

**ANTİOKSİDAN KULLANIMININ VE FARKLI
SÜRELERDE YÜZME EGZERSİZİNİN KAS
DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Öznur AKYÜZ

Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç.Dr. Necip Fazıl KİŞHALI

Doktora Tezi - 2014

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTİOKSİDAN KULLANIMININ VE FARKLI
SÜRELERDE YÜZME EGZERSİZİNİN KAS DOKUSU
ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Öznur AKYÜZ

Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Tez Danışmanı
Doç.Dr. Necip Fazıl KİŞHALI

ERZURUM
2014

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR ANABİLİM DALI

**ANTİ OKSİDAN KULLANIMININ VE FARKLI SÜRELERDE
YÜZME EGZERSİZİNİN KAS DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Öznur AKYÜZ

Tez Savunma Tarihi : 20.01.2014

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Necip Fazıl KİŞHALI (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof.Dr. Kadir YILDIRIM (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof.Dr. Ömer ŞENEL (Gazi Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr. Elif ŞİKTAR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr. Fatih KIYICI (Atatürk Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Doktora Tezi
ERZURUM - 2014

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ.....	XI
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Egzersiz.....	4
2.1.1. Egzersizde Enerji Metabolizması	5
2.1.2. ATP-CP: Fosfojen sistemi	5
2.1.3.Anaerobik Glikoliz ya da Laktik Asit Sistemi.....	6
2.2. Antioksidanlar.....	7
2.2.1. Endojen Antioksidanlar	8
2.2.2. Eksojen Antioksidanlar.....	14
2.3. Antioksidanlar Ve Egzersiz	17
2.4. Grape Seed Extract (Üzüm Çekirdeği Özütü-GSE)	21
2.5. Serbest Radikaller	23
2.5.1. Serbest Radikallerin Sınıflandırılması	25
2.5.2. Serbest Radikallerin Kaynakları	28
2.5.3. Serbest Radikallerin Etkileri	30
2.5.4. Malondialdehid (MDA)	30
2.5.6. Egzersiz ve Serbest Radikaller	32
2.5.7. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkisi	34
2.5.8. Serbest Radikallerin Proteinler Etkisi.....	34

2.5.9. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkisi	34
2.5.10. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi	35
2.6. Lipid Peroksidasyonu	35
2.6.1. Oksidatif Stres.....	36
2.6.1.1. Oksidatif Hasarın Sonuçları.....	37
3. MATERYAL VE METOT.....	40
3.1. Deney Grupları	40
3.2. Suyu Alıştırma	40
3.3. Egzersiz Programı.....	41
3.4. Biyokimyasal Analizler İçin Doku Homojenatlarının Hazırlanması.....	42
3.5. SOD Aktivitesinin Ölçümü.....	42
3.6. SOD Ölçümü.....	43
3.7. SOD Aktivitesi'nin Hesaplanması.....	43
3.8.Lipid Peroksidasyon Tayini (LPO).....	43
3.9. LPO Miktarının Hesaplanması	44
3.10. GSH Miktarı Ölçümü.....	44
3.11. GSH Miktarının Ölçülmesi	44
3.12. GSH Miktarının Hesaplanması	45
3.13. Verilerin Analizi	45
4.BULGULAR.....	46
5.TARTIŞMA	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	57
KAYNAKLAR	59
EKLER	80
EK-1 ÖZGEÇMİŞ	80
EK-2 HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ONAY FORMU	81

TEŞEKKÜR

Akademik Kariyerimin ara kademelerden biri olan asistanlık eğitiminin sonuna gelmiş bulunuyorum. Mesleğimin ayrıntılarını öğrenmek ve daha faydalı olmak için önümde aşmam gereken birçok engel olduğunun farkında olarak;

Tezim olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, Sayın Doç.Dr. Necip Fazıl KİŞHALI' ya, Bu çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, saygıdeğer hocam, Sayın Öğr. Üy. Recep SOSLU'ya, şükranlarımı sunuyorum.

Bu araştırma boyunca maddi ve manevi desteklerinden dolayı aileme teşekkür ederim.

Öznur AKYÜZ

ÖZET

Antioksidan Kullanımının ve Farklı Sürelerde Yüzme Egzersizinin Kas Dokusu Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Amaç: Çalışmanın amacı, yüzme egzersiz yaptırılan sıçanlarda üzüm çekirdeği ekstresi (GSE) çeşitli oksidatif stres ve antioksidan savunma belirteçleri üzerine etkilerini araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Çalışmanın başlangıcında ağırlıkları 180-220 gr arasında ve yaklaşık 2-3 aylık olan 56 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar rasgele seçilmek suretiyle 5 gruba ayrıldı. Yüzme egzersizi gruplarındaki hayvanlara 12 hafta boyunca haftada 6 gün, 15, 30 ve 60 dk yüzme egzersizi ve sıçanlara gün aşırı 200 mg/kg GSE, gavaj yoluyla uygulandı. Çalışmanın sonunda gruplarındaki sıçanlar ötenazi yapılarak soleus kasından örnekleri alındı. Kas örneklerinden ayrılan plazmada malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (Gsh) tayinleri yapıldı.

Bulgular: Çalışmada kas dokusunda MDA seviyeleri GSE takviyesi yapılan gruplarda kontrol grubu ve egzersiz grubuna göre anlamlı düzeyde azalmanın olduğu GSH ve SOD değerlerinde de artışın olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmanın sonucunda elde ettiğimiz bulgular, oksidatif stresin egzersiz ile artarken antioksidan enzimlerin kronik egzersiz ile arttığını göstermektedir. GSE takviyesi ise lipid peroksidasyonunu önlemek ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırmak suretiyle egzersizin neden olduğu oksidatif stresini önlediğini düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan enzim, oksidatif stres, üzüm çekirdeği ekstresi, yüzme egzersiz,

ABSTRACT

Swimming Exercise and Antioxidant Use in Different Duration of Effect on Rat Muscle Tissue

Aim: The purpose of the study, swimming exercised rats, GSE to investigate the effects of a variety of markers of oxidative stress and antioxidant defense.

Material and Method: Weights of 180-220 g at the beginning of the study and the 56 male rats were used in about 2-3 months . Rats were divided into 5 groups by randomization. Animals in groups of swimming exercise 6 days a week for 12 weeks, 15, 30 and 60 days dk swimming exercise and rats 200 mg / kg of GSE, administered by gavage. Soleus muscle samples were obtained from rats sacrificed at the end of the study groups. Plasma samples separated in November of MDA, SOD and GSH were determined.

Result: In this study, MDA levels in muscle tissue GSA supplement in the control group decreased significantly by grubuv exercise of group is that there is an increase in GSH and SOD values were determined.

Concslusion: As a result of our findings for the study of oxidative stress with exercise increases with increased antioxidant enzyme suggests that chronic exercise. GSA is reinforced to prevent lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities by increasing the oxidative stress caused by exercise prevents believe.

Key Words: Antioxidant enzyme, grape seed extract, oxidative stress, swimming exercise,

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	: Adenozintrifosfat
CAT	: Katalaz
CP	: Kreatin Fosfat
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
GSH	: Glutation
GSHPX	: Glutationperoksidaz
GSSH	: Okside Glutasyon
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LPO	: Lipid Peroksidasyon Tayini
MDA	: Malondialdehit
ml	: Mililitre
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NMOL	: Nanomol
NO	: Nitrik oksit
NO₂	: Nitro jendioksit
O₂	: Oksijen
OH	: Hidroksil
PA	: Pronaciyadin
PO₂	: Kısmi Oksijen Basıncı
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksitdismutaz
SOR	: Superoksit Redüktaz
SR	: Serbest Radikal

TBARS : Tiobarbitürik Asit Reaktif Sübrat

MMOL : Mikromol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No

Sayfa No

Şekil 2. 1. Proantosiyanidin kimyasal yapısı.....	21
Şekil 2. 2. Serbest radikallerin hücre zarına etkisi.	24
Şekil 2. 3. Hücrede meydana gelen lipid peroksidasyonu.	36
Şekil 2. 4. Oksidatif stresli hücre.....	37
Şekil 3. 1. Ratlara 200 mg/kg GSE gavaj yoluyla verilmesi	41
Şekil 3. 2. Yüzme egzersizi	41
Şekil 3. 3. Dokuların çıkarılması	42

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 4. 1. Kronik yüzme grublarının GSH düzeyi	46
Tablo 4. 2. Kronik yüzme grublarının SOD düzeyi	47
Tablo 4. 3. Kronik yüzme grublarının MDA düzeyi.....	48
Tablo 4. 4. GSE verilen kronik yüzme grublarının GSH düzeyi	49
Tablo 4. 5. GSE verilen kronik yüzme grublarının SOD düzeyi	50
Tablo 4. 6. GSE verilen kronik yüzme grublarının MDA düzeyi.....	51

1.GİRİŞ

Fiziksel egzersizin, sağlık üzerine pek çok faydalı etkilere sahip olmasının yanında ROS ve serbest radikal oluşumunun özellikle şiddetli egzersiz sırasında arttığına ve oksidatif hasarın kas, karaciğer, kan ve diğerk dokularda oluştuğuna dair bulgular da mevcuttur.¹⁻³ Fizyolojik olarak kısa süreli maksimal eforda yapılan yani yüksek şiddette yapılan egzersizde, performans anaerobik güce bağılıdır.⁴

Egzersizin insan sağlığı üzerine olan olumlu etkileri kabul görmekte ve sporun günlük hayatımıza yerleştirilmesinin önemi gün geçtikçe artmaktadır. Egzersiz ile form tutma kardiyovasküler hastalıklar, kronik solunum yolu hastalıkları, diabetes mellitus, obezite, kanser, osteoporoz, psikolojik ve anksiyete gibi hastalıkların gelişim riskinin azalmasına ve hastalıkların semptomlarında kontrol altına alınmasına katkıda bulunur. Ayrıca egzersiz: Vücuttaki fazla yağları yakmayı; kilo vererek ideal vücut ağırlığına kavuşmayı, kasların kuvvetlenmesini, kan akışını, enerjinin artmasını, dolaşımı, kemik yoğunluğu ve kuvvetini, kendine güveni artırır ve kendini daha iyi hissetmeyi sağlar.⁵

Egzersizin yoğunluğu ne kadar yüksek olursa, serbest radikal oluşumu da o kadar fazla olur.⁶ Tek seferlik tüketici koşu bandı egzersizi sonrası sıçan iskelet kası ve kalp kası doku homejenatlarında serbest radikal üretiminin arttığı gözlenmiştir. Egzersiz sırasında, oksijen tüketimindeki artışa paralel olarak serbest radikal üretimi hızlanmaktadır. Akut egzersiz; kas doku hasarı, membranlarda lipit peroksidasyonu ve serbest radikal spektrumu oluşumuna yol açar. Hasarlı dokuda fosfolipaz, proteinkinaz enzim aktivasyonuna ve hücre membranlarında araşidonik asit salınımına, bu da serbest radikal üretiminde artışa yol açmaktadır.⁷

