelerinin (167) belirteçlerinin arttığını bildirmektedir. (168). İskelet kasında distrofinin yokluğu, kası serbest radikal kaynaklı yaralanmaya normal kasa göre daha duyarlı hale getirir (169). Ayrıca, düşük distrofin içeriğinin daha yüksek kas protein oksidasyonuna neden olduğu oksidatif hasara duyarlılık ile distrofin ekspresyonu arasında negatif bir ilişki vardır. (170). Dolayısıyla oksidatif stres mdx kasının patogenezinde rol oynar (167,168) bu nedenle oksidatif stresi azaltmak önemlidir.

Egzersizin oksidatif stres üzerine olan etkilerine bakıldığında 2013 yılında Baltgalvis ve arkadaşlarının 12 haftalık erkek mdx fareler ile yaptığı düşük yoğunluklu egzersizin oksidatif stres kapasitesini iyileştirebileceği bulunmuştur (160). Hyzewicz ve arkadaşları 2016 yılında yayınladıkları çalışmada 4 hafta boyunca günde bir kez 30 dakika düşük yoğunluklu yüzmenin inflamasyonu ve oksidatif stresi azalttığı göstermişlerdir (165). Hayes ve arkadaşlarının 1993'te erkek mdx farelerle 15 hafta boyunca günde 2 saat ve haftada 5 gün yapmış oldukları yoğun programda dahi oksidatif kapasitenin iyileştirilebilir olduğu gösterilmiştir (164). Orta dereceli egzersiz eğitimi altında, kuadriseps kasından izole edilen mitokondri tarafından hidrojen

peroksit üretiminin, sedanter mdx farelere kıyasla egzersiz yapan mdx farelerde daha düşük olduğunu gösterilmiştir (170). Bu durum egzersizin oksidatif stresi azaltmasının bir sebebi olarak görülebilir. Ek olarak, aerobik egzersiz; oksidatif stresinde rol oynadığı yaşlanma sırasında, mitokondriyal biyogenez ve metabolizmanın düzenlenmesinde rol oynayan ana transkripsiyonel koaktivatör olan PGC1 $\alpha$  yolundaki (171) azalmayı da telafi eder. Mevcut çalışmamızda da literatüre uyumlu olarak kas ve serumda oksidatif stres indeksi düşük bulundu. Fakat bu düşüklüğe sadece TOS'daki azalma yol açtı. Çünkü kas ile serum TAS düzeylerinde anlamlı bir fark gözlenmezken serum TOS düzeylerine bakıldığında egzersiz gruplarının (Eg ve EgL) sedanter kontrol grubuna göre azaldığı belirlendi. Gastroknemius kası TOS seviyesi egzersiz gruplarında her iki sedanter gruba göre (SK ve SL) azalma gösterdi. Antioksidan enzim aktivitelerinde ve protein içeriğinde önemli bir artış olmadan mdx farelerinde düşük yoğunluklu egzersiz eğitimini takiben daha düşük serbest radikal hasarı belirteçlerinin bulunması, mdx farelerinde bu egzersiz yoğunluğunun ardından reaktif oksijen üretiminin daha düşük olduğunu bize göstermektedir (170).

Macedo ve arkadaşlarını 2015 yılında yayınlanan LLLT çalışmalarında distrofin eksikliği olan kas hücrelerinde hücre proliferasyonunu teşvik etme ve oksidatif stres ve inflamasyon sürecini azaltmada LLLT'nin olumlu sonuçlar verdiğini gözlemlemişlerdir (22). Ayrıca Silva ve arkadaşlarının 4 haftalık erkek mdx fareler ile yaptıkları çalışmada LLLT ile tedavi edilen mdx fareleri, bir koşu bandında zorlu yüksek yoğunluklu egzersize tabi tutulan mdx farelerine göre önemli ölçüde daha düşük KK seviyeleri ve oksidatif stres gösterdiği bulunmuştur (23). Biz çalışmamızda sadece lazer uygulanan gruplarında bu verileri göremezken egzersiz gruplarında oksidatif stres indeksinin sedanter gruplara göre azaldığını gördük. Bu azalma egzersiz eğitimi ile ilişkili bir veri olarak gözükmektedir.

Fiziksel egzersizden sonra LLLT kullanımı ilgili yapılan çalışmalarda aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur. Fiziksel egzersizden sonra LLLT kullanımı mitokondriyal ve metabolik disfonksiyonu düzeltir. Bunun yaparken aynı zamanda kas kasılması ve reaktif oksijen/nitrojen metabolitlerinden kaynaklanan mekanik ve metabolik stresten üretilen mikrolezyonları onarmayı da amaçlar. Aerobik egzersizinin mitokondri

üzerindeki olumlu etkilerine LLLT eklendiğinde, uyum süreci arttırılabilir (147). Dev ve daha işlevsel mitokondri (daha yüksek enzim aktivitesi), bu egzersizler sırasında yüksek düzeyde hücre solunum ve ATP sentezi (122,156,157) sağlayabilir, bu da oksijen tüketimini artırır (126) ve kas yorgunluğunu azaltır (155).

Ayrıca laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyini de etkileyebilir. Laktat dehidrogenaz, vücutta hemen her hücrede tespit edilebilen ve şekerden enerji elde etmek için kullanılan bir tür enzimdir. Çoğunlukla hasar durumlarda düzeyi artar. Düşük dereceli lazer tedavisinin fiziksel egzersiz sırasında LDH aktivitesini modüle ettiği gösterilmiştir (126,155,172,173). Bu çalışmalarda mitokondride yetersiz ATP sentezi ve oksijen arzının yavaş olduğu süreçlerde bile LLLT'nin LDH aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Ek olarak LLLT, birincil foto alıcı olarak sitokrom c oksidazı (CCO) kullanır ve bu etkileşimin ana etkileri, artan ATP sentezi ve artan mitokondriyal fonksiyondur (122,152,156,157). Işık, mitokondri, ROS ve reaktif nitrit metabolitleri arasındaki ilişki, ROS'un azalmasını ve nitrik oksit-sitokrom c oksidazın (NO-CCO) foto-ayırışmasını içerir ve mitokondride oksijen tüketiminin ve ATP sentezinin restorasyonuna katkıda bulunur (122,151-153,156,157,174-177). Bu şekilde egzersiz sırasında mitokondriyal fonksiyonu geliştirerek kas yorgunluğu geciktirir ve kas performansını artırır. Mevcut çalışmada egzersiz sonrasında ek olarak uygulanan LLLT tedavisinin rotarod testindeki artma yapması, kas dokusunda utrofin ekspresyonunun artması ve kalp, diyafram ile gastroknemius kasında histopatolojik skoru ve serum ile kastaki oksidatif indeks düşürmesinin sebebi olarak yukarıda yazılan mekanizmalar görülebilir.

Duchenne musküler distrofi, iskelet ve kalp kası liflerinin yapısal bir proteini olan distrofin kaybından kaynaklanır (178) ve vücuttaki distrofinin kaybı, apendiküler ve diyafram kaslarında nekroz ve ilerleyici zayıflık ile sonuçlanır (179,180). DMD'de genellikle diyafram zayıflığı gözlenir (180). DMD hastalarının %90'ından fazlası kardiyomiyopati gösterir ve yaklaşık %10-20'si kalp yetmezliğinden ölür (181-184). Fiziksel egzersizin p38 MAPK, JNK1, ERK1/2 veya mdx kalp kasındaki kalsinörin sinyalleşmesini (158) aktive ettiği, kalp fibrozunu arttırdığı (173) veya kalp fonksiyonunu bozarak kardiyomiyopati geliştirdiği (185) daha önce gösterilmiştir.

Kronik, orta yoğunlukta egzersizin normal tip farelerde kardiyak özellikler için faydalı olarak tanımlanmıştır (186-190). Barbin ve arkadaşlarının çalışmalarında mdx farelere haftada 6 gün bir saat boyunca 8 hafta yüzme egzersizi yapıldığında diyafram ve kalp kası fibrozisinde artma görülmüş, egzersizin bu kaslara zararlı olabileceği düşünülmüştür (189). Zelikovich ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada haftada üç gün düşük ve orta düzey aerobik egzersiz mdx farelere yapıldığında iskelet kası ve solunum fonksiyonunda iyileşme, distrofik kalbin elektriksel fonksiyonunu olumsuz etkilemeden kardiyomyopatinin ilerlemesini geciktirme, fibrozu, merkezi çekirdekli lifleri veya serum KK'sını önemli ölçüde artırmadan distrofik kalp, diyafram ve kas fonksiyonunda iyileşme sağladığını belirtmişlerdir. Ek olarak submaksimal egzersizin, kas distrofisi ile ilişkili hemodinamik ve metabolik programlamayı olumlu yönde değiştirebileceğini ve bu gelişmenin, gelişmiş kas ile kalp fonksiyonu ve artan solunum kapasitesi olarak kendini gösterebileceğini belirtmişlerdir (3). Mevcut çalışma da egzersiz yapan her iki grupta kalp histopatolojik skoru anlamlı şekilde azalırken, diyafram ve gastroknemius kasında da histopatolojik skorda (dejenrasyon ve enflamasyon skorları içeren) anlamlı azalma egzersiz ve LLLT'nin birlikte kullanıldığı grupta görülmüştür. Ayrıca egzersiz kalp kası miyosit çaplarında istatistiksel anlamlı şekilde sedanter gruplara göre azalma meydana getirmiştir. Bu durum uyguladığımız egzersizin kardiyomyopati oluşturmadığını da bize göstermektedir.