Oksijen tüketiminin artışına bağılı olarak artan serbest radikaller, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanları içeren bir savunma sistemi tarafından nötralize edilir. Egzersiz, ROS ve antioksidanlar arasında oksidatif stres olarak adlandırılan bir

dengesizlik oluşturur.⁸ Fiziksel egzersizler sırasında oluşabilecek oksidatif hasarın boyutu sadece serbest radikal üretimi ile değil aynı zamanda antioksidanların savunma kapasitesi tarafından da belirlenmektedir. Egzersiz sırasında üretilen ROS karşı ilk savunma hattını SOD, CAT sağlamaktadır. Hücresel seviyede etkili olan enzimatik sistemler içinde birincil olan antioksidan enzimler arasında SOD, CAT, GPx, GST bulunur. Akut bir egzersizin bu enzimlerin aktivitelerini direkt etkileyebileceği belirtilmektedir. Enzimatik olmayan antioksidanlara ise vitamin E, vitamin C, glutatyon ve flavonoidler örnek olarak verilebilir. Flavonoidler polifenollerin doğal yollardan oluşan en büyük gruplarından biridir. Birçok bitkide bulunurlar. Antioksidan antimikrobiyal, antiviral ve antibakteriyel özelliklere sahiptirler.⁹ Flavonoidler bir asrı aşkın bir süredir bitkisel pigmentler olarak bilinmektedir. Polifenolik bileşikler grubundan olup bütün bitkilere dağılmış durumdadır. İn vitro çalışmalarda antioksidan özellikleri ve serbest radikal yakalama özellikleri, dikkatlerin flavonoidler üzerinde toplanmasına neden olmuştur. Çeşitli bitkisel kaynaklı besin ve içecekler (meyveler, sebzeler, çay, kakao, şarap) flavonoidlerden zengindir.⁹

Antioksidan maddeler (α - tokoferol (vitamin E), β -karoten, Askorbik asit (vitamin C, Folik asit, aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan aktif oksijenleri temizleyerek, oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararları hücresel düzeyde engellemekte (DNA bozulmalarını ve yağların peroksidasyonunu azaltan, meydana gelen hasarın tamirinde görev alan), dolayısıyla dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmaktadır. Vitaceae (asmagiller) familyasının üyelerinden olan üzüm de bulunan fenolik bileşiklerinden en önemlileri fenolik asitler, antosiyanidinler, flavonol glukozitleri, sinamik asit türevleri, katesinler ve protoantosiyanidinlerdir.

Antioksidanlar içinde GSE bilinen en güçlü antioksidanlardan biridir. Vitaceae (asmagiller) familyasının üyelerinden olan üzümde bulunan fenolik bileşiklerinden en

önemlileri fenolik asitler, antosiyanidinler, flavonol glukozitleri, sinnamik asit türevleri, katesinler ve protoantosiyanidinlerdir.¹⁰⁻¹⁴ GSE, proantosiyanin içeren doğal ve en etkili antioksidan aktiviteye sahip benzer flavanoidlerin bir karışımıdır.¹⁵

Çalışmanın Hipotezi;

Farklı sürelerdeki yüzme egzersizi ile birlikte kullanılan GSE' nin kas dokusu üzerinde meydana gelen serbest radikal oluşumunu engeller.

GSE' nin kullanımının oksidatif stres üzerine etkisi nedir?

Buradan yola çıkarak farklı süreli yüzme egzersizi ile birlikte kullanılan GSE' nin kas dokusu üzerinde meydana gelen serbest radikal oluşumunu ve sportif performansı nasıl etkilediğini ortaya koymak için planlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Egzersiz

Egzersiz, İskelet kaslarının kasılması sonucunda üretilen, bazal düzeyin üzerinde enerji harcamayı gerektiren bedensel hareketlerdir.¹⁶ Pek çok hayvan için hareketlilik yaşamın temelidir. İnsanlar için ise egzersiz; bir süredir yaşamın anlamı, bir yaşam biçimi, bazen eğlence, bazen de tedavi anlamına gelmektedir. Günümüzde birçok hastalığın tedavisinde kullanılan egzersizin, kalp damar hastalıklarının, diyabet hastalığının, kanser ve birçok hastalığın iyileştirilmesi ve önlenmesinde ayrıca obezitenin azaltılması, hipergliseminin önlenmesi, kan lipidlerinin, sistemik kan basıncının düşürülmesi gibi metabolik etkilerinin yanında, dengeyi geliştirmesi, düşme faktörünü azaltması gibi genel etkilerinden de bahsetmek gerekir.¹⁷

Egzersiz sırasında kasılan iskelet kası, ATP üretmek için, CP, kas glikojeni, kan glukozu, laktat, yağ dokudaki veya kas içi trigliserit depolarındaki serbest yağ asitleri gibi çeşitli intra- ve ekstraparankimiyal maddeleri kullanabilir. Bu maddelerin kullanımında her ne kadar antrenman durumu, diyet ve çevresel faktörlerin rolü olsa da, özellikle önemli olan faktörler egzersiz süresi ve şiddetidir. Şiddeti giderek artan egzersizde kasa gelen O₂'nin azalması ile enerji metabolizması anaerobik yola kayar, bu kaymanın ilk başladığı yere anaerobik eşik denir. Bu eşik altındaki şiddeteki egzersizlere aerobik, üstündeki şiddetteki egzersizlere ise anaerobik egzersiz denir.¹⁸

Aerobik egzersiz, daha uzun süreli fakat daha az kuvvet harcanarak yapılır¹⁶⁴. Aerobik egzersizde sadece kastaki depolanmış enerji kaynakları (yağ dokusundaki yağ ve karaciğer glikojeni) kullanılmaktadır. Anaerobik egzersiz, hücrenin enerji ihtiyacını oksijenden bağımsız olarak sağladığı egzersiz çeşitlerine işaret etmekte kullanılır. Anaerobik egzersizler daha çok kısa süreli ve yüksek yoğunlukta olurlar. Anaerobik

egzersizin aksine aerobik egzersizler düşük yoğunluklu ve uzun süreli egzersiz çeşididir.^{19,20}

2.1.1. Egzersizde Enerji Metabolizması

Egzersiz esnasında kasların enerjiye ihtiyacı vardır. Bu enerjinin ilk kaynağı ATP'tır. Bu enerji herhangi bir metabolik süreç ya da kas kasılması için kullanılabilir. ATP, adenosin molekülü ve ona bağlı üç fosfat grubundan oluşur. ATP' nin son iki fosfat grubu arasındaki bağ yüksek enerjili fosfat bağıdır ve parçalandığında 7 ile 12 kcal arasında enerji açığa çıkar.⁸

ATP sentezini sağlayan metabolik yollar üç kategoride incelenebilir;

- 1) ATP-CP: fosfojen sistem
- 2) Anaerobik glikoliz ya da laktik asit sistemi
- 3) Aerobik sistem.

İlk iki sistemde ATP depoları oksijen yokluğunda yenilenir ve bu yüzden bu sistemler anaerobik sistemler olarak adlandırılır. Üçüncü sistemde ise ATP sadece oksijenli ortamda üretilir ve bundan dolayı aerobik sistem olarak adlandırılır.²¹

Aerobik enerji sistemi, oksijenin yardımıyla karbonhidrat ve yağların su ve karbondioksitde parçalanması sonucu enerji teminini sağlamaktadır. Anaerobik enerji üretim sistemleri ise kendi içinde iki bölüme ayrılır; ATP-CP: Fosfojen sistemi ve Anaerobik glikoliz ya da laktik asit sistemi.²²

2.1.2. ATP-CP: Fosfojen sistemi

Fosfajen sistem oksijene gereksinim duymadan (anaerobik), laktik asit oluşturmadan, doğrudan enerji sağlayan metabolik sistemdir. Kısa süreli ve yüksek şiddetteki sportif aktiviteler için metabolizmamız kas içindeki yüksek enerjili fosfatları veya fosfojenleri, yani ATP ve CP enerji kaynağı olarak kullanır. Her ikisi birlikte 8-10 saniyelik maksimal kas gücü sağlayabilir.^{19,23,24}

Kreatin kas kasılmasındaki kimyasal enerji için önemli bir kaynaktır. Çünkü bir fosfat grubunun adenosin difosfata bağlanarak adenosin trifosfat oluşturması için fosforilasyona girer ki, bu da fosfokreatinin oluşturulması gibi hızlıdır ve geri dönüşümlüdür. Bu fosforilasyon ve defosforilasyon kreatin kinaz enzimi tarafından katalize edilir ve yüksek şiddette, kısa süreli fiziksel aktiviteler için yüksek enerjili fosfat kaynağıdır.²⁵

2.1.3.Anaerobik Glikoliz ya da Laktik Asit Sistemi

Anaerobik glikoliz glikozun (glikojenin) anaerobik yolla parçalanmasıdır. Egzersiz sırasında kullanılan ATP'nin yeniden sentezi için glikojen hızla anaerobik glikolizle parçalanmakta, ortalama 2 mol ATP molekülü salınırken, laktik asit oluşmaktadır ve oluşan laktik asit ortam pH'nın asit yöne kaymasına, metabolizmanın hücre düzeyinde yavaşlamasına, hatta erken yorgunluğa neden olmaktadır. Anaerobik glikolizle 3 mol ATP ortaya çıkarılır ve bu sistemle ATP oluşturulurken son ürün olarak laktik asit ortaya çıktığından dolayı bu sisteme laktik asit sistemi adı verilir.^{18,26}

Sadece karbonhidratların (yağlar ve proteinler hariç) oksijen kullanılmadan kısmen parçalanması ile bir ara maddeye (laktik asite) dönüşümünü içerir. Bu metabolizma ile aerobik metabolizmaya oranla çok daha az miktarda enerji üretimi gerçekleşir. Anaerobik metabolizmada oksijen kullanılmadan enerji üretimi söz konusudur.^{27,29}

Normal koşullarda 100 cc kanda 10 mg veya 1.1 mmol/l laktik asit bulunur. Egzersizde anaerobik metabolizmanın etkisiyle laktik asit miktarı artar ve egzersizin süresi ve şiddeti bu artışın düzeyini belirler. Yüksek şiddette yapılan egzersizlerde laktik asit birikimi daha çok artar ve PH'nın azalımı ile birlikte (metabolik asidoz) yorgunluğa neden olur.

Laktat dehidrogenaz etkisi ile oluşan laktat, ökaryotik hücrelerde anaerobik glikolizin son ürünüdür. Laktat, laktik asidin sodyum, potasyum tuzudur, laktik asit ile aynı anlamda kullanılır. Laktat anaerobik metabolizma sırasında oluşan bir üründür. Glikozun oksijensiz bir ortamda parçalanması sonucu oluşur. Kanda ve kasta birikerek yorgunluğa neden olur ve PH'ı düşürerek metabolik asidoza yol açar.

Laktatin enerji kaynağı olarak kullanımı hem anabolik hem de kataboliktir. Maksimal oksijen kullanım hızında laktat konsantrasyonu 8-12 mmol/l'tir. Bu yoğunluktaki egzersizi 10-12 dakikadan fazla sürdürmek mümkün değildir. 10 mmol/l kan laktat konsantrasyonuna ulaşıldığında kasılma mekanizması bozulmaya başlar ve sporcu süratini aynı hızda devam ettiremez. Laktik asit birikmesi ortamı asitleştirir ve reaksiyonları sınırlar. Cori döngüsü, oluşan laktik asidin kaslardan karaciğere, karaciğerde oluşan glikozun kaslara geri taşınmasıdır.²⁹⁻³¹

2.2. Antioksidanlar

Hücrelerde oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır.³² Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada, enzimatik ve enzimatik olmayan bu savunma sistemlerine antioksidan savunma sistemleri ya da kısaca antioksidanlar denilmektedir. Fonksiyonları, genel olarak koruma, durdurma ve tamir olmak üzere 3 kısımda toplanabilmektedir.³³ İlk aşamada önleyici/koruyucu antioksidanlar (Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, metallerle kompleks yapıcı proteinler) radikal oluşmasını engellerler. Engellenemeyen antioksidanlar radikal yakalayıcılar (C vitamini, ürat, albumin zincir başlamasını önleyerek, E vitamini, ubikinon, karotenoidler, flavonoidler zincir ilerlemesini durdurarak) tarafından tutularak zincirin başlaması veya ilerlemesi durdurulur. Durdurulamayan radikaller hücreye zarar vermişse, onarıcı antioksidanlar (lipaz, proteaz, DNA onarıcı enzimler, transferazlar) devreye girerler ve hücreleri onararak ya

da yenileyerek hastalıkların oluşmasına engel olurlar. Meyve, meyve suyu, sebze, kuruyemiş, çay ve tohumlardaki antioksidan içerik ve aktivite vücudu oksidatif strese karşı korumada başlıca rol oynamaktadır.³⁴⁻³⁹

Antioksidan maddeler başlıca altı mekanizma ile çalışırlar. Bunlar oluşan serbest radikalleri toplayıcı ve giderici etkileri ile bağlayarak veya kararlı hale getirerek; zincir kırıcı etki ile serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurarak; baskılayıcı etki ile reaksiyon hızını azaltarak; onarıcı etki ile lipid, protein ve DNA gibi yapılarda oluşmakta olan biyolojik moleküler hasarı rejenere ederek; hücresel kinaz kayıplarını önleyip oksidasyon reaksiyonlarını durdurarak; organizmadaki SOD gibi antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezini artırarak etkilerini gösterirler

Antioksidan maddeler, aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan aktif oksijenleri temizleyerek, oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararları hücresel düzeyde engellemekte (DNA bozulmalarını ve yağların peroksidasyonunu azaltan, meydana gelen hasarın tamirinde görev alan) dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmaktadır. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek veya serbest radikalleri toplayarak lipid peroksidasyonunu ve hücre zararını engellerler.

Antioksidanlar iki grupta sınıflandırılırlar. Bunlar;³⁹⁻⁴¹

- Enzimatik
- Nonenzimatik

Enzimatik antioksidanlar; SOD, katalaz ve GPx. Non-enzimatik antioksidanlar ise vitamin E, vitamin C, vitamin A (a-karoten), fenolik bileşikler, selenyum, transferin ve laktoferrindir.

2.2.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

2.2.1.1. Enzim Olan Endojen Antioksidanlar ⁴²⁻⁴⁵

- Süperoksit dismutaz (SOD)
- Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)
- Glutasyon S-Transferazlar (GST)
- Katalaz (CAT)
- Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi
- Hidroperoksidaz

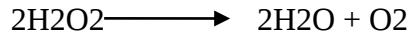
2.2.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit serbest radikalının (O_2) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. SOD'ın fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının (O_2) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosit edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar.⁴²⁻⁴⁵ Bütün canlılarda SOD enzimi kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre 3 sınıfta toplanır. Bunlar aynı reaksiyonu katalizle ederler. Demir içeren (FeSOD) ve mangan içeren (MnSOD) enzimleri prokaryotların karakteristiğidir. Hem bakır hemde çinko içeren enzimler (CuZnSOD) ökaryotların karakteristiğidir.⁴⁶

2.2.1.1.2. Katalaz (CAT)

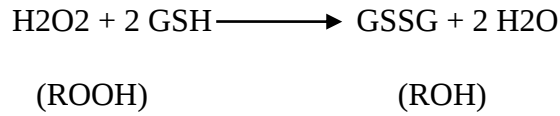
Katalaz ($H_2O_2:H_2O_2$ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz, hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya ve oksijene parçalar. Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi (H_2O_2) hidroksil serbest radikali (OH) oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır.⁴²⁻⁴⁵

Katalaz



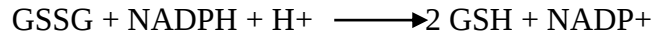
2.2.1.1.3. Glutatyon Peroksidaz (Gsh-Px)

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. Glutatyon peroksidaz (glutatyon: H_2O_2 oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9), hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir.⁴⁷



2.2.1.1.4. Glutatyon Redüktaz (GR)

GSH-Px tarafından H_2O_2 veya diğer lipid peroksitlerin indirgenmesi sırasında GSH-GSSG' ye dönüşüyordu, bu okside formun tekrar redükte forma dönüşerek reaksiyonlarda kullanılması gereklidir, çünkü organizmanın GSH deposu sınırlıdır. İşte GR enzimi NADPH varlığında bu indirgeme olayını yürütmektedir.⁴⁷



2.2.1.2. Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar.⁴²⁻⁴⁵

- Melatonin
- Seruloplazmin
- Transferrin
- Miyogloblin
- Hemogloblin
- Ferritin
- Bilirubin
- Glutatyon
- Sistein
- Metiyonin

- Ürat
- Laktoferrin
- Albümin

Düşük molekül ağırlıklı olan bu antioksidanlar okside olarak başka bir substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktirir veya önlerler. Bunların bir kısmı endojendir (lipoik asit, glutatyon, koenzim Q 10 gibi). Bir kısmı diyetle alınır (α tokoferol, askorbik asit, karotenoidler, polifenoller gibi,^{48,49} Deride ultraviyolenin oluşturduğu oksidatif stres dikkate alınarak; güneş yanıkları, fotodermatozlar ve fotokarsinogenez gibi tablolarda bunların önlenmesi amacıyla beta karoten, askorbik asit ve tokoferol gibi antioksidan ürünler kombine olarak veya tek başlarına kullanılmıştır. Ancak bu çalışmaların sayısı az olduğu gibi sonuçları da çelişkilidir.⁵⁰

2.2.1.2.1. Karotenoidler

(β karoten, α karoten, β crytoxanthin, likopen, lutein/zeaxanthin)

En iyi incelenmiş olan potent bir antioksidan olan β karotendir. Hızla singlet oksijeni yakalar. Karotenin küçük bir bölümünün A vitaminine dönüşmesi sayesinde plazma dengesi sağlanır ve A hipervitaminoz engellenir. β karoten hipodermiste birikir, deriye bronz renk verir. Yüksek karoten seviyelerinin oksijen basıncının yüksek olduğu yerlerde pro-oksidan etkilere neden olabileceğinden de söz edilmektedir. Vitamin A epitel koruyucudur, kronik fotoyaşlanmanın azaltılmasında önemlidir, potansiyel antikarsinojen etkileri gösterilmiştir. Ancak uzun süreli kullanımı hipervitaminozoza neden olabileceği için kullanımı kısıtlı kalmıştır.^{48,49}

Dermatoloji literatüründe, A vitamininin fotohasarlı deride kanser gelişimini önleyici etkilerini, β karotenin ultraviyoleye bağlı deri kanseri gelişimini engelleyici etkilerini, karotenoidlerin ultraviyole eritenine karşı koruyucu etkilerini (en az 10 hafta

kullanımdan sonra) gösteren çalışmalar bulunmaktadır.^{51,53} Uzun süreli β karoten kullanımı ile ilgili ciddi soru işaretlerine neden olan bir çalışma Finlandiya’da gerçekleştirilmiştir.⁵⁴ 50-69 yaş aralığında 29000 kişinin katıldığı bu çalışma sigara içen erkeklerde 5-8 yıl boyunca 20mg/gün β karoten kullanımının akciğer kanseri sıklığını %18, mortaliteyi %8 arttırdığını göstermiştir.⁵⁴

2.2.1.2.2. C Vitamini

Kan ve plazmada serbest radikallere karşı ilk savunmayı sağlar. Lipit peroksidasyonunu engeller. Vitamin E' nin rejenerasyonunu sağlar ve antioksidan etkinliğini artırır. Prooksidan özelliklerinden bahsedilse de kanıtlanmamıştır. Yüksek doz C vitamininin (2gr) yan etkisi bulunmamakla beraber özel bir faydasında olduğu saptanmamıştır.^{48,49} İnsan derisinde ultraviyolenin oluşturduğu oksidatif strese karşı önleyici olabileceği düşünülmekle beraber kanıtlanmamıştır.⁵⁵

2.2.1.2.3. E Vitamini

Hücre membranlarında ve dolanan lipoproteinlerde bulunur. Membran yağ asitlerini lipit peroksidasyonundan korur. Lipit peroksidasyonuna karşı C vitamini ile birlikte çalışır.^{48,49} Minimum gereksinim 12 mg/gün iken 400 mg/gün üstündeki dozlarda ölüm riskinde artış olduğu ileri sürülmüştür.⁵⁶ Yüksek doz α -tokoferol ve askorbat kombinasyonunun insan derisinde ultraviyolenin oluşturduğu immunsupresyonu azalttığı saptanmıştır.⁵⁷

2.2.1.2.4. Polifenoller

Polifenoller diyetle alınan antioksidan bir grup olup, yeşil çay, üzüm ve soya ile ünlüdür. Bu grupta 13 sınıfta toplanmış 4000 kadar bileşik bulunmaktadır (flavonoidler, fenolik asit, antosiyanin, kateşinler, flavonlar, flavonol, flavonon, isoflavonlar, lignanlar, proantosiyonidin, prosiyonidin, resveretrol, tanin). Antiinflatuar, antiallerjik, antiviral, antiaging, antikarsinojen, antioksidan özellikte

olup biyolojik cevap değiştirici gibi davranırlar. Kardiyovaskuler sisteme çok olumlu etkileri bildirilmiştir. Rutin tüketimlerinin solar hasara karşı koruyucu etkilerini gösteren epidemiyolojik çalışmaların yanı sıra ultraviyoleye ve tümör gelişimine karşı koruyucu etkileri gösteren çeşitli hayvan çalışmaları da vardır.⁵⁸ Ortamda demir, bakır gibi redoksu aktifleşen metallerin olması durumunda ve yüksek PH da polifenollerin yüksek konsantrasyonunun prooksidan etki yapabileceği bildirilmektedir.⁵⁹