Utrofin, distrofin proteininin homoloğudur ve fetal kastaki sarkolemma boyunca her yerde bulunmaktadır. (191). Utrofin, geç embriyonik aşamalar sırasında kas zarında distrofin ile aşamalı olarak değiştirilir ve normal yetişkin kastaki miyotendinous ve nöromusküler kavşaklar ve kan damarları ile sınırlıdır (51). Utrofin, normal olarak distrofin (192) ile doldurulan plazma membranına bitişik olan aynı kortikal hücre iskelet alanını kaplar ve farklı moleküler mekanizmalar ile çalışan sadece birkaç fonksiyonla aynı protein komplementini bağlar (55). Nöromusküler bileşkede utrofin asetilkolin reseptörleri ile birlikte lokalize olur ve sinaptik hücre iskeletinin stabilizasyonunda görev alır Bu nedenlerle ve utrofin ile distrofin çok benzer olduğundan, distrofin eksikliği olan kastaki distrofinin yerini alabileceği belirtilmektedir (193). Mdx fare modelinde, utrofin tedavisi uygulanmasının kas fonksiyonunu arttırdığı ve patolojiyi azalttığı bildirilmektedir (64). Bundan dolayı

utrofin ekspresyonunu arttıran terapiler oldukça arzu edilir fakat klinik anlamda yeterli veri henüz elde edilmemiştir.

Literatüre baktığımızda LLLT tedavisinin kastaki utrofin ekspresyonunu inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Egzersizin ise utrofin ekspresyonunu artırabileceği bildirilmektedir. Sekiz haftalık aerobik egzersiz eğitiminden sonra sağlıklı yetişkin insanlarda, utrofin m-RNA'sında %70 oranında artış gösterilmiştir (68). Utrofinin kas rejenarasyonu sırasında arttığı da gösterilmiştir (194). Bildiğimiz kadarı ile egzersiz yapan mdx farelerde kastaki utrofin ekspresyonunun arttığını gösteren sadece bir çalışma bulunmaktadır. Çalışmada mdx farelere 12 hafta boyunca gönüllü tekerlek egzersizi yapılmış ve hayvanların soleus ile kuadriseps kaslarında utrofin proteini artırdığı gösterilmiştir (63). Artan utrofin mekanizması belirlenmemiş olsa da olası bir mekanizma olarak proteinin translasyon düzenlemesi olduğu düşünülmektedir. Önceki raporlar, utrofin protein translasyonunun aerobik egzersiz (194-196) tarafından aktive edilen sinyal yolları tarafından düzenlendiğini göstermektedir. Diğer bir potansiyel mekanizma, utrofin transkripsiyonunu arttıran, peroksizom proliferatörünün aktive ettiği reseptör-gama PGC1 $\alpha$  egzersiz aracılı aktivasyonudur (190). Baltgalvis ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptığı çalışmada kuadrisepsteki PGC1 $\alpha$ 'nın protein içeriğinin değişmediğini söylemişlerdir, fakat veriler gösterilmemiştir (160). Ayrıca bu farelerin plantar fleksör kasları, artan aktivite ve oksidatif metabolik enzimlerin protein içeriğine rağmen hiçbir artış göstermemiştir. Üçüncü bir potansiyel açıklama, bir lif tipi kayması veya tip II kas liflerinin tercihli kaybıdır. Kuadriseps, soleustan daha fazla glikolitik tip II kas lifi içerir ve tip II lifler daha az endojen utrofin içerir (197). Bununla birlikte, bu farelerin plantar fleksör kaslarında lif tipi değişmemiştir. Bu yanıtı açıklamak için daha fazla mekanik çalışmaya ihtiyaç vardır. Mevcut çalışma da kas utrofin düzeyi, egzersiz yapan her iki grupta da artmasına rağmen sadece egzersiz ve LLLT'nin birlikte uygulandığı grupta sedanter gruplara göre anlamlılık göstermiştir. Bu durumun nedeni hakkında LLLT'nin egzersizle birlikte kullanımının yararlı etkileri konusunda daha önce anlattığımız nedenler dışında bir bilgi bulunmamaktadır. Altta yatan mekanizma için daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Ayrıca egzersize ek olarak uygulanan LLLT uygulamasının kas testleri, oksidatif stres ve histopatolojik değerlerdeki

egzersize olan ek yararlı etkisinin utrofin ekspresyonu artırmasından dolayı da olabileceğini de düşünmekteyiz. Fakat bu konuda daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

İrisin ilk olarak 2012'de enerji metabolizması ile ilgili birçok yolda yer alan transkripsiyon kofaktör peroksizom proliferatörü aktive edilmiş PGC1 $\alpha$  kodlayan transgenik farelerin kas hücrelerinden salgılanan bir hormon olarak tanımlanmıştır. Polonya'da yapılan bir çalışmada, irisinin lipopolisakkarit aktifleştirilmiş adipositlerde belirgin anti inflamatuvar aktivitede bulunduğu gösterilmiştir (7). Ayrıca, egzersizin anti inflamatuvar etkisinin plazma irisin artışı ile ilişkilendirilmesi, peptidin bu eylemde de rol oynayabileceğini düşündürmektedir (198). Ancak egzersiz ile irisin arasındaki ilişki oldukça tartışmalıdır (199). İrisinin bir hücre yüzeyi reseptörüne sahip olduğu düşünüldüğü için (henüz tanımlanamamıştır), irisin egzersiz sonrası iskelet kası tarafından salınan diğer salgı miyokinlerine benzer şekilde işlev görebileceğini varsayılmıştır (199). Bostrom ve arkadaşları sadece akut egzersizle değil 10 haftalık dayanıklılık ve direnç egzersizlerinin de dolaşımdaki irisin miktarının yaklaşık 2 kat artırdığını ve bu artışın iskelet kası FNDC5 mRNA ekspresyonundaki artış ile orantılı olduğunu göstermişlerdir (10). Wrann ve arkadaşları yaptıkları çalışmada egzersizin kandaki irisin düzeylerini yükselttiğini ve bu peptidin kan beyin bariyerini geçerek beyin kaynaklı nörotrofik faktör gibi bilişsel fonksiyonlarla ilişkili genlerde ifade artışına neden olduğunu ileri sürmüşlerdir (200). İn vitro olarak irisinin iskelet kası üzerindeki metabolik etkilerini araştıran bir çalışmada irisin aracılı mitokondriyal biyogenez indüksiyonu ve karşılık gelen gen ekspresyonu ile ayrılma yoluyla miyositlerde artan metabolizma gösterilmiştir (201). Yine başka bir invitro çalışmada irisinin, in vitro olarak iskelet kası üzerinde etki ederek, PGC1 $\alpha$ 'nın uyarılması yoluyla artan enerji harcaması ve artan oksidatif metabolizma oluşturduğu gösterilmektedir (199). Ayrıca insanlarda serum irisin seviyelerinin biceps kasının çevre ölçümü ve insulin büyüme faktörü-1 ile pozitif ilişkisi gösterilmiştir (8). Dolayısıyla irisinin kas kütlesini artırmada görevi olabileceği öngörülmüştür. Miyojenik farklılaşma sırasında irisin seviyeleri yükselir ve irisin tedavisi, protein sentez yolunda yer alan p-Erk ekspresyonunun artmasına neden olur (9). Birlikte ele alındığında, bu çalışmalar artan irisin düzeylerinin iskelet kası büyümesini destekleyebileceğine dair ipuçları sağlar

(9). İrisin, dengeyi artan protein sentezine ve azaltılmış protein yıkımına doğru kaydırarak iskelet kası hipertrofisini teşvik eder (9).

DMD'de (hem insan hem de hayvan deneylerinde) egzersizin ve LLLT'nin irisin seviyelerine olan etkisi ile ilgili bir çalışma bildiğimiz kadarı ile literatürde bulunmamaktadır. Bu konuyu içeren yapılmış tek bir çalışma vardır. Reza ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları çalışmada mdx farelere irisinin intraperitoneal olarak uygulanmasının distrofik kasta; kavrama gücünü, kas ağırlığını artırdığını ve fibrotik ile nekrotik doku yüzdesini azalttığını, sarkolemmal stabiliteyi koruduğu göstermişlerdir. Makalede ayrıca, kasın utrofin seviyelerine de bakılmış irisinin utrofin seviyesinde bir artışa neden olmadan bu iyileşmeleri yaptığı öne sürülmüştür (9).

Mevcut çalışmada serum irisin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmaları sonucunda istatistiksel bir anlamlılık belirlenmezken, beklenebileceği gibi egzersiz gruplarının her ikisinde de kas irisin seviyeleri artmıştır. İrisinin mdx fare modelinde yapılan orta dereceli aerobik egzersiz sonrası arttığını gösteren ilk çalışma mevcut çalışmadır. Fakat ilginç olarak sadece LLLT uygulanan grupta gastrocnemius kası irisin seviyesi sedanter kontrol grubuna göre arttığı görülmüştür. İrisin salınmasına yol açan moleküler yolda görevli peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör, PGC1 $\alpha$ 'nin artmasına yol açar o da FNDC5 içeren fibronektin tip III alanının ekspresyonu ile sonuçlanır. FNDC5, Fndc5 geni tarafından kodlanan bir tür transmembran proteindir ve irisin öncüsü olarak bilinir (71). Daha önceki bir çalışmada yakın kızılötesi ışığa maruz kalmanın fare kas hücrelerinde PGC1 $\alpha$  ekspresyonunu yaklaşık %20 oranında arttırdığını gösterilmiştir (202). Dolayısıyla irisinin LLLT ile artması bu nedenle de gelişebilir. Fakat çalışmamızdaki irisin seviyesi LLLT uygulandığında neredeyse iki katına yakın geliştiği için sadece bu sebep olamayabilir. Bu nedenle kas irisin seviyesinde artma görünmesinin uyguladığımız düşük seviyeli lazer ışığının irisin peptidi üzerine soğuk (203) ve sıcak (204) gibi stimule edici bir etkisi olabileceğini bize düşündürmektedir. Ayrıca bu konuda daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Bunun yanı sıra kastaki irisin seviyesini çalışmamızda sadece ELİSA yöntemi ile ölçtük, mRNA'sını veya

protein ifadesini ölçebileceğimiz diğer moleküler yöntemleri kullanamadık. Bu durum çalışmamızın en önemli kısıtlılığını oluşturmaktadır.



## 6 SONUÇ

Sonuç olarak mevcut çalışmada, mdx fare modelinde yüzme egzersizinin uygulanması iskelet kasındaki irisin seviyesini artırırken oksidatif stres seviyelerini, kalp kasındaki dejenerasyonu, enflamasyonu ve kardiyopatiji azalttığı belirlendi. Egzersize ek olarak LLLT uygulandığında ise kas gücü, iskelet kası utrofin seviyeleri arttı ve iskelet ile diyafram kası dejenerasyonu ve enflamasyonunda azalma görüldü. Ayrıca, sadece LLLT uygulamasının iskelet kası irisin düzeyinde artma yaptığı saptandı. Özellikle egzersiz ve LLLT'nin irisin üzerine etkisi ve bu etkilerin mdx fare modelindeki iyileşme parametreleri üzerindeki mekanizmalar üzerine daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

## 7 KAYNAKLAR

1. Karaduman, A., Yılmaz, O.T., Akel, B.S. 2016. Fizyoterapi ve Rehabilitasyon. Ankara: Hipokrat Yayınevi.
2. Satman, İ., Güdük, Ö., & Ertürk, M. Y. N. Nadir Hastalıklar Raporu.
3. Zelikovich, A. S., Quattrocchi, M., Salamone, I. M., Kuntz, N. L., & McNally, E. M. (2019). Moderate exercise improves function and increases adiponectin in the mdx mouse model of muscular dystrophy. *Scientific reports*, 9(1), 5770. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42203-z>
4. Hyzewicz, J., Ruegg, U. T., & Takeda, S. (2015). Comparison of Experimental Protocols of Physical Exercise for mdx Mice and Duchenne Muscular Dystrophy Patients. *Journal of neuromuscular diseases*, 2(4), 325–342. <https://doi.org/10.3233/JND-150106>
5. Aartsma-Rus, A., & van Putten, M. (2014). Assessing functional performance in the mdx mouse model. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (85), 51303. <https://doi.org/10.3791/51303>
6. Guiraud, S., Edwards, B., Squire, S. E., Babbs, A., Shah, N., Berg, A., Chen, H., & Davies, K. E. (2017). Identification of serum protein biomarkers for utrofin based DMD therapy. *Scientific reports*, 7, 43697. <https://doi.org/10.1038/srep43697>
7. Mazur-Bialy A. I. (2017). Irisin acts as a regulator of macrophages host defense. *Life sciences*, 176, 21–25. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.03.011>
8. Huh, J. Y., Panagiotou, G., Mougios, V., Brinkoetter, M., Vamvini, M. T., Schneider, B. E., & Mantzoros, C. S. (2012). FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism: clinical and experimental*, 61(12), 1725–1738. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2012.09.002>.
9. Reza, M. M., Sim, C. M., Subramaniam, N., Ge, X., Sharma, M., Kambadur, R., & McFarlane, C. (2017). Irisin treatment improves healing of dystrophic skeletal muscle. *Oncotarget*, 8(58), 98553–98566. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21636>
10. Boström, P. A., Graham, E. L., Georgiadi, A., & Ma, X. (2013). Impact of exercise on muscle and nonmuscle organs. *IUBMB life*, 65(10), 845–850. <https://doi.org/10.1002/iub.1209>
11. Egan, B., & Zierath, J. R. (2013). Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell metabolism*, 17(2), 162–184. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.12.012>
12. Eagle, M., Baudouin, S. V., Chandler, C., Giddings, D. R., Bullock, R., & Bushby, K. (2002). Survival in Duchenne muscular dystrophy: improvements in life expectancy since 1967 and the impact of home nocturnal ventilation. *Neuromuscular disorders: NMD*, 12(10), 926–929. [https://doi.org/10.1016/s0960-8966\(02\)00140-2](https://doi.org/10.1016/s0960-8966(02)00140-2)
13. Annexstad, E. J., Lund-Petersen, I., & Rasmussen, M. (2014). Duchenne muscular dystrophy. *Tidsskrift for den Norske laegeforening: tidsskrift for praktisk medicin, ny raeke*, 134(14), 1361–1364. <https://doi.org/10.4045/tidsskr.13.0836>

14. Leung, D. G., & Wagner, K. R. (2013). Therapeutic advances in muscular dystrophy. *Annals of neurology*, 74(3), 404–411. <https://doi.org/10.1002/ana.23989>
15. Matsakas, A., Yadav, V., Lorca, S., & Narkar, V. (2013). Muscle ERR $\gamma$  mitigates Duchenne muscular dystrophy via metabolic and angiogenic reprogramming. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 27(10), 4004–4016. <https://doi.org/10.1096/fj.13-228296>
16. Landisch, R. M., Kosir, A. M., Nelson, S. A., Baltgalvis, K. A., & Lowe, D. A. (2008). Adaptive and nonadaptive responses to voluntary wheel running by mdx mice. *Muscle & nerve*, 38(4), 1290–1303. <https://doi.org/10.1002/mus.21141>
17. Leal-Junior, E. C., de Almeida, P., Tomazoni, S. S., de Carvalho, P., Lopes-Martins, R. Á., Frigo, L., Joensen, J., Johnson, M. I., & Bjordal, J. M. (2014). Superpulsed low-level laser therapy protects skeletal muscle of mdx mice against damage, inflammation and morphological changes delaying dystrophy progression. *PloS one*, 9(3), e89453. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089453>
18. Bjordal, J. M., Lopes-Martins, R. A., & Iversen, V. V. (2006). A randomised, placebo controlled trial of low level laser therapy for activated Achilles tendinitis with microdialysis measurement of peritendinous prostaglandin E2 concentrations. *British journal of sports medicine*, 40(1), 76–80. <https://doi.org/10.1136/bjism.2005.020842>
19. Chow, R. T., Johnson, M. I., Lopes-Martins, R. A., & Bjordal, J. M. (2009). Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials. *Lancet (London, England)*, 374(9705), 1897–1908. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61522-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61522-1) SPSS Inc. SPSS for Windows. Version 11.00, Chicago.2007.
20. Oron, A., Oron, U., & Sadeh, M. (2014). Low-level laser therapy during postnatal development modulates degeneration and enhances regeneration processes in the hindlimb muscles of dystrophic mice. *Photomedicine and laser surgery*, 32(11), 606–611. <https://doi.org/10.1089/pho.2014.3757>
21. Li, F. J., Zhang, J. Y., Zeng, X. T., & Guo, Y. (2015). Low-level laser therapy for orthodontic pain: a systematic review. *Lasers in medical science*, 30(6), 1789–1803. <https://doi.org/10.1007/s10103-014-1661-x>
22. Macedo, A. B., Moraes, L. H., Mizobuti, D. S., Fogaça, A. R., Moraes, F., Hermes, T., Pertille, A., & Minatel, E. (2015). Low-Level Laser Therapy (LLLT) in Dystrophin-Deficient Muscle Cells: Effects on Regeneration Capacity, Inflammation Response and Oxidative Stress. *PloS one*, 10(6), e0128567. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128567>
23. da Silva, M. M., Albertini, R., Leal-Junior, E. C., de Tarso Camillo de Carvalho, P., Silva, J. A., Jr, Bussadori, S. K., de Oliveira, L. V., Casarin, C. A., Andrade, E. L., Bocalini, D. S., & Serra, A. J. (2015). Effects of exercise training and photobiomodulation therapy (EXTRAPHOTO) on pain in women with fibromyalgia and temporomandibular disorder: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 16, 252. <https://doi.org/10.1186/s13063-015-0765-3>

24. Günlmez, A., & Gülhis, D. E. D. A. (1999). Nörolojide Moleküler Genetik. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 52(2).
25. Demirci H. Duchenne Müsküler Distrofi Hastalığı Taşıyıcısı Annelerde Nöropsikolojik Profilin incelenmesi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, İstanbul, 2018 (Danışman: Prof. Dr. HHanağası).
26. Cyrulnik, S. E., Fee, R. J., De Vivo, D. C., Goldstein, E., & Hinton, V. J. (2007). Delayed developmental language milestones in children with Duchenne's muscular dystrophy. *The Journal of pediatrics*, 150(5), 474–478. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2006.12.045>
27. Muntoni, F., Torelli, S., & Ferlini, A. (2003). Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes. *The Lancet. Neurology*, 2(12), 731–740. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(03\)00585-4](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(03)00585-4)
28. Wicksell, R. K., Kihlgren, M., Melin, L., & Eeg-Olofsson, O. (2004). Specific cognitive deficits are common in children with Duchenne muscular dystrophy. *Developmental medicine and child neurology*, 46(3), 154–159. <https://doi.org/10.1017/s0012162204000283>
29. Hinton, V. J., De Vivo, D. C., Nereo, N. E., Goldstein, E., & Stern, Y. (2001). Selective deficits in verbal working memory associated with a known genetic etiology: the neuropsychological profile of duchenne muscular dystrophy. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS*, 7(1), 45–54. <https://doi.org/10.1017/s1355617701711058>
30. Perronet, C., & Vaillend, C. (2010). Dystrophins, utrofin, and associated scaffolding complexes: role in mammalian brain and implications for therapeutic strategies. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2010, 849426. <https://doi.org/10.1155/2010/849426>
31. Banks, G. B., Chamberlain, J. S., & Froehner, S. C. (2009). Truncated dystrophins can influence neuromuscular synapse structure. *Molecular and cellular neurosciences*, 40(4), 433–441. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2008.12.011>
32. McGreevy, J. W., Hakim, C. H., McIntosh, M. A., & Duan, D. (2015). Animal models of Duchenne muscular dystrophy: from basic mechanisms to gene therapy. *Disease models & mechanisms*, 8(3), 195–213. <https://doi.org/10.1242/dmm.018424>
33. Nussbaum, R., McInnes, R. R., & Willard, H. F. (2015). *Thompson & Thompson genetics in medicine e-book*. Elsevier Health Sciences.
34. Shieh P. B. (2013). Muscular dystrophies and other genetic myopathies. *Neurologic clinics*, 31(4), 1009–1029. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2013.04.004>
35. van Ruiten, H. J., Straub, V., Bushby, K., & Guglieri, M. (2014). Improving recognition of Duchenne muscular dystrophy: a retrospective case note review. *Archives of disease in childhood*, 99(12), 1074–1077. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2014-306366>
36. Durbeej, M., & Campbell, K. P. (2002). Muscular dystrophies involving the dystrophin-glycoprotein complex: an overview of current mouse models. *Current opinion in genetics & development*, 12(3), 349–361. [https://doi.org/10.1016/s0959-437x\(02\)00309-x](https://doi.org/10.1016/s0959-437x(02)00309-x)
37. Jay, V., & Vajsar, J. (2001). The dystrophy of Duchenne. *Lancet (London, England)*, 357(9255), 550–552. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04052-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04052-6)