2.2.1.2.5. Koenzim Q-10

Endojen sentezlenen yağda çözünen tüm membranlarda bulunan bir antioksidandır. E vitamini ile sinerjistik çalışır.⁴⁸

2.2.1.2.6. Lipoik asit

Lipoik asit hem suda hem yağda özünür. Prooksidan metallerle birleşerek antioksidan etkisini gösterir. Lipoik asit ve Q enzimle ilgili çalışmalar daha çok kardiyovaskuler sistem koruyuculuklarıyla ilgilidir.⁶⁰

2.2.1.2.7. Glutasyon

Suda özünen bir antioksidandır. Glisin, glutamat ve sisteinden oluşur. Ksenobiyotik metabolizmada önemlidir. C vitamini ile beraber çalışır.⁶⁰ Oral yoldan verilmesinin kan seviyesini etkilemediği gösterilmiştir.⁶¹

2.2.1.2.8. Selenyum

Oral kullanılan antioksidanlar arasında bulunan bu iz element antimutajenik ajan olarak bilinir. Normal hücrenin malin transformasyonunu engeller. P-53'u regule eder. Genel olarak selenoenzimlerin hücre bölünme kontrolünde, oksijen metabolizmasında, detoksifikasyon sürecinde, kanser hücrelerinde apoptozun indüklenmesinde, onkojen inaktivasyonunda, immun sistem fonksiyonlarında görevi vardır. 200 µg/ gün selenyum kullanımının akciğer, kolon, prostat kanseri riskini azalttığı gösterilmiş olmakla beraber, deri kanseri riskinde değişme görülmemiştir.⁵⁹

2.2.1.2.9. Melatonin

Pineal glandda serotonininden sentezlenen bir hormondur. Hem lipit hem aköz çevrede oksidatif hasara karşı etkilidir. Redoks sistemine katılmaz, enzimatik antioksidanları aktive eder. SOD, GSH-Px, NO sentetaz aktivite ve ekspresyonunu stimule etmesi nedeniyle güçlü antioksidandır. Sirkadian ritmi düzenler. Daha çok uyku bozukluklarına yönelik çalışmalar vardır. Yaşlanma karşıtı olarak ümit verici olabileceği düşünülmektedir. Uzun süreli yan etkileri henüz bilinmemektedir. Otoimmün hastalıkları tetikleyici olabileceğine dair düşünceler vardır.^{49,62}

2.2.2. Eksojen Antioksidanlar.⁴²⁻⁴⁵

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere 3 grupta sınıflandırılabilirler. Bunlar;

- 1) Vitamin eksojen antioksidanlar
- 2) İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar
- 3) Gıdalardaki eksojen antioksidanlar

Vitamin Eksojen Antioksidanlar.⁴²⁻⁴⁵

- α - tokoferol (vitamin E)
- β -karoten
- Askorbik asit (vitamin C)
- Folik asit (folat)

İlaç Olarak Kullanılan Eksojen.⁴²⁻⁴⁵

- Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
- NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, diphenylene iodonium)
- Rekombinant süperoksit dismutaz
- Trolox-C (vitamin E analogu)

- Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)
- Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
- Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
- Nötrofil adezyon inhibitörleri
- Sitokinler (TNF ve IL-1)
- Barbitüratlar
- Demir şelatörleri

Gıdalardaki Eksojen Antioksidanlar.⁴²⁻⁴⁵

- Butylated hydroxytoluene (BHT)
- Butylated hydroxyanisole (BHA)
- Sodium benzoate
- Ethoxyquin
- Propylgalate
- Fe-superoxyde dismutase

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler. Bunlar;⁴²⁻⁴⁵

- Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirmede toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
- Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürmede bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyicidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

- Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılmasında, onarıcı etkidir.

Aerobik canlılarda, SOR oluşumuyla birlikte, SOR' un zararlı etkilerini önlemek amacıyla antioksidan savunma sistemleri ya da kısaca antioksidan olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları da gelişmiştir.⁶³ SOD, GSH-Px, GSSG-Rd, katalaz gibi enzimler ve vitaminler, tiyoller gibi enzim olmayanlar şeklinde yapılarına göre sınıflandırılabilen antioksidanlar, serbest radikallerin lipidler, proteinler, nükleik asitler gibi hedef biyomoleküllere vereceği hasarı önleyen maddelerdir.⁶⁴

Diyetle alınan antioksidan vitamin ve mineraller vücudun savunma sisteminde oksidatif stresi yükseltebilir ve meydana gelen bu oksidatif stres kısa sürede dokuların yok olmasına neden olurken uzun dönemde de ciddi kronik hastalıklara yol açabilir.⁶⁵ Lipid oksidasyonu, nükleik asitler, protein ya da reaktif oksijen türleri tarafından bazı kronik hastalıklara yol açabilir. Örneğin; kanser, kardiyovasküler, kataraz, yaşa bağlı makular dejenerasyonu.⁶⁶⁻⁶⁹

Fenolik bileşikler, benzenin hidroksi türevleri olan sekonder metabolitlerdir ve bitkilerde fazla miktarda bulunurlar. Fenollerin antioksidant etkileri de benzen halkasında hidroksi gruplarının bulunmasından kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşikler iki gruba ayrılırlar. Bunlar; fenolik asitler ve flavonoidler. Flavonoidler bitkisel besinlerde, daha çok sebze ve meyvelerde; bitkilerin gövde, sap ve çiçek kısımlarında, çay ve şarapta bulunan, antioksidan özellikleriyle bilinen ve besin öğesi sayılmayan polifenolik maddelerdir. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşmasında etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, sarı-esmer, kırmızı-mavi tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar.^{39,70, 71}

Antioksidanlar serbest radikal tutucuları tümör oluşumunun hem başlamasında hem de yayılma aşamalarında inhibitör olarak işlevsellik yapar ve oksidatif hasara karşı

koruyucu özellik taşıyan C, E vitamini, beta karoten, antiyodiner ve bazı antioksidan enzimler tümörün oluşması ve gelişme döneminde dejeneratif önleyici olduğu gözlenmiştir.⁷¹

O₂ ve OH sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran permeabilitesi artar.

Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer amino asit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkileri sonucunda hücre hasarı oluşur. Hücrede ROS ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. İskemi sonrasında reperfüzyon da ROS artışına bağlı olarak iskeminin oluşturduğu hücre hasarını artırır. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Aterogenez, amfizem/bronşit, Parkinson hastalığı, Duchenne tipi musküler distrofi, gebelik preeklampsisi, serviks kanseri, alkolik karaciğer hastalığı, hemodiyaliz hastaları, diabetes mellitus, akut renal yetmezlik, Down sendromu, yaşlanma, retrolental fibroplazi, serebrovasküler bozukluklar, iskemi/reperfüzyon injürisi gibi durumlarda serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarı söz konusudur.

Serbest oksijen radikallerinin etkileri ROS oluşumu enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı (pO₂), O₃ ve NO₂, kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyarıların etkisiyle artar. Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler.⁷¹

2.3. Antioksidanlar Ve Egzersiz

Egzersiz ile oksijen tüketimi ihtiyacı artmakta ve oksijen tüketiminin artması serbest radikal üretiminde artışa yol açmaktadır. Oluşan bu serbest radikaller enzimatik

ve nonenzimatik antioksidanları içeren bir savunma sistemi tarafından nötralize edilir. Düzenli antrenmanın, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırmak suretiyle oksidatif stresin zararlı etkilerini ortadan kaldırdığı gösterilmiştir. Egzersize cevaben oluşan faydalı etkiler oksidatif stres ve artan antioksidan kapasite arasında bir bağlantı olduğu anlamına gelir. Antrenmanlı bireylerde istirahatta kan antioksidan aktivite düzeyinde artış saptandığını ve bu antioksidan aktivitenin egzersiz sonrasında daha fazla yükseldiğini belirten çalışmalar vardır. Ancak bu sonuçların tartışmaya açık oluşu hala sürmektedir.^{72,73}

İnsan bedeni özel yetenekleri olan mükemmel bir varlıktır. Merkezi sinir sistemi yaşam dinamizmini kontrol eder. Kalp, yaşam boyu düzenli olarak vücuda kan pompalar. Sürekli egzersizlerle solunum sindirim, boşaltım ve iskelet kas sistemlerinin istenen düzeyde tutulması sağlanır. Uzun süre hareketsiz kalan insan bedeni hareket yeteneğini kaybeder ve sağlık problemleri doğurabilir.⁷⁴

Düzenli egzersizlerin, iskelet kasında hem antioksidan savunmayı hem de oksidatif kapasiteyi geliştirerek, oksidatif hasarın neden olduğu hastalık türlerini azalttığı, genel hayat kalitesini yükselttiği ve ömrü uzattığını belirtmişlerdir.^{75,76} Egzersiz süresince kasta meydana gelen oksidatif stresi azaltmak için antioksidan ve vitamin gereksinimi artmıştır.⁷⁷ Fiziksel egzersizler aynı zamanda, enzimatik antioksidan aktivitesinde veya non-enzimatik antioksidan konsantrasyonlarında bazı değişikliklere yol açar. Bir çok çalışma, hem insanlar hem de hayvanlarda, aerobik egzersizden sonra dokularda veya kandaki antioksidan enzim aktivitesinin (SOD, GPx, CAT) arttığını saptamışlardır.^{78,79}

Enzimatik olmayan antioksidan konsantrasyonlarındaki değişikliklerin ise çoğu çelişkilidir. Bazı çalışmalarda GSH veya GSH/GSSG'nin egzersiz esnasında serbest radikallere karşı kullanımı nedeniyle düştüğü ileri sürülürken,^{80,81} bazı çalışmalarda ise

Vitamin E, C ve ürik asitin dayanıklılık antrenmanından sonra artma eğiliminde olduğunu bildirmişlerdir.^{82,83} Kronik egzersiz, çift yönlü etkilere sahiptir; bir taraftan oksidan oluşumu ve oksidatif stresle sonuçlanırken, diğer taraftan egzersizin neden olduğu oksidatif stresin etkilerini en aza indirmek için antioksidan enzimleri harekete geçirmektedir.^{84,85}

Antioksidanlar içinde önemli bir bileşke olan polifenolikler, serbest radikalleri ve lipid peroksidasyonu temizleyip azaltırken ayrıca bunların neden olduğu görülme sıklığı olan hastalık risklerini de en az düzeye indirmektedir. Hem enzim hem de enzim olmayan antioksidanlar hücre içi ve dışında çözünmesi sonucu oluşan ROS'u önlemek için kompleks bir yapıya sahiptir. Özellikle hücre içi savunmayı en üst düzeyde tutmak için hücre içinde bulunan farklı silahlarla ROS toksitisine karşı koruma sağlamaktadırlar.⁸⁶⁻⁸⁸

Egzersiz ile alınan antioksidan ve vitaminlerin, miyokard infarktüsü, ilaca bağlı karaciğer ve böbrek hasarı, anti-trombotik, anti-tümör, anti-mutajenik, anti-radyasyon gibi dejeneratif fonksiyonlarına da etki ettiği saptanmıştır.⁸⁹⁻⁹³

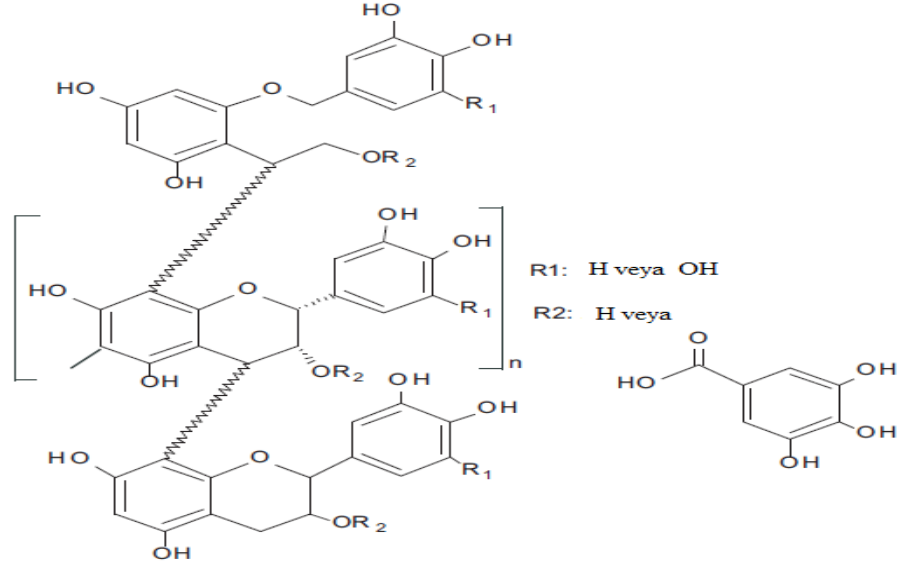
Metabolizma için oksijen, yağ, protein ve lipidler enerji elde etmede gereklidir. Ancak; oksijen aynı zamanda serbest radikaller denilen aşırı derecede reaktif ve hasar verici maddelere dönüşebilir. Serbest radikaller vücuttaki sağlıklı hücrelerle reaksiyona girerek onların fonksiyon ve yapılarını kaybetmelerine neden olabilir. Serbest radikaller elektrik yüklü moleküller olup, serbest bir elektron taşırlar. Bu nedenle çevrelerindeki maddelerden bir elektron çalmaya çalışırlar. Böylece bir radikal nötralize olurken yeni bir radikal ortaya çıkar ve ardışık reaksiyonlar birbirini takip eder. Antioksidanlar bu molekülleri çevredeki dokulara saldırmadan önce stabil hale getirirler. Antioksidanların varlığı optimal hücresel ve sistemik denge için şarttır.³⁶

Antioksidan sistem her zaman yeterli düzeyde olmayabilir. Oksidatif stres oksidan/antioksidan dengenin oksidatif metabolizmanın artması ile bozulmasını ifade eder. Serbest radikaller tarafından oluşturulan bu hasarların yaşlanma, dejeneratif hastalıklar, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, immun ve beyin fonksiyonlarındaki bozukluklara da neden olduğu bilinmektedir. Ancak, SR oluşumu antioksidanlar tarafından kontrol edilmektedir. Fiziksel aktivite, şiddet ve süresiyle orantılı olarak metabolik süreçleri ve oksijen tüketimini artırarak daha fazla serbest radikal oluşumuna neden olabilir. Bu artış ile sonuçlanan oksidatif stres, kas yorgunluğu, kas hasarı ve ağrısı, sürantrenman ve azalan fiziksel performans ile ilişkilidir.^{39,94,95}

Oksidatif hasarın neden olduğu hastalıklar.^{39,94,95}

- Kardiyo-vasküler hastalıklar
- Kanser
- Norodejeneratif hastalıklar
- Katarakt
- Artrit ve inflamatuvar hastalıklar
- Diyabet
- Şok, trauma, iskemi
- Pankreatit
- İnflamatuvar barsak hastalıkları ve kolit
- Allerji
- Enfeksiyonlar

2.4. Grape Seed Extract (Üzüm Çekirdeği Özütü-GSE)



Şekil 2. 1. Proantosiyanidin'in kimyasal yapısı.⁹⁶

Dünya Sağlık Örgütü'nün 1989 yılında Fransa'nın Toulouse şehrinde yaptığı epidemiyolojik çalışmada, yüksek oranda doymuş yağ tüketmelerine rağmen bu kentte yaşayanlarda kolesterol ve benzer risk faktörleriyle ilişkili koroner kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin Amerika ve İngiltere gibi ülkelere kıyasla önemli ölçüde daha düşük olduğu bulunmuş ve bu enteresan olay “Fransız Paradoksu” olarak adlandırılmıştır. Yüksek yağ içeren diyetle beslenmelerine, az egzersiz yapmalarına ve sigara içmelerine rağmen Fransa'daki kardiyovasküler hastalıklara bağlı ölümler ABD'ye ve diğer batı ülkelerine kıyasla daha azdır.⁹⁶ Epidemiyolojik çalışmalardan derlenen veriler kırmızı şarap tüketiminin faydalı etkiler sağladığını göstermiştir. Bu konuyla ilgili sonraki çalışmalar kırmızı şarabın içerdiği flavonoidlerin antioksidan etkisinin bu kardiyovasküler yarara katkıda bulunduğunu göstermiştir. Kırmızı şarapta bulunan resveratrol ve oligomerik proantosiyanidinler gibi polifenolik içeriklerin Fransız paradoksunun temelini oluşturduğu gösterilmiştir. Her geçen gün popüleritesi artmakta olan üzüm çekirdeği, insanların bu konuda daha da bilinçlenmesi ve modern şartlarda hazırlanmış ticari ürünlerin piyasaya girmesi sebebiyle, günümüzün önemli diyet katkı

maddelerinden biri haline gelmiştir. Üzüm çekirdeği birçok polifenol yapıyı ihtiva etmekte olup bunlardan en önemli ve hakkında en çok araştırma yapılanı proantosiyanidinlerdir. Proantosiyanidinler kondanse taninler olarak da bilinen polimerik bileşiklerdir.⁹⁶⁻⁹⁸

Bir doğal polifenolik bileşik olan PA yaygın olarak meyve, sebze, fındık, tohumlar ve çiçeklerde mevcuttur. GSE serebral yaralanmalar esnasında sinirleri koruyucu etkiye sahiptir.⁹⁸⁻¹⁰⁰ Yüksek dozlarda üzüm çekirdeği proantosiyanın özütü, NO'nin sebep olduğu oksidatif stresi artırarak sitotoksiteyi uyardığı belirlenmiştir.¹⁰¹ GSE, PA bir bileşeni, sadece nöronal hücre ölümünü engelleyen güçlü bir sinir korucu olduğu tespit edilmemiş aynı zamanda hafızayı güçlendirdiği tespit edilmiştir. Kalbi koruyucu etkisi diğer suda çözünenlerle karşılaştırıldığında daha etkili olduğu saptanmıştır.⁴⁰

Yağların peroksidasyonunun inhibe edilme potansiyeli moleküllerin polimerizasyon düzeyine bağlı olarak artmaktadır. Daha fazla katesin ve epikatesin ünitesine sahip olan proantosiyanidinler daha potansiyel inhibitörlerdir. Ayrıca yapıda bulunan gallat grubu da lipid peroksidasyonu üzerindeki inhibe edici etkinliği arttırmaktadır. 3-hidroksi pozisyonundan gallat grup bağlanmış olan prosiyanidin dimeri çok daha yüksek inhibitör etkinlik göstermektedir.¹⁰² Proantosiyanidinlerin, C vitamini ve vitamin E süksinata göre daha güçlü antioksidanlardır. Üzüm çekirdeğinden elde edilen proantosiyanidinler, kapiler duvarını stabilize eder ve geçirgenlikteki (permeabilite) artıştan koruyarak, ödem oluşumunu baskılar.¹⁰³ Prosiyanidolik oligomerler kolajen liflerinin çapraz bağlanmasını sağlayarak, damar bağ dokusundaki kolajen oluşumunu destekler. Proantosiyanidinlerin kemoprotektif özellikleri, serbest radikaller ve oksidatif hasara karşı aktivitelerinden kaynaklanır.¹⁰⁴ Bileşiğin güçlü antioksidan etkinliğinden kaynaklanan anti-tümör destekleyici etkisi kanıtlanmıştır.¹⁰²

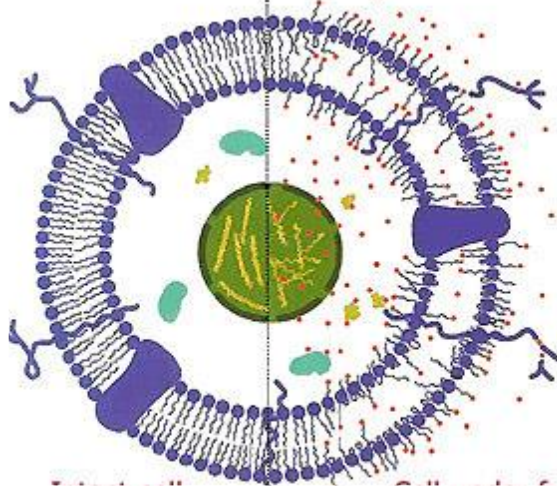
Düşük yoğunluklu LDL, serbest radikaller tarafından oksitlenmesi ateroskleroz başlangıcı ile ilişkilendirilir. Proantosiyanidinler, aterosklerotik lezyonlardaki LDL-pozitif hücrelerin sayısını azaltmaktadır.¹⁰³

2.5. Serbest Radikaller

Tahrip gücü fazla reaktif moleküler serbest radikaller, insan sağlığı ve hastalıklardaki rollerinden dolayı son yıllarda oldukça önemli hale gelmiştir.¹⁰⁵ En dış yörüngelerinde bir veya daha fazla serbest elektron içeren atom veya moleküllerdir. Paylaşılmamış elektrondan dolayı stabil olmayan, oldukça reaktif, çok kısa yarı ömürlü maddelerdir. Hücrenin tüm bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliğine sahiptirler. Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} ve Mo^{5+} gibi geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmezler, ancak serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Ortaklanmamış elektronu olan moleküller yüksek derecede reaktiftirler, proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi değişik yapılarda yıkıcı peroksidasyon reaksiyonlarını başlatırlar.¹⁰⁶

Serbest radikal molekülleri eşlenmemiş elektron içeren, çok kararsız, diğer moleküllerle çok hızlı reaksiyona giren ve kimyasal olarak kararlı hale gelebilmek için elektron almaya gereksinim duyan moleküllerdir. Bir moleküle saldırdığında onun elektronunu çalarak okside eder ve bu yeni molekülün kendisi bir serbest radikal haline dönüşür. Bu şekilde başlayan bir zincir reaksiyonlar dizisi canlı hücrenin zarar görmesi ile sonuçlanır.¹⁰⁷

Normal metabolizmanın sürdürülmesi ve hücrelerde enerji üretimi için gerekli olan birçok reaksiyonda serbest radikaller üretilmektedir. Serbest radikallerin yarattığı en büyük zarar hücre zarları üzerinedir. Bunlar hücre zarlarından elektron çalarak eşlenir, hücre zarı ve sonuç olarak hücre yapısını bozar.¹⁰⁷



Şekil 2. 2. Serbest radikallerin hücre zarına etkisi.