38. Fairclough, R. J., Wood, M. J., & Davies, K. E. (2013). Therapy for Duchenne muscular dystrophy: renewed optimism from genetic approaches. *Nature reviews. Genetics*, *14*(6), 373–378. <https://doi.org/10.1038/nrg3460>
39. Lapidos, K. A., Kakkar, R., & McNally, E. M. (2004). The dystrophin glycoprotein complex: signaling strength and integrity for the sarcolemma. *Circulation research*, *94*(8), 1023–1031. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000126574.61061.25>
40. Grady, R. M., Zhou, H., Cunningham, J. M., Henry, M. D., Campbell, K. P., & Sanes, J. R. (2000). Maturation and maintenance of the neuromuscular synapse: genetic evidence for roles of the dystrophin--glycoprotein complex. *Neuron*, *25*(2), 279–293. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80894-6](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80894-6)
41. Bushby, K. M., Hill, A., & Steele, J. G. (1999). Failure of early diagnosis in symptomatic Duchenne muscular dystrophy. *Lancet (London, England)*, *353*(9152), 557–558. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(98\)05279-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(98)05279-9)
42. Rando T. A. (2001). The dystrophin-glycoprotein complex, cellular signaling, and the regulation of cell survival in the muscular dystrophies. *Muscle & nerve*, *24*(12), 1575–1594. <https://doi.org/10.1002/mus.1192>
43. Sussman M. (2002). Duchenne muscular dystrophy. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, *10*(2), 138–151. <https://doi.org/10.5435/00124635-200203000-00009>
44. Sekiguchi, M., Zushida, K., Yoshida, M., Maekawa, M., Kamichi, S., Yoshida, M., Sahara, Y., Yuasa, S., Takeda, S., & Wada, K. (2009). A deficit of brain dystrophin impairs specific amygdala GABAergic transmission and enhances defensive behaviour in mice. *Brain : a journal of neurology*, *132*(Pt 1), 124–135. <https://doi.org/10.1093/brain/awn253>
45. Gillis J. M. (2004). Guérir la myopathie de Duchenne par l'utrofine ? [Utrofin, a way to cure Duchenne muscle dystrophy]. *Medecine sciences : M/S*, *20*(4), 442–447. <https://doi.org/10.1051/medsci/2004204442>
46. Guiraud, S., Edwards, B., Squire, S. E., Babbs, A., Shah, N., Berg, A., Chen, H., & Davies, K. E. (2017). Identification of serum protein biomarkers for utrofin based DMD therapy. *Scientific reports*, *7*, 43697. <https://doi.org/10.1038/srep43697>
47. Tinsley, J. M., Blake, D. J., Roche, A., Fairbrother, U., Riss, J., Byth, B. C., Knight, A. E., Kendrick-Jones, J., Suthers, G. K., & Love, D. R. (1992). Primary structure of dystrophin-related protein. *Nature*, *360*(6404), 591–593. <https://doi.org/10.1038/360591a0>
48. Love, D. R., Hill, D. F., Dickson, G., Spurr, N. K., Byth, B. C., Marsden, R. F., Walsh, F. S., Edwards, Y. H., & Davies, K. E. (1989). An autosomal transcript in skeletal muscle with homology to dystrophin. *Nature*, *339*(6219), 55–58. <https://doi.org/10.1038/339055a0>
49. Tomé, F. M., Matsumura, K., Chevally, M., Campbell, K. P., & Fardeau, M. (1994). Expression of dystrophin-associated glycoproteins during human fetal muscle development: a preliminary immunocytochemical study. *Neuromuscular disorders : NMD*, *4*(4), 343–348. [https://doi.org/10.1016/0960-8966\(94\)90070-1](https://doi.org/10.1016/0960-8966(94)90070-1)

50. Clerk, A., Morris, G. E., Dubowitz, V., Davies, K. E., & Sewry, C. A. (1993). Dystrophin-related protein, utrofin, in normal and dystrophic human fetal skeletal muscle. *The Histochemical journal*, 25(8), 554–561.
51. Nguyen, T. M., Ellis, J. M., Love, D. R., Davies, K. E., Gatter, K. C., Dickson, G., & Morris, G. E. (1991). Localization of the DMDL gene-encoded dystrophin-related protein using a panel of nineteen monoclonal antibodies: presence at neuromuscular junctions, in the sarcolemma of dystrophic skeletal muscle, in vascular and other smooth muscles, and in proliferating brain cell lines. *The Journal of cell biology*, 115(6), 1695–1700. <https://doi.org/10.1083/jcb.115.6.1695>
52. Helliwell, T. R., Man, N. T., Morris, G. E., & Davies, K. E. (1992). The dystrophin-related protein, utrofin, is expressed on the sarcolemma of regenerating human skeletal muscle fibres in dystrophies and inflammatory myopathies. *Neuromuscular disorders : NMD*, 2(3), 177–184. [https://doi.org/10.1016/0960-8966\(92\)90004-p](https://doi.org/10.1016/0960-8966(92)90004-p)
53. Arechavala-Gomez, V., Kinali, M., Feng, L., Brown, S. C., Sewry, C., Morgan, J. E., & Muntoni, F. (2010). Immunohistological intensity measurements as a tool to assess sarcolemma-associated protein expression. *Neuropathology and applied neurobiology*, 36(4), 265–274. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2009.01056.x>
54. Weir, A. P., Burton, E. A., Harrod, G., & Davies, K. E. (2002). A- and B-utrofin have different expression patterns and are differentially up-regulated in mdx muscle. *The Journal of biological chemistry*, 277(47), 45285–45290. <https://doi.org/10.1074/jbc.M205177200>
55. Ervasti J. M. (2007). Dystrophin, its interactions with other proteins, and implications for muscular dystrophy. *Biochimica et biophysica acta*, 1772(2), 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.05.010>
56. Culle, M. J., Walsh, J. M., Tinsley, J. M., Fisher, R., & Davies, K. E. (2001). Immunogold confirmation that utrofin is localized to the normal position of dystrophin in dystrophin-negative transgenic mouse muscle. *The Histochemical journal*, 33(9-10), 579–583. <https://doi.org/10.1023/a:1014964127156>
57. Rivier, F., Robert, A., Hugon, G., & Mornet, D. (1997). Different utrofin and dystrophin properties related to their vascular smooth muscle distributions. *FEBS letters*, 408(1), 94–98. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(97\)00398-0](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(97)00398-0)
58. Sadoulet-Puccio, H. M., Rajala, M., & Kunkel, L. M. (1997). Dystrobrevin and dystrophin: an interaction through coiled-coil motifs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(23), 12413–12418. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.23.12413>
59. Winder S. J. (1997). The membrane-cytoskeleton interface: the role of dystrophin and utrofin. *Journal of muscle research and cell motility*, 18(6), 617–629. <https://doi.org/10.1023/a:1018627705273>
60. Burton, E. A., Tinsley, J. M., Holzfeind, P. J., Rodrigues, N. R., & Davies, K. E. (1999). A second promoter provides an alternative target for therapeutic up-regulation of utrofin in Duchenne muscular dystrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(24), 14025–14030. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.24.14025>