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Hücresel koşullarda da ciddi bir miktardır.¹⁰⁸

1) Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün hemolitik yıkımı sonucu oluşurlar. Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır. Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık (500-600 °C) kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya hemolitik kırılma denir.¹⁰⁶

2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.¹⁰⁶

3. Normal bir moleküle elektron transferi ile oluşurlar. Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa, bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir.¹⁰⁶

2.5.1. Serbest Radikallerin Sınıflandırılması

Biyolojik sistemdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Daha az olarak karbon ve kükürt merkezli radikaller de vardır. Oksidatif fosforilasyon sürecinde oksijen suya indirgenir. Ancak % 1-3 'ü tam olarak indirgenemez ve yüksek dereceli reaktif ürünler oluşur.^{23, 108-110}

İnsan vücudunda bütün hücrelere hiçbir zorlukla karşılaşmadan giren ve en çok kullanılma özelliğine sahip olan moleküler O₂, yapısı itibariyle radikal olmaya çok uygun olduğundan serbest radikal denilince aslında serbest oksijen radikalleri, daha genel bir tanımlama ile ROS akla gelmektedir. Genellikle bütün ROS'lerin toksikolojisinin biyolojik etkileri birbirlerine oldukça benzerdir.¹¹¹

Serbest radikallerin biyolojik ortamlardaki türleri ROS ve RNS'lerdir. Bunlardan ROS; oksijen radikallerini ve radikal olmayan reaktif oksijen türevlerini kapsayan genel bir terimdir. Aynı şekilde RNS'ler de, fizyolojik önemi olan serbest radikal türleridir.¹¹²

2.5.1.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

- Süperoksid radikali (O₂[•])
- Ozon (O₃)
- Singlet oksijen (¹O₂)
- Hidrojen peroksid (H₂O₂)
- Hidroksil radikali (OH[•])
- Hipoklorik asit (HOCl)
- Alkoksil radikali (RO[•])
- Peroksil radikali (ROO[•])
- Hidroperoksil radikali (ROOH[•])

2.5.1.2. Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)

- Nitrik oksid (NO[•])

- Nitrik dioksit (NO_2^*)
- Peroksinitrik (ONOO^-)

2.5.1.3. Reaktif Sülfür Türleri (RSS)

- Thiyl radikali (RS^*).

Serbest radikal türleri arasında biyolojik olarak en fazla öneme sahip olanları şunlardır:

2.5.1.1.1. Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali moleküler oksijenin indirgenmesinde ara basamaktır. Oluştığı yerden fazla uzağa yayılamaz. Bu radikalin moleküler düzeyde önemli özelliği, sekonder olarak ürettiği radikallerdir. Süperoksit radikali doğal oksijen molekülünün başka bir molekülden elektron almış halidir. Süperoksit, mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'ın okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+)'e okside olması ile üretilmektedir.¹¹³ Canlılarda olduğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit, başlıca şu mekanizmalarla üretilmektedir:

- 1) İndirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirlerken süperoksit radikali oluşur.
- 2) Başta çeşitli dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere, bir çok enzimin katalitik etkisi sırasında süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir.
- 3) Mitokondrideki oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır.
- 4) Aktive edilen fagositik lökositler bol miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve bulundukları ortama verirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatır. Bu örnekte olduğu gibi radikal yapımı bazı hücrel fonksiyonlar için gerekli de olabilir.¹¹⁴

2.5.1.1.2. Hidroksil Radikali

Serbest radikaller arasında en reaktif ve en sitotoksik olanı hidroksil radikalidir. Yarılanma ömrü çok kısadır ve oluştuğu yerde büyük hasara neden olur. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler ile reaksiyona girebilir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H^{+} in birleşmesinden oluşur.¹¹⁵ Gamma radyasyona maruz kalan dokularda da hidroksil radikali oluşabilir. Alınan enerji hücre suyu tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağı parçalanır. Böylece hidrojen ve oksijen üzerinde dış orbitalde tek elektron kalır ve 2 radikal oluşur. Hidroksilin yarılanma ömrü çok kısadır ve pek çok molekülden H atomu çıkarılmasını sağlar.¹¹³

2.5.1.1.3. Hidrojen Peroksit

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi meydana getirir. Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik/nonenzimatik dismutasyonu tepkimeleri sonucu oluşmaktadır. Hidrojen peroksid membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır. Bu nedenle süperoksitin ulaşamadığı membranla korunan yapılara kolaylıkla ulaşabilir.¹¹³

2.5.1.1.4. Singlet Oksijen

Normal oksijenden çok daha hızlı bir biyolojik moleküldür. Singlet oksijen molekülü yapısında iki adet çiftlenmemiş elektron taşır. Süperoksit gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu singlet oksijen, hücre zarlarının fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturmaktadır.¹¹⁶⁻¹¹⁸

2.5.1.1.5. Nitrojen Oksitler

NO diğerk önemli bir radikaldır. Paylaşılmamış elektronu, nitrojen ve oksijen atomu arasında delokalizedir. Nitrik oksit; nitrik oksit sentazlar tarafından arjininin sitruline dönüşümü sırasında açığa çıkarlar. Nitrik oksit, bir radikal olmakla birlikte reaktivitesi nispeten düşüktür, verdiği hasar da, girdiği reaksiyonlar sonucunda üretilen •NO₂, N₂O₃, NO₂ -, NO₃ -, HONO ve -OONO gibi maddeler etkisiyle oluşur. •NO'nun biyolojik ortamda; oksijen, oksihemoglobin, oksimiyoglobülin, süperoksit radikali, sitokrom c, guanilatsiklaz ile SH- ve NH- içeren bileşenlerle reaksiyona girer. •NO'nun kas gevşetici etkisi, soluble guanilatsiklazın aktive olarak c-GMP oluşturmasıyla meydana gelir. Peroksinitrit; süperoksit ve nitrik oksit radikallerinin birleşmesiyle meydana gelir. Peroksinitrit, nitrik oksit fizyolojik ve toksik rollerini düzenler ve protein fonksiyonlarını değiştirir.

2.5.2. Serbest Radikallerin Kaynakları

Organizmada serbest radikal yapılan olayların başlıcaları mitokondrial elektron transport zinciri, ksenobiyotiklerin metabolizması, fagositik hücrelerin aktivasyonu, prostaglandin sentezi ve iyonize radyasyondur. Bunların yanı sıra reaktif oksijen ürünlerinin hücresel metabolizmayı arttırtan aşırı egzersiz, kronik inflamasyon ve enfeksiyonlar gibi durumlar, çeşitli toksinlere ve ilaçlara maruz kalmadan stres, iskemi-reperfüzyon, travma ve yaşlanmaya bağlı olarak da arttığı bilinmektedir.^{23,108-110}

Ayrıca son zamanlarda, egzersiz sırasında vücut ısısındaki şiddetli değişikliklerin ve ek olarak mitokondrial parsiyel oksijen basıncı PO₂ azalışının, artan serbest radikallerde başlıca mekanizma olabileceği ileri sürülmüştür. Serbest radikal üretiminin ikinci büyük kaynağı, cerrahi müdahalelerin ardından gelişen şoktan sonra veya fiziksel egzersiz sırasında oluşan iskemi-reperfüzyon olayıdır.^{111,119-121} Egzersiz sırasında kan akışı, iskelet kasları gibi aktif bölgelere yönlendirilirken, diğerk dokularda

hipoksi oluşabilir. Egzersizden sonra bu dokular büyük miktarda oksijene maruz kalırlar. Bu olay iskemi-reperfüzyon olarak tanımlanır.^{4,120,}

Organizmada serbest radikal oluşmasına yol açan endojen kaynaklar şunlardır:

Peroksizomlarda var olan enzimler, Nükleus membran ve endoplazmik retikulumda bulunan elektrontransport sistemleri (sitokrom p-450), Mitokondriumda bulunan elektron transport sistemi, Makrofaj ve diğer fagositik hücrelerin aktivasyonu ile meydana gelen solunumsal patlama, NADPH oksidaz, lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz içeren plazma membranı enzimleri ve lipid peroksidasyonu.¹²² İskemi, travma, intoksikasyon gibi durumların sonucu oluşan oksidatif stres, katekolaminler, tioller, tetrahidroproteinler, hidrokinonlar gibi küçük moleküllerin otooksidasyonu, geçiş metallerine afinitesi olan antibiyotikler, ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, adenozin deaminaz, hemoglobin gibi enzimler ve proteinler.¹²³

Canlı organizmada serbest radikal oluşturan eksojen kaynaklar ise şunlardır:

Egzersiz, yiyeceklerde bulunan çeşitli katkı maddeleri. Ksenobiyotikler: hiperoksi, hava kirliliği, anestezi maddeler, pestisitler, solventler, aromatik hidrokarbonlar ve sigara dumanı. Bağımlılık yapan maddeler: alkol, uyuşturucu maddeler. Stres; stres durumunda vücutta katekolamin düzeyi artar ve artan katekolamin oksidasyonu ile radikal üretimi de artar. İyonize ve non iyonize radyasyon. Metal iyonları. Sisplatin, doksorubisin, metotreksat, bleomisin, siklosporin gibi antineoplastik ilaçlar.^{122,125,126}

2.5.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikal reaksiyonları, normal koşullarda bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır.¹²⁷

Serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun artmasının birçok hastalığın patogenezinde rol oynadığını göstermektedir. Serbest oksijen radikallerinin artması, nöronlarda ve Schwan hücrelerinde kümülatif hasara neden olurlar. Son yıllarda yapılan çalışmalar, serbest radikallerin miyokard enfarktüsü, iskemi ve ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar, kas hastalıkları ve astım, diyabet, katarakt, kanser gibi birçok hastalıkla ilişkisi olduğunu göstermektedir. Ayrıca serbest radikallerin yaşlanmada da rolü vardır.¹²⁸

Serbest radikaller hücrelerin lipit, protein, DNA, karbonhidratlar, gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve yapılarının bozulmalarına neden olurlar.^{129,130}

İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid radikalini meydana getirir. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Bu şekilde zincirleme bir reaksiyon başlamış olur.

Lipid peroksidasyonu olarak bilinen membran lipidlerindeki hasar, serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki poliansatüre (çoklu doymamış) yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır. Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir reaksiyondur; çünkü kendi kendini devam ettiren bir zincir reaksiyonu şeklinde devam eder.¹³¹

2.5.4. Malondialdehid (MDA)

Lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksitleri de oluştururlar. Lipid peroksitler daha sonra malondialdehid (MDA)

ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. Bu da tiyobarbutirik asid reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir. MDA ölçümü lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. MDA poliansatüre yağ asitlerinin en önemli peroksidasyon ürünüdür ve artmış olan MDA lipid peroksidasyonun önemli bir indikatörüdür. Egzersize yanıt olarak da MDA sık sık oksidatif stres marker'ı olarak kullanılmaktadır.¹³²

Serbest radikaller, kan ve yapısal proteinleri okside edebilir ve proteinlerin daha basit bileşiklere parçalanmasını sağlayan sistemi yavaşlatabilir. Protein oksidasyonu, iltihaplanma, fiziksel egzersiz veya iskemi-reperfüzyon sonucu oluşabilir.^{133,134}

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehidler meydana gelir. Bunlar diabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar.

Serbest radikaller, baz lezyonları, şeker lezyonları, tek zincir kırılması, DNA-protein çapraz bağlar oluşturma gibi çok değişik yollarla DNA ve nukleoproteinlerde hasarlara neden olabilmektedir. Hücre içinde hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla reaksiyona girerek değişikliklere neden olur. Hidrojen peroksitte membranları kolayca geçerek hücre çekirdeğinde DNA hasarına, sonuçta hücre disfonksiyonu ve hücre ölümüne neden olur. İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde 103 kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür. DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle, çok düşük düzeylerde hasar, sağlıklı bireylerde de saptanmaktadır.¹²⁸

2.5.6. Egzersiz ve Serbest Radikaller

Kas aktivitesindeki artış, enerji üretim ve tüketimini dinlenme düzeyine oranla artırır, buna bağlı olarak çalışan kasa kan akımı ve O₂ kullanımı da önemli derecede artmaktadır. Giderek artan şiddette iş yapıldığında kullanılan O₂ miktarı yapılan egzersizin türüne ve şiddetine bağlı olarak dogrusal bir şekilde belirli bir düzeye erişinceye kadar artmaktadır. Egzersizler sırasında O₂ tüketiminin artması serbest radikal üretiminde artışa yol açar. O₂ tüketimi egzersizin yoğunluğuna ve kişinin performansına bağlı olarak 8-16 kata kadar artar. Oluşan doku hasarı daha sonra NADPH oksidaz tarafından serbest radikal üretimi ile nötrofil gibi inflamatuvar hücrelerin aktivasyonuna neden olabilir.¹³⁵

Egzersiz sırasında, özellikle kas dokusunda artan oksijen tüketiminin doğal sonucu olarak mitokondriyal ETZ sisteminden elektron kaçakları artmakta ve sonuçta ROS üretiminde belirgin bir artış oluşmaktadır. Egzersizde ortaya çıkan ROS artışına neden olabilecek diğer bir sistem ksantin oksidaz enzim sistemidir. Ksantin oksidaz, iskemi-reperfüzyon hasarında artan ROS üretiminden sorumlu tutulan temel enzim sistemini oluşturur. Egzersiz sırasında, egzersize katılan kasların kan akımında artış oluşmasına rağmen, kas kontraksiyonu esnasında ve izometrik türdeki egzersizler sırasında, kas kan akımı geçici olarak azalmaktadır. Ayrıca sindirim sistemi organları ve böbrekler de, egzersiz sırasında kan akımının azalma gösterdiği diğer dokulardır. Kan akımının azalması ve dokunun yeterince oksijenlenememesi ksantin oksidaz enzim aktivasyonuna yol açmakta, kanlanma yeniden sağlandığında dokuya ulaşan bol miktardaki oksijenin varlığında ise ksantin oksidazın katalize ettiği bir dizi reaksiyon sonucu bol miktarda ROS üretimi gerçekleşmektedir.¹

Egzersizin ROS ve RNS oluşumuna ve bununla bağlantılı oksidatif hasara neden olduğu, yapılan antrenmanların ise ROS' un yol açtığı lipid peroksidasyonuna karşı

direnci artırdığı ve DNA hasarını önlediği bildirilmiştir. Dolayısıyla üretilen ROS miktarı yapılan egzersizin şiddetine, süresine ve türüne de bağlıdır. Yoğun ve ağır egzersizlere bağlı serbest radikal üretimi ve kas hasarının önlenmesi konusunda araştırmalara büyük ilgi gösterilmiştir. Yoğun ve ağır egzersizde, iskelet kası hücrelerine oksijen akımı önemli derecede artar ve aynı zamanda ATP tüketimi, ATP üretimini aşar. Hücrelerdeki bu metabolik stres serbest radikal üretimini önemli derecede artırır. Normal koşullar altında, serbest radikaller düşük bir hızla üretilir ve antioksidan sistemin gelişmesine izin verilir. Fakat serbest radikallerin aşırı üretilmesi durumunda, hücresel savunma sisteminin kapasitesi aşılar ve sonuç olarak hücre canlılığı kaybolup hücre nekrozu meydana gelir. Böylece, yoğun egzersiz kas hasarı ve inflamasyona neden olur.¹³⁶

Kısaca özetlemek gerekirse egzersiz sırasında serbest radikal oluşum nedenlerini şu şekilde belirtilebilir;

1) Egzersiz süresince artan O₂ tüketimi (10-40 kat artmaktadır) başlı başına serbest radikal üretimine neden olabilir.

2) O₂ kısmi azalmasına bağlı olarak artış gösteren metabolik ara ürünlerin oluşumu da (örneğin; süperoksitler, hidrojen peroksit ve hidroksil radikaller) serbest radikal üretimine neden olabilir.

3) Metabolizma sonucu üretilen laktik asit hafif hasar oluşturan süperoksit, kuvvetli hasara neden olan hidroksile çevrilebilir.

4) Egzersiz sırasında kanın büyük bölümü çalışan kaslara aktığı için birçok organ ve dokuya giden kan akımı azalmakta ve bu bölgelerde hipoksi oluşturmaktadır. Egzersiz bittikten sonra yeniden kan akımının başlaması ile tekrar oksijenlenme sonucu birdenbire reaktif O₂ molekülleri artabilir.

2.5.7. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkisi

Lipidler; serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesi sonucu peroksidasyon ürünleri meydana getirirler ve lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri (L) ve lipid peroksit radikallerinin (LOO) oluşması, ROS neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna "non-enzimatik lipid peroksidasyonu" denir.⁴²⁻⁴⁵

2.5.8. Serbest Radikallerin Proteinler Etkisi

Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur.^{42,45}

2.5.9. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkisi

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali (OH) deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H₂O₂) membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir.⁴²⁻⁴⁵

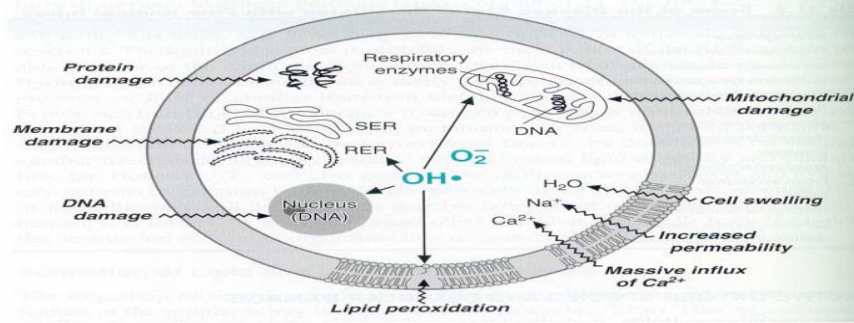
2.5.10. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi

Serbest radikallerin karbonhidratlarla reaksiyonu sonucu çeşitli ürünler meydana gelir ve bunlar patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psöriyazis, romatoid artrit, Behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir. Ancak bu hallerde serbest radikal artışının sebep mi yoksa sonuç mu olduğu tam olarak bilinmemektedir. ROS oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "**antioksidan savunma sistemleri**" veya kısaca "**antioksidanlar**" olarak bilinirler.⁴²⁻⁴⁵

2.6. Lipid Peroksidasyonu

Membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir. İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid radikalini oluşturur. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Ayrıca lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksidleri de oluştururlar.^{18,137,138} Lipid peroksidler daha sonra MDA ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve değişebilirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asidlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. Bu da tiyobarbutirik asid reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden

olabilir.^{18,137,138} Pek çok çalışma diyabetik komplikasyonlar ve lipid peroksidasyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Bu yüzden lipid peroksidasyonunun kontrolü çok önemlidir.^{101,139,140}

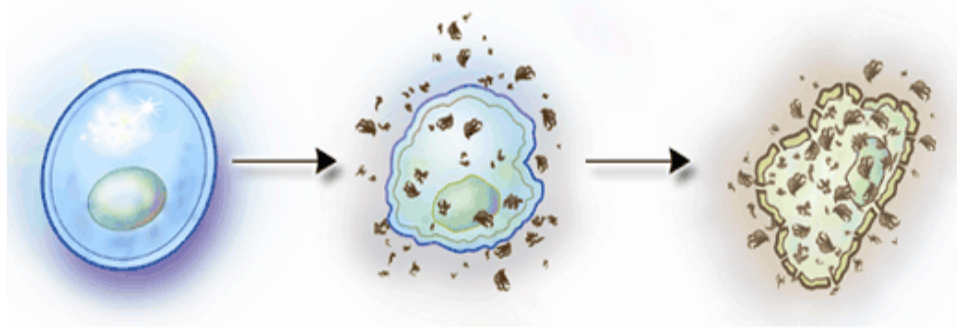


Şekil 2. 3. Hücrede meydana gelen lipid peroksidasyonu.¹⁰¹

2.6.1. Oksidatif Stres

ROS, normal hücre fonksiyonları esnasında tüm aerobik organizmalar tarafından oluşturulmakta olup¹⁴¹ miktarlarındaki artma veya antioksidan savunmadaki azalma oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır.^{20,142}

Vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak da tanımlanabilir.^{110,143} Oksidatif stres, vücudun savunma mekanizmasının azaldığı durumda ortaya çıkar.¹⁴⁴ Fizyolojik şartlarda, normal hızda üretilen serbest radikallerin zararlı etkileri antioksidan savunma sistemleri tarafından azaltılır. Ancak antioksidan sistemlerin büyük bir yedeği yoktur. Hafif bir oksidan stresde hasarlı moleküller uzaklaştırılıp yenileri yapılabilirken, şiddeti oksidan stres durumlarında hücre hasarlanması meydana gelir.¹⁰⁹



Normal hücre

Serbest radikallerin

Oksidatif stresli hücre

hücreye saldırması

Şekil 2. 4. Oksidatif stresli hücre.¹⁴⁵

2.6.1.1. Oksidatif Hasarın Sonuçları

- Süperoksid radikali ($O_2^{\bullet-}$)
- Hücre içi tiol gruplarının ve pirimidin nükleotidlerinin oksidasyonu.
- Sinyal transdüksiyonu ve iyon homeostazının bozulması
- Sitoskeletal organizasyonun modifikasyonu
- Glikolizin inhibe olması
- DNA hasarı
- NAD kaybı
- MMP (“Mitochondrial Membrane Potential”) kollapsı ve takiben
- ATP kaybı.