61. Dennis, C. L., Tinsley, J. M., Deconinck, A. E., & Davies, K. E. (1996). Molecular and functional analysis of the utrofin promoter. *Nucleic acids research*, *24*(9), 1646–1652. <https://doi.org/10.1093/nar/24.9.1646>
62. Culle, M. J., Walsh, J. M., Tinsley, J. M., Fisher, R., & Davies, K. E. (2001). Immunogold confirmation that utrofin is localized to the normal position of dystrophin in dystrophin-negative transgenic mouse muscle. *The Histochemical journal*, *33*(9-10), 579–583. <https://doi.org/10.1023/a:1014964127156>
63. Gordon, B. S., Lowe, D. A., & Kostek, M. C. (2014). Exercise increases utrofin protein expression in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Muscle & nerve*, *49*(6), 915–918. <https://doi.org/10.1002/mus.24151>
64. Squire, S., Raymackers, J. M., Vandebrouck, C., Potter, A., Tinsley, J., Fisher, R., Gillis, J. M., & Davies, K. E. (2002). Prevention of pathology in mdx mice by expression of utrofin: analysis using an inducible transgenic expression system. *Human molecular genetics*, *11*(26), 3333–3344. <https://doi.org/10.1093/hmg/11.26.3333>
65. Deconinck, A. E., Rafael, J. A., Skinner, J. A., Brown, S. C., Potter, A. C., Metzinger, L., Watt, D. J., Dickson, J. G., Tinsley, J. M., & Davies, K. E. (1997). Utrofin-dystrophin-deficient mice as a model for Duchenne muscular dystrophy. *Cell*, *90*(4), 717–727. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80532-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80532-2)
66. Grady, R. M., Teng, H., Nichol, M. C., Cunningham, J. C., Wilkinson, R. S., & Sanes, J. R. (1997). Skeletal and cardiac myopathies in mice lacking utrofin and dystrophin: a model for Duchenne muscular dystrophy. *Cell*, *90*(4), 729–738. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80533-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80533-4)
67. Tinsley, J., Deconinck, N., Fisher, R., Kahn, D., Phelps, S., Gillis, J. M., & Davies, K. (1998). Expression of full-length utrofin prevents muscular dystrophy in mdx mice. *Nature medicine*, *4*(12), 1441–1444. <https://doi.org/10.1038/4033>
68. Timmons, J. A., Larsson, O., Jansson, E., Fischer, H., Gustafsson, T., Greenhaff, P. L., Riddén, J., Rachman, J., Peyrard-Janvid, M., Wahlestedt, C., & Sundberg, C. J. (2005). Human muscle gene expression responses to endurance training provide a novel perspective on Duchenne muscular dystrophy. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *19*(7), 750–760. <https://doi.org/10.1096/fj.04-1980com>
69. Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M. P., Korde, A., Ye, L., Lo, J. C., Rasbach, K. A., Boström, E. A., Choi, J. H., Long, J. Z., Kajimura, S., Zingaretti, M. C., Vind, B. F., Tu, H., Cinti, S., Höjlund, K., Gygi, S. P., & Spiegelman, B. M. (2012). A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, *481*(7382), 463–468. <https://doi.org/10.1038/nature10777>
70. Aydin S. (2014). Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin. *Peptides*, *56*, 94–110. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.03.021>
71. Korta, P., Pocheć, E., & Mazur-Biały, A. (2019). Irisin as a Multifunctional Protein: Implications for Health and Certain Diseases. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, *55*(8), 485. <https://doi.org/10.3390/medicina55080485>

72. Roca-Rivada, A., Castelao, C., Senin, L. L., Landrove, M. O., Baltar, J., Belén Crujeiras, A., Seoane, L. M., Casanueva, F. F., & Pardo, M. (2013). FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PLoS one*, 8(4), e60563. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060563>
73. Kurdiova, T., Balaz, M., Vician, M., Maderova, D., Vlcek, M., Valkovic, L., Srbecky, M., Imrich, R., Kyselovicova, O., Belan, V., Jelok, I., Wolfrum, C., Klimes, I., Krssak, M., Zemkova, E., Gasperikova, D., Ukropec, J., & Ukropcova, B. (2014). Effects of obesity, diabetes and exercise on Fndc5 gene expression and irisin release in human skeletal muscle and adipose tissue: in vivo and in vitro studies. *The Journal of physiology*, 592(5), 1091–1107. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.264655>
74. Kim, H., Wrann, C. D., Jedrychowski, M., Vidoni, S., Kitase, Y., Nagano, K., Zhou, C., Chou, J., Parkman, V. A., Novick, S. J., Strutzenberg, T. S., Pascal, B. D., Le, P. T., Brooks, D. J., Roche, A. M., Gerber, K. K., Mattheis, L., Chen, W., Tu, H., Buxsein, M. L., ... Spiegelman, B. M. (2018). Irisin Mediates Effects on Bone and Fat via  $\alpha$ V Integrin Receptors. *Cell*, 175(7), 1756–1768.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.025>
75. Deconinck, A. E., Rafael, J. A., Skinner, J. A., Brown, S. C., Potter, A. C., Metzinger, L., Watt, D. J., Dickson, J. G., Tinsley, J. M., & Davies, K. E. (1997). Utrofin-dystrophin-deficient mice as a model for Duchenne muscular dystrophy. *Cell*, 90(4), 717–727. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80532-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80532-2)
76. Gao, Q. Q., & McNally, E. M. (2015). The Dystrophin Complex: Structure, Function, and Implications for Therapy. *Comprehensive Physiology*, 5(3), 1223–1239. <https://doi.org/10.1002/cphy.c140048>
77. Alderton, J. M., & Steinhardt, R. A. (2000). How calcium influx through calcium leak channels is responsible for the elevated levels of calcium-dependent proteolysis in dystrophic myotubes. *Trends in cardiovascular medicine*, 10(6), 268–272. [https://doi.org/10.1016/s1050-1738\(00\)00075-x](https://doi.org/10.1016/s1050-1738(00)00075-x)
78. Spencer, M. J., & Mellgren, R. L. (2002). Overexpression of a calpastatin transgene in mdx muscle reduces dystrophic pathology. *Human molecular genetics*, 11(21), 2645–2655. <https://doi.org/10.1093/hmg/11.21.2645>
79. Mercuri, E., Bönnemann, C. G., & Muntoni, F. (2019). Muscular dystrophies. *Lancet (London, England)*, 394(10213), 2025–2038. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32910-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32910-1)
80. Manzur, A. Y., & Muntoni, F. (2009). Diagnosis and new treatments in muscular dystrophies. *Postgraduate medical journal*, 85(1009), 622–630. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2008.158329>
81. Satman, İ., Güdük, Ö., & Ertürk, M. Y. N. Nadir Hastalıklar Raporu.
82. Ricotti, V., Mandy, W. P., Scoto, M., Pane, M., Deconinck, N., Messina, S., Mercuri, E., Skuse, D. H., & Muntoni, F. (2016). Neurodevelopmental, emotional, and behavioural problems in Duchenne muscular dystrophy in relation to underlying dystrophin gene mutations. *Developmental medicine and child neurology*, 58(1), 77–84. <https://doi.org/10.1111/dmcn.12922>

83. Öge, A. E., & Kas, B. B. (2011). Nöromuskuler Kavşak Hastalıkları. *Piraye Serdaroğlu Oflazer, Feza Deymeer, editör. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Nöroloji Ders Kitapları, 2*, 759-768.
84. Sacco, A., Mourkioti, F., Tran, R., Choi, J., Llewellyn, M., Kraft, P., Shkreli, M., Delp, S., Pomerantz, J. H., Artandi, S. E., & Blau, H. M. (2010). Short telomeres and stem cell exhaustion model Duchenne muscular dystrophy in mdx/mTR mice. *Cell, 143*(7), 1059–1071. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.11.039>
85. Cruz-Guzmán, O., Rodríguez-Cruz, M., & Escobar Cedillo, R. E. (2015). Systemic Inflammation in Duchenne Muscular Dystrophy: Association with Muscle Function and Nutritional Status. *BioMed research international, 2015*, 891972. <https://doi.org/10.1155/2015/891972>
86. Rosenberg, A. S., Puig, M., Nagaraju, K., Hoffman, E. P., Villalta, S. A., Rao, V. A., Wakefield, L. M., & Woodcock, J. (2015). Immune-mediated pathology in Duchenne muscular dystrophy. *Science translational medicine, 7*(299), 299rv4. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa7322>
87. Pasternak, C., Wong, S., & Elson, E. L. (1995). Mechanical function of dystrophin in muscle cells. *The Journal of cell biology, 128*(3), 355–361. <https://doi.org/10.1083/jcb.128.3.355>
88. Parsons, E. P., Clarke, A. J., & Bradley, D. M. (2004). Developmental progress in Duchenne muscular dystrophy: lessons for earlier detection. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society, 8*(3), 145–153. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2004.01.009>
89. Hoffman, E. P., Brown, R. H., Jr, & Kunkel, L. M. (1987). Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell, 51*(6), 919–928. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(87\)90579-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(87)90579-4)
90. Yu, H., Chen, Y. C., Liu, G. L., & Wu, Z. Y. (2017). A *De novo* Mutation in Dystrophin Causing Muscular Dystrophy in a Female Patient. *Chinese medical journal, 130*(19), 2273–2278. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.215338>
91. Seemann, N., Selby, K., McAdam, L., Biggar, D., Kolski, H., Goobie, S., Yoon, G., Campbell, C., & Canadian Pediatric Neuromuscular Group (2011). Symptomatic dystrophinopathies in female children. *Neuromuscular disorders: NMD, 21*(3), 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2010.11.001>
92. Wingeier, K., Giger, E., Strozzi, S., Kreis, R., Joncourt, F., Conrad, B., Gallati, S., & Steinlin, M. (2011). Neuropsychological impairments and the impact of dystrophin mutations on general cognitive functioning of patients with Duchenne muscular dystrophy. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia, 18*(1), 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2010.07.118>
93. Poysky, J., & Behavior in DMD Study Group (2007). Behavior patterns in Duchenne muscular dystrophy: report on the Parent Project Muscular Dystrophy behavior workshop 8-9 of December 2006, Philadelphia, USA. *Neuromuscular disorders: NMD, 17*(11-12), 986–994. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2007.06.465>

94. Greenstein, R. M., Reardon, M. P., Chan, T. S., Middleton, A. B., Mulivor, R. A., Greene, A. E., & Coriell, L. L. (1980). An (X;11) translocation in a girl with Duchenne muscular dystrophy. Repository identification No. GM1695. *Cytogenetics and cell genetics*, 27(4), 268. <https://doi.org/10.1159/000131496>
95. Blake, D. J., Weir, A., Newey, S. E., & Davies, K. E. (2002). Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle. *Physiological reviews*, 82(2), 291–329. <https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2001>
96. Tawil, R., & Venance, S. (Eds.). (2011). *Neuromuscular disorders* (Vol. 5). John Wiley & Sons.
97. Emery A. E. (2002). The muscular dystrophies. *Lancet (London, England)*, 359(9307), 687–695. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)07815-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)07815-7)
98. Cooper, B. J., Winand, N. J., Stedman, H., Valentine, B. A., Hoffman, E. P., Kunkel, L. M., Scott, M. O., Fischbeck, K. H., Kornegay, J. N., & Avery, R. J. (1988). The homologue of the Duchenne locus is defective in X-linked muscular dystrophy of dogs. *Nature*, 334(6178), 154–156. <https://doi.org/10.1038/334154a0>
99. Sharp, N. J., Kornegay, J. N., Van Camp, S. D., Herbstreith, M. H., Secore, S. L., Kettle, S., Hung, W. Y., Constantinou, C. D., Dykstra, M. J., & Roses, A. D. (1992). An error in dystrophin mRNA processing in golden retriever muscular dystrophy, an animal homologue of Duchenne muscular dystrophy. *Genomics*, 13(1), 115–121. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(92\)90210-j](https://doi.org/10.1016/0888-7543(92)90210-j)
100. Walmsley, G. L., Arechavala-Gomez, V., Fernandez-Fuente, M., Burke, M. M., Nagel, N., Holder, A., Stanley, R., Chandler, K., Marks, S. L., Muntoni, F., Shelton, G. D., & Piercy, R. J. (2010). A duchenne muscular dystrophy gene hot spot mutation in dystrophin-deficient cavalier king charles spaniels is amenable to exon 51 skipping. *PloS one*, 5(1), e8647. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008647>
101. Amosii, L., Hildyard, J., Li, H., Sanchez-Ortiz, E., Mireault, A., Caballero, D., Harron, R., Stathopoulou, T. R., Massey, C., Shelton, J. M., Bassel-Duby, R., Piercy, R. J., & Olson, E. N. (2018). Gene editing restores dystrophin expression in a canine model of Duchenne muscular dystrophy. *Science (New York, N.Y.)*, 362(6410), 86–91. <https://doi.org/10.1126/science.aau1549>
102. Widrick, J. J., Alexander, M. S., Sanchez, B., Gibbs, D. E., Kawahara, G., Beggs, A. H., & Kunkel, L. M. (2016). Muscle dysfunction in a zebrafish model of Duchenne muscular dystrophy. *Physiological genomics*, 48(11), 850–860. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00088.2016>
103. Gaschen, F. P., Hoffman, E. P., Gorospe, J. R., Uhl, E. W., Senior, D. F., Cardinet, G. H., 3rd, & Pearce, L. K. (1992). Dystrophin deficiency causes lethal muscle hypertrophy in cats. *Journal of the neurological sciences*, 110(1-2), 149–159. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(92\)90022-d](https://doi.org/10.1016/0022-510x(92)90022-d)
104. Sui, T., Lau, Y. S., Liu, D., Liu, T., Xu, L., Gao, Y., Lai, L., Li, Z., & Han, R. (2018). A novel rabbit model of Duchenne muscular dystrophy generated by CRISPR/Cas9. *Disease models & mechanisms*, 11(6), dmm032201. <https://doi.org/10.1242/dmm.032201>

105. Bulfield, G., Siller, W. G., Wight, P. A., & Moore, K. J. (1984). X chromosome-linked muscular dystrophy (mdx) in the mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *81*(4), 1189–1192. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.4.1189>
106. van Putten, M., Hulsker, M., Nadarajah, V. D., van Heiningen, S. H., van Huizen, E., van Iterson, M., Admiraal, P., Messemaker, T., den Dunnen, J. T., 't Hoen, P. A., & Aartsma-Rus, A. (2012). The effects of low levels of dystrophin on mouse muscle function and pathology. *PLoS one*, *7*(2), e31937. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031937>
107. Grounds M. D. (2008). Two-tiered hypotheses for Duchenne muscular dystrophy. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, *65*(11), 1621–1625. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-7574-8>
108. Louboutin, J. P., Fichter-Gagnepain, V., Thaon, E., & Fardeau, M. (1993). Morphometric analysis of mdx diaphragm muscle fibres. Comparison with hindlimb muscles. *Neuromuscular disorders : NMD*, *3*(5-6), 463–469. [https://doi.org/10.1016/0960-8966\(93\)90098-5](https://doi.org/10.1016/0960-8966(93)90098-5)
109. Bushby, K., Finkel, R., Birnkrant, D. J., Case, L. E., Clemens, P. R., Cripe, L., Kaul, A., Kinnett, K., McDonald, C., Pandya, S., Poysky, J., Shapiro, F., Tomezsko, J., Constantin, C., & DMD Care Considerations Working Group (2010). Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *The Lancet. Neurology*, *9*(1), 77–93. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70271-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70271-6)
110. Bandikatla, S (2020). Muscular Dystrophy. *International Journal of Psychosocial Rehabilitation*, *24* (4), 1475-7192. <https://doi.org/10.37200/IJPR/V24I4/PR2020464>
111. Dowling, J. J., D Gonorazky, H., Cohn, R. D., & Campbell, C. (2018). Treating pediatric neuromuscular disorders: The future is now. *American journal of medical genetics. Part A*, *176*(4), 804–841. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38418>
112. Rodino-Klapac, L. R., Chicoine, L. G., Kaspar, B. K., & Mendell, J. R. (2007). Gene therapy for duchenne muscular dystrophy: expectations and challenges. *Archives of neurology*, *64*(9), 1236–1241. <https://doi.org/10.1001/archneur.64.9.1236>
113. McClorey, G., Moulton, H. M., Iversen, P. L., Fletcher, S., & Wilton, S. D. (2006). Antisense oligonucleotide-induced exon skipping restores dystrophin expression in vitro in a canine model of DMD. *Gene therapy*, *13*(19), 1373–1381. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3302800>
114. Peltz, S. W., Morsy, M., Welch, E. M., & Jacobson, A. (2013). Ataluren as an agent for therapeutic nonsense suppression. *Annual review of medicine*, *64*, 407–425. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-120611-144851>
115. hy, E. M., & Kornberg, A. J. (2015). Duchenne muscular dystrophy. *Journal of paediatrics and child health*, *51*(8), 759–764. <https://doi.org/10.1111/jpc.12868>
116. Finkel, R. S., Flanigan, K. M., Wong, B., Bönnemann, C., Sampson, J., Sweeney, H. L., Reha, A., Northcutt, V. J., Elfring, G., Barth, J., & Peltz, S. W. (2013). Phase 2a study of ataluren-mediated dystrophin production in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy. *PLoS one*, *8*(12), e81302. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081302>

117. Kleopa, K. A., Drousiotou, A., Mavrikiou, E., Ormiston, A., & Kyriakides, T. (2006). Naturally occurring utrofin correlates with disease severity in Duchenne muscular dystrophy. *Human molecular genetics*, 15(10), 1623–1628. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl083>
118. Reinig, A. M., Mirzaei, S., & Berlau, D. J. (2017). Advances in the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy: New and Emerging Pharmacotherapies. *Pharmacotherapy*, 37(4), 492–499. <https://doi.org/10.1002/phar.1909>
119. Yoo, J., Jeong, J., & Lee, W. (2014). The effect of trunk stabilization exercise using an unstable surface on the abdominal muscle structure and balance of stroke patients. *Journal of physical therapy science*, 26(6), 857–859. <https://doi.org/10.1589/jpts.26.857>
120. Dooley, J. M., Gordon, K. E., & MacSween, J. M. (2010). Impact of steroids on surgical experiences of patients with duchenne muscular dystrophy. *Pediatric neurology*, 43(3), 173–176. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2010.04.013>
121. Farivar, S., Malekshahabi, T., & Shiari, R. (2014). Biological effects of low level laser therapy. *Journal of lasers in medical sciences*, 5(2), 58–62.
122. Huang, Y. Y., Chen, A. C., Carroll, J. D., & Hamblin, M. R. (2009). Biphasic dose response in low level light therapy. Dose-response : a publication of International Hormesis Society, 7(4), 358–383. <https://doi.org/10.2203/dose-response.09-027.Hamblin>
123. Özdiñçler, A. R. (2014). Fiziksel Modaliteler ve Elektrotterapi 1. Baskı, İstanbul Tıp Kitapevi, İstanbul.
124. Leal Junior, E. C., Lopes-Martins, R. A., Frigo, L., De Marchi, T., Rossi, R. P., de Godoi, V., Tomazoni, S. S., Silva, D. P., Basso, M., Filho, P. L., de Valls Corsetti, F., Iversen, V. V., & Bjordal, J. M. (2010). Effects of low-level laser therapy (LLLT) in the development of exercise-induced skeletal muscle fatigue and changes in biochemical markers related to postexercise recovery. *The Journal of orthopaedic and sports physical therapy*, 40(8), 524–532. <https://doi.org/10.2519/jospt.2010.3294>
125. Leal Junior, E. C., Lopes-Martins, R. A., Dalan, F., Ferrari, M., Sbabo, F. M., Generosi, R. A., Baroni, B. M., Penna, S. C., Iversen, V. V., & Bjordal, J. M. (2008). Effect of 655-nm low-level laser therapy on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. *Photomedicine and laser surgery*, 26(5), 419–424. <https://doi.org/10.1089/pho.2007.2160>
126. De Marchi, T., Leal Junior, E. C., Bortoli, C., Tomazoni, S. S., Lopes-Martins, R. A., & Salvador, M. (2012). Low-level laser therapy (LLLT) in human progressive-intensity running: effects on exercise performance, skeletal muscle status, and oxidative stress. *Lasers in medical science*, 27(1), 231–236. <https://doi.org/10.1007/s10103-011-0955-5>
127. Ünal M. Egzersiz Fiziyojisi. İstanbul, İstanbul Tıp Kitapevi., 2019: 543-592.
128. Ansved T. (2003). Muscular dystrophies: influence of physical conditioning on the disease evolution. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 6(4), 435–439. <https://doi.org/10.1097/01.mco.0000078987.18774.D9>

129. Grange, R. W., & Call, J. A. (2007). Recommendations to define exercise prescription for Duchenne muscular dystrophy. *Exercise and sport sciences reviews*, 35(1), 12–17. <https://doi.org/10.1249/01.jes.0000240020.84630.9d>
130. Spangenburg, E. E., & Booth, F. W. (2003). Molecular regulation of individual skeletal muscle fibre types. *Acta physiologica Scandinavica*, 178(4), 413–424. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2003.01158.x>
131. Ansved T. (2003). Muscular dystrophies: influence of physical conditioning on the disease evolution. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 6(4), 435–439. <https://doi.org/10.1097/01.mco.0000078987.18774.D9>
132. Lovering, R. M., Porter, N. C., & Bloch, R. J. (2005). The muscular dystrophies: from genes to therapies. *Physical therapy*, 85(12), 1372–1388.
133. Scott, O. M., Hyde, S. A., Goddard, C., & Dubowitz, V. (1981). Prevention of deformity in Duchenne muscular dystrophy. A prospective study of passive stretching and splintage. *Physiotherapy*, 67(6), 177–180.
134. Vignos P. J., Jr (1983). Physical models of rehabilitation in neuromuscular disease. *Muscle & nerve*, 6(5), 323–338. <https://doi.org/10.1002/mus.880060502>
135. Petrof B. J. (1998). The molecular basis of activity-induced muscle injury in Duchenne muscular dystrophy. *Molecular and cellular biochemistry*, 179(1-2), 111–123. <https://doi.org/10.1023/a:1006812004945>
136. Bushby, K., Finkel, R., Birnkrant, D. J., Case, L. E., Clemens, P. R., Cripe, L., Kaul, A., Kinnett, K., McDonald, C., Pandya, S., Poysky, J., Shapiro, F., Tomezsko, J., Constantin, C., & DMD Care Considerations Working Group (2010). Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care. *The Lancet. Neurology*, 9(2), 177–189. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70272-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70272-8)
137. Birnkrant, D. J., Bushby, K., Bann, C. M., Apkon, S. D., Blackwell, A., Brumbaugh, D., Case, L. E., Clemens, P. R., Hadjiyannakis, S., Pandya, S., Street, N., Tomezsko, J., Wagner, K. R., Ward, L. M., Weber, D. R., & DMD Care Considerations Working Group (2018). Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine, and gastrointestinal and nutritional management. *The Lancet. Neurology*, 17(3), 251–267. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30024-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30024-3)
138. Eagle M. (2002). Report on the muscular dystrophy campaign workshop: exercise in neuromuscular diseases Newcastle, January 2002. *Neuromuscular disorders : NMD*, 12(10), 975–983. [https://doi.org/10.1016/s0960-8966\(02\)00136-0](https://doi.org/10.1016/s0960-8966(02)00136-0)
139. Fowler W. M., Jr (2002). Role of physical activity and exercise training in neuromuscular diseases. *American journal of physical medicine & rehabilitation*, 81(11 Suppl), S187–S195. <https://doi.org/10.1097/01.PHM.0000029726.80774.83>
140. Grange, R. W., Gainer, T. G., Marschner, K. M., Talmadge, R. J., & Stull, J. T. (2002). Fast-twitch skeletal muscles of dystrophic mouse pups are resistant to injury from acute mechanical stress.

- American journal of physiology. Cell physiology, 283(4), C1090–C1101.  
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00450.2001>
141. Falzarano, M. S., Scotton, C., Passarelli, C., & Ferlini, A. (2015). Duchenne Muscular Dystrophy: From Diagnosis to Therapy. *Molecules* (Basel, Switzerland), 20(10), 18168–18184.  
<https://doi.org/10.3390/molecules201018168>
  142. Rosety-Rodriguez, M., Rosety, I., Fornieles-Gonzalez, G., Diaz-Ordenez, A. J., Camacho, A., Rosety, M. A., Pardo, A., Rosety, M., Alvero, R., & Ordenez, F. J. (2012). A 6-week training program increased muscle antioxidant system in elderly diabetic fatty rats. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 18(9), BR346–BR350. <https://doi.org/10.12659/msm.883343>
  143. Teixeira de Lemos, E., Reis, F., Baptista, S., Pinto, R., Sepodes, B., Vala, H., Rocha-Pereira, P., Correia da Silva, G., Teixeira, N., Silva, A. S., Carvalho, L., Teixeira, F., & Das, U. N. (2009). Exercise training decreases proinflammatory profile in Zucker diabetic (type 2) fatty rats. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif.), 25(3), 330–339. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2008.08.014>
  144. Benthem, L., Bolhuis, J. W., van der Leest, J., Steffens, A. B., Zock, J. P., & Zijlstra, W. G. (1994). Methods for measurement of energy expenditure and substrate concentrations in swimming rats. *Physiology & behavior*, 56(1), 151–159. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)90273-9](https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)90273-9)
  145. Harma, M., Harma, M., & Erel, O. (2003). Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss medical weekly*, 133(41-42), 563–566.n
  146. Erkanli, K., Senturk, G. E., Aydin, U., Arbak, S., Ercan, F., Tuncdemir, M., ... & Bakir, I. (2013). Oxytocin protects rat skeletal muscle against ischemia/reperfusion injury. *Annals of vascular surgery*, 27(5), 662-670.
  147. Ferraresi, C., Hamblin, M. R., & Parizotto, N. A. (2012). Low-level laser (light) therapy (LLLT) on muscle tissue: performance, fatigue and repair benefited by the power of light. *Photonics & lasers in medicine*, 1(4), 267-286.
  148. Turk, R., Sterrenburg, E., de Meijer, E. J., van Ommen, G. J., den Dunnen, J. T., & 't Hoen, P. A. (2005). Muscle regeneration in dystrophin-deficient mdx mice studied by gene expression profiling. *BMC genomics*, 6, 98. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-6-98>
  149. Abdel-Salam, E., Abdel-Meguid, I., & Korraa, S. S. (2009). Markers of degeneration and regeneration in Duchenne muscular dystrophy. *Acta myologica : myopathies and cardiomyopathies : official journal of the Mediterranean Society of Myology*, 28(3), 94–100.
  150. Whitehead, N. P., Yeung, E. W., & Allen, D. G. (2005). Muscle damage in mdx (dystrophic) mice: The role of calcium and reactive oxygen species. In *Proceedings of the Australian Physiological Society* (Vol. 36, pp. 111-117).
  151. Passarella, S., Ostuni, A., Atlante, A., & Quagliariello, E. (1988). Increase in the ADP/ATP exchange in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser. *Biochemical and biophysical research communications*, 156(2), 978-986.
  152. Karu, T. I. (2010). Multiple roles of cytochrome c oxidase in mammalian cells under action of red and IR- A radiation. *IUBMB life*, 62(8), 607-610.

153. Manteifel, V., Bakeeva, L., & Karu, T. I. (1996, November). Ultrastructural changes in chondriome of human lymphocytes after irradiation with HeNe laser: appearance of giant mitochondria. In *Effects of Low-Power Light on Biological Systems II* (Vol. 2929, pp. 18-26). International Society for Optics and Photonics.
154. Ferraresi, C., de Brito Oliveira, T., de Oliveira Zafalon, L., de Menezes Reiff, R. B., Baldissera, V., de Andrade Perez, S. E., ... & Parizotto, N. A. (2011). Effects of low level laser therapy (808 nm) on physical strength training in humans. *Lasers in medical science*, 26(3), 349-358.
155. de Brito Vieira, W. H., Ferraresi, C., de Andrade Perez, S. E., Baldissera, V., & Parizotto, N. A. (2012). Effects of low-level laser therapy (808 nm) on isokinetic muscle performance of young women submitted to endurance training: a randomized controlled clinical trial. *Lasers in medical science*, 27(2), 497-504.
156. Hayworth, C. R., Rojas, J. C., Padilla, E., Holmes, G. M., Sheridan, E. C., & Gonzalez- Lima, F. (2010). In vivo low- level light therapy increases cytochrome oxidase in skeletal muscle. *Photochemistry and photobiology*, 86(3), 673-680.
157. Silveira, P. C., da Silva, L. A., Fraga, D. B., Freitas, T. P., Streck, E. L., & Pinho, R. (2009). Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in muscle healing by low-level laser therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 95(2), 89-92.
158. Nakamura, A., Yoshida, K., Takeda, S., Dohi, N., & Ikeda, S. (2002). Progression of dystrophic features and activation of mitogen-activated protein kinases and calcineurin by physical exercise, in hearts of mdx mice. *FEBS letters*, 520(1-3), 18–24. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(02\)02739-4](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(02)02739-4)
159. Nakamura, A., Yoshida, K., Ueda, H., Takeda, S. I., & Ikeda, S. I. (2005). Up-regulation of mitogen activated protein kinases in mdx skeletal muscle following chronic treadmill exercise. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1740(3), 326-331.
160. Baltgalvis, K. A., Call, J. A., Cochrane, G. D., Laker, R. C., Yan, Z., & Lowe, D. A. (2012). Exercise training improves plantarflexor muscle function in mdx mice. *Medicine and science in sports and exercise*, 44(9), 1671.
161. Hulmi, J. J., Oliveira, B. M., Silvennoinen, M., Hoogaars, W. M., Pasternack, A., Kainulainen, H., & Ritvos, O. (2013). Exercise restores decreased physical activity levels and increases markers of autophagy and oxidative capacity in myostatin/activin-blocked mdx mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 305(2), E171-E182.
162. Partridge, T. A. (2013). The mdx mouse model as a surrogate for D uchenne muscular dystrophy. *The FEBS journal*, 280(17), 4177-4186.
163. Wineinger, M. A., Abresch, R. T., Walsh, S. A., & Carter, G. T. (1998). Effects of aging and voluntary exercise on the function of dystrophic muscle from mdx mice. *American journal of physical medicine & rehabilitation*, 77(1), 20-27.
164. Hayes, A., Lynch, G. S., & Williams, D. A. (1993). The effects of endurance exercise on dystrophic mdx mice. I. Contractile and histochemical properties of intact muscles. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 253(1336), 19-25.

165. Hayes, A., & Williams, D. A. (1998). Contractile function and low-intensity exercise effects of old dystrophic (mdx) mice. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 274(4), C1138-C1144.
166. Haycock, J. W., Mac Neil, S., Jones, P., Harris, J. B., & Mantle, D. (1996). Oxidative damage to muscle protein in Duchenne muscular dystrophy. *Neuroreport*, 8(1), 357-361.
167. Ragusa, R. J., Chow, C. K., & Porter, J. D. (1997). Oxidative stress as a potential pathogenic mechanism in an animal model of Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular disorders*, 7(6-7), 379-386.
168. Franco, A. A., Odom, R. S., & Rando, T. A. (1999). Regulation of antioxidant enzyme gene expression in response to oxidative stress and during differentiation of mouse skeletal muscle. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(9-10), 1122-1132.
169. Disatnik, M. H., Dhawan, J., Yu, Y., Beal, M. F., Whirl, M. M., Franco, A. A., & Rando, T. A. (1998). Evidence of oxidative stress in mdx mouse muscle: studies of the pre-necrotic state. *Journal of the neurological sciences*, 161(1), 77-84.
170. Kaczor, J. J., Hall, J. E., Payne, E., & Tarnopolsky, M. A. (2007). Low intensity training decreases markers of oxidative stress in skeletal muscle of mdx mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(1), 145-154.
171. Kang, C., Chung, E., Diffie, G., & Ji, L. L. (2013). Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1 $\alpha$ . *Experimental gerontology*, 48(11), 1343-1350. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2013.08.004>
172. Baroni, B. M., Junior, E. C. P. L., De Marchi, T., Lopes, A. L., Salvador, M., & Vaz, M. A. (2010). Low level laser therapy before eccentric exercise reduces muscle damage markers in humans. *European journal of applied physiology*, 110(4), 789-796.
173. Vieira, W. H. B., Goes, R., Costa, F. C., Parizotto, N. A., Perez, S. E. A., Baldissera, V., ... & Schwantes, M. L. B. (2006). Adaptation of LDH enzyme in rats undergoing aerobic treadmill training and low intensity laser therapy. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, 10(2), 205-211.
174. Hodson-Tole, E. F., & Wakeling, J. M. (2009). Motor unit recruitment for dynamic tasks: current understanding and future directions. *Journal of Comparative Physiology B*, 179(1), 57-66.
175. Brooks, G. A., Dubouchaud, H., Brown, M., Sicurello, J. P., & Butz, C. E. (1999). Role of mitochondrial lactate dehydrogenase and lactate oxidation in the intracellular lactate shuttle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(3), 1129-1134.
176. Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological reviews*, 88(4), 1243-1276.
177. Lamb, G. D., & Westerblad, H. (2011). Acute effects of reactive oxygen and nitrogen species on the contractile function of skeletal muscle. *The Journal of physiology*, 589(9), 2119-2127.
178. Barbin, I. C. C., Pereira, J. A., Bersan Rovere, M., de Oliveira Moreira, D., Marques, M. J., & Santo Neto, H. (2016). Diaphragm degeneration and cardiac structure in mdx mouse: potential clinical implications for Duchenne muscular dystrophy. *Journal of anatomy*, 228(5), 784-791.
179. Engel, A., & Franzini-Armstrong, C. (Eds.). (1994). *Myology: basic and clinical* (Vol. 2). McGraw-Hill Companies.

180. Humbertclaude, V., Hamroun, D., Bezzou, K., Bérard, C., Boespflug-Tanguy, O., Bommelaer, C., ... & Tuffery-Giraud, S. (2012). Motor and respiratory heterogeneity in Duchenne patients: implication for clinical trials. *European Journal of Paediatric Neurology*, 16(2), 149-160.
181. Finsterer, J., & Stöllberger, C. (2003). The heart in human dystrophinopathies. *Cardiology*, 99(1), 1-19.
182. Fayssoil, A., Nardi, O., Orlikowski, D., & Annane, D. (2010). Cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy: pathogenesis and therapeutics. *Heart failure reviews*, 15(1), 103-107.
183. Mosqueira, M., Zeiger, U., Förderer, M., Brinkmeier, H., & Fink, R. H. (2013). Cardiac and respiratory dysfunction in Duchenne muscular dystrophy and the role of second messengers. *Medicinal research reviews*, 33(5), 1174-1213.
184. Spurney, C. F. (2011). Cardiomyopathy of Duchenne muscular dystrophy: current understanding and future directions. *Muscle & nerve*, 44(1), 8-19.
185. Betts, C. A., Saleh, A. F., Carr, C. A., Hammond, S. M., Coenen-Stass, A. M., Godfrey, C., ... & Wood, M. J. (2015). Prevention of exercised induced cardiomyopathy following Pip-PMO treatment in dystrophic mdx mice. *Scientific reports*, 5(1), 1-9.
186. Feng, R., Wang, L., Li, Z., Yang, R., Liang, Y., Sun, Y., ... & Xu, X. (2019). A systematic comparison of exercise training protocols on animal models of cardiovascular capacity. *Life sciences*, 217, 128-140.
187. Perrino, C., Gargiulo, G., Pironti, G., Franzone, A., Scudiero, L., De Laurentis, M., ... & Esposito, G. (2011). Cardiovascular effects of treadmill exercise in physiological and pathological preclinical settings. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 300(6), H1983-H1989.
188. Zhou, X., Xu, M., Bryant, J. L., Ma, J., & Xu, X. (2019). Exercise-induced myokine FNDC5/irisin functions in cardiovascular protection and intracerebral retrieval of synaptic plasticity. *Cell & bioscience*, 9(1), 1-4.
189. Bellafiore, M., Battaglia, G., Bianco, A., & Palma, A. (2019). Expression pattern of angiogenic factors in healthy heart in response to physical exercise intensity. *Frontiers in physiology*, 10, 238.
190. Kemi, O. J., Loennechen, J. P., Wisløff, U., & Ellingsen, Ø. (2002). Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy. *Journal of applied physiology*, 93(4), 1301-1309.
191. Guiraud, S., Edwards, B., Babbs, A., Squire, S. E., Berg, A., Moir, L., ... & Davies, K. E. (2019). The potential of utrofin and dystrophin combination therapies for Duchenne muscular dystrophy. *Human molecular genetics*, 28(13), 2189-2200.
192. Cullen, M. J., Walsh, J. M., Tinsley, J. M., Fisher, R., & Davies, K. E. (2001). Immunogold confirmation that utrofin is localized to the normal position of dystrophin in dystrophin-negative transgenic mouse muscle. *The Histochemical Journal*, 33(9), 579-583.
193. Blake, D. J., Tinsley, J. M., & Davies, K. E. (1996). Utrofin: a structural and functional comparison to dystrophin. *Brain pathology*, 6(1), 37-47.

194. Miura, P., Thompson, J., Chakkalakal, J. V., Holcik, M., & Jasmin, B. J. (2005). The utrofin A 5'-untranslated region confers internal ribosome entry site-mediated translational control during regeneration of skeletal muscle fibers. *Journal of Biological Chemistry*, 280(38), 32997-33005.
195. Miura, P., Andrews, M., Holcik, M., & Jasmin, B. J. (2008). IRES-mediated translation of utrofin A is enhanced by glucocorticoid treatment in skeletal muscle cells. *PloS one*, 3(6), e2309.
196. Williamson, D. L., Kubica, N., Kimball, S. R., & Jefferson, L. S. (2006). Exercise-induced alterations in extracellular signal-regulated kinase 1/2 and mammalian target of rapamycin (mTOR) signalling to regulatory mechanisms of mRNA translation in mouse muscle. *The Journal of physiology*, 573(2), 497-510.
197. Chakkalakal, J. V., Stocksley, M. A., Harrison, M. A., Angus, L. M., Deschênes-Furry, J., St-Pierre, S., ... & Jasmin, B. J. (2003). Expression of utrofin A mRNA correlates with the oxidative capacity of skeletal muscle fiber types and is regulated by calcineurin/NFAT signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(13), 7791-7796.
198. Wang, C., Wang, L., Liu, J., Song, J., Sun, Y., Lin, P., ... & Chen, L. (2016). Irisin modulates the association of interleukin-17A with the presence of non-proliferative diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Endocrine*, 53(2), 459-464.
199. Vaughan, R. A., Gannon, N. P., Mermier, C. M., & Conn, C. A. (2015). Irisin, a unique non-inflammatory myokine in stimulating skeletal muscle metabolism. *Journal of physiology and biochemistry*, 71(4), 679-689.
200. Wrann, C. D., White, J. P., Salogiannis, J., Laznik-Bogoslavski, D., Wu, J., Ma, D., ... & Spiegelman, B. M. (2013). Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 $\alpha$ /FNDC5 pathway. *Cell metabolism*, 18(5), 649-659.
201. Vaughan, R. A., Gannon, N. P., Barberena, M. A., Garcia-Smith, R., Bisoffi, M., Mermier, C. M., ... & Trujillo, K. A. (2014). Characterization of the metabolic effects of irisin on skeletal muscle in vitro. *Diabetes, obesity and metabolism*, 16(8), 711-718.
202. Nguyen, L. M. D., Malamo, A. G., Larkin-Kaiser, K. A., Borsa, P. A., & Adhihetty, P. J. (2014). Effect of near-infrared light exposure on mitochondrial signaling in C2C12 muscle cells. *Mitochondrion*, 14, 42-48.
203. Lee, P., Linderman, J. D., Smith, S., Brychta, R. J., Wang, J., Idelson, C., ... & Celi, F. S. (2014). Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans. *Cell metabolism*, 19(2), 302-309.
204. Park, T. H., Lee, H. J., & Lee, J. B. (2021). Effect of Heat Stimulation on Circulating Irisin in Humans. *Frontiers in Physiology*, 12, 1004.

## 8 ÖZGEÇMİŞ