2.6.1.2. Egzersiz ve Oksidatif Stres

Egzersiz sırasında meydana gelen en belirgin biyolojik değişim, oksijen tüketim oranının artmasıdır. Oksijen tüketiminin artması serbest radikal üretiminde artışa yol açar. Oluşan bu serbest radikaller enzimatik ve nonenzimatik antioksidanları içeren bir savunma sistemi tarafından etkisiz hale getirilir. Egzersiz, ROS ve antioksidanlar arasında oksidatif stres olarak adlandırılan bir dengesizlik oluşturur.^{3,146}

Oksidatif stres fiziksel performansı doğrudan etkilemektedir. Sağlık açısından düzenli antrenmanların çok sayıda faydası varken, şiddetli fiziksel egzersizler ROS üretimindeki artıştan dolayı oksidatif hasarı artırabilir. Bu artış ile sonuçlanan oksidatif stres, kas yorgunluğu, kas hasarı ve ağrısı, sürantrenman ve azalan fiziksel performans ile ilişkilidir.¹⁴⁷

Egzersiz, özellikle yüksek şiddette yapıldığı zaman oksidatif strese neden olduğu gösterilmiştir. Akut aerobik egzersizde oksidatif stresle bağlantılı iki mekanizma bulunmaktadır:

a) VO₂ istirahat seviyelerinin 10-15 kat üzerine çıktığı zaman kütle olayı etkisiyle prooksidan aktivite artar.

b) Antioksidan aktivite prooksidanlarla kıyaslandığında yetersizdir.

Ayrıca, antrenmansız kişilerde yoğun ve yorucu egzersizlerin daha çok oksidatif hasara neden olduğu ve hasarın kan gören kaslarda daha etkili olduğu ifade edilmiştir. Kronik egzersizin ise oksidatif stresle ilişkili hastalıklara karşı organizmayı koruduğu ve lipid peroksidasyon aktivitesini, oksidatif protein ve DNA hasarını azalttığı tespit edilmiştir. Düzenli egzersiz, akut egzersizin yol açtığı oksidatif stresi azaltmak için adaptasyona neden olabilir.¹⁴⁸

Egzersiz neden olduğu oksidatif stres hem direk etkileriyle hem de hemoreolojik parametrelerin bozulmasına neden olarak potansiyel bir risk faktörüdür. Egzersizin neden olduğu oksidatif hasar ve ilişkili hemoreolojik bozukluklar antrenman düzeyleri ile yakından ilgilidir. Antrene kişilerde eritrosit turnoverı artar ve dolaşımdaki eritrosit popülasyonu genç eritrositler olur.^{148,149} Genç eritrositler oksidatif hasara daha dirençlidirler, deformabilite özellikleri daha fazladır ve 2,3-difosfogliserat içerikleri daha fazladır, antioksidan savunma sistemleri daha etkilidir. Antrenmanların eritrositlerin antioksidan enzim aktivitelerini etkilediği gösterilmiştir.¹⁵⁰

Egzersiz bittikten hemen sonra hemodinamik faktörler istirahat seviyelerine döner ancak hemoreolojik değişiklikler bir süre daha devam eder ve doku kanlanma problemlerine yol açabilir. Bu değişikliklerin zaman içerisinde seyirleri çok detaylı çalışılmamıştır. Ancak, hemoreolojik değişikliklerin devam ettiği süre boyunca oksidatif hasar göstergesi olan parametrelerin de saptanmış olması, egzersizin geç dönem etkilerinde oksidatif hasarın etkisi olabileceğini düşündürmektedir.¹¹²

Buradan yola çıkarak çalışmada, farklı süreli yüzme egzersizi ile birlikte kullanılan GSE' nin kas dokusu üzerinde meydana gelen serbest radikal oluşumunu ve sportif performansı nasıl etkilediğini ortaya koymak için planlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmada kullanılan 56 adet albino erkek Wistar sıçan, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmış ve 22 ± 4 °C'lik oda sıcaklığında, ortalama ağırlıkları 180-220 gr arasında 80-100 günlük olana kadar yetiştirilmiştir. Deneysel çalışmalar başlamadan 10 gün önce araştırma merkezinden alınan hayvanlar sekizerli gruplar halinde saydam plastik kafeslere konulmuştur.

3.1. Deney Grupları

GSE'nin yüzme egzersizi ile birlikte epileptiform aktiviteye etkisini araştırmak için aşağıdaki deney grupları oluşturuldu:

1. Grup: 15 dk kronik yüzme egzersizi
2. Grup: 30 dk kronik yüzme egzersizi
3. Grup: 60 dk kronik yüzme egzersizi
4. Grup: Kontrol grubu, herhangi bir madde verilmeyen grup
5. Grup: Gün aşırı 200mg/kg GSE verilip 15 dk yüzdürülen grup
6. Grup: Gün aşırı 200mg/kg GSE verilip 30 dk yüzdürülen grup
7. Grup: Gün aşırı 200mg/kg GSE verilip 60 dk yüzdürülen grup

Gruplar (n=8) olarak hazırlandı.

3.2. Suya Alıştırma

Bütün hayvanlar yüzdürülmeden önce suya adapte edildi. Ratlar haftanın yedi günü 32°C sıcaklığındaki havuzlarda saat 10:00 ile 12:00 arası yüzdürüldü. Adaptasyon süreci ratların suda deneyim kazanmalarına kadar devam etti. Suya alıştırmamanın amacı fiziksel antrenman süresince oluşacak stres faktörünü önlemektir.⁸⁶

3.3. Egzersiz Programı

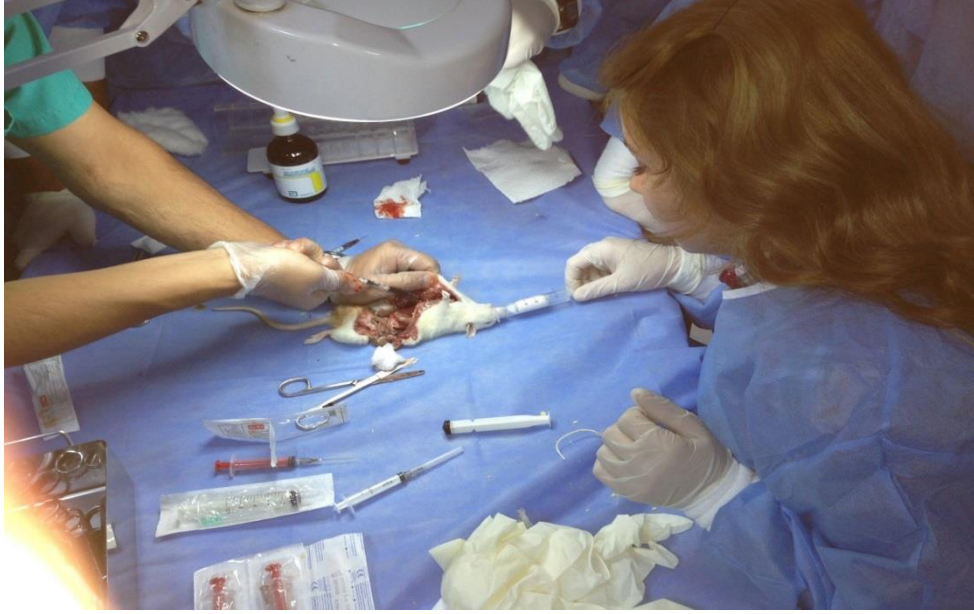
Egzersizler her gün saat 10.00 ile 12.00 arası 32 °C sıcaklığındaki havuzlarda yüzdürülerek yapıldı. Antrenman programı 90 gün olarak hazırlandı, her grup için 15, 30, 60 dk'lık sürelerde ve ratlar için özel olarak hazırlanan tanklarda (uzunluğu 150 cm, genişliği 80 cm, derinliği 80 cm) yüzdürüldü. Ratlar iki günde bir 200 mg/kg GSE gavaj yoluyla verildi.



Şekil 3. 1. Ratlara 200 mg/kg GSE gavaj yoluyla verilmesi



Şekil 3. 2. Yüzme egzersizi



Şekil 3. 3. Dokuların çıkarılması

3.4. Biyokimyasal Analizler İçin Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Kas dokuları bir havan içinde sıvı azot ile öğütülerek toz haline getirildikten sonra 0,5 gramı tartılarak üzerine 4,5 ml ilgili tampon ilave edildi ve sonra bir ultraturaks homojenizatörde 15 dakika süreyle buz üzerinde homojenize edildi. Homojenatlar bir süzgeç kağıdından süzildükten sonra soğutmalı santrifüj kullanılarak her enzim için literatürlerde belirtilen hızlarda 4 °C’de santrifüj edildikten sonra üstte kalan berrak kısımda (süpernatant) enzim aktiviteleri ve miktar tayinlerinin belirlenmesi için kullanıldı.

3.5. SOD Aktivitesinin Ölçümü

Ksantin, ksantin oksidaz enzimi vasıtasıyla ürik aside dönüştürülürken meydana gelen süperoksit radikalleri, şayet ortamda mevcutsa, NBT ile reaksiyona girerek formazon boyası oluştururlar. Bu bileşik 560 nm dalga boyunda maksimum absorbans verir. Şayet ortamda SOD enzimi varsa süperoksit radikalleri bu enzim tarafından H₂O₂’ye dönüştürüldüğü için formazon oluşumu azalmakta, buna bağlı olarak 560 nm’de ölçülen absorbans da azalamaktadır. Absorbans miktarındaki azalma bize SOD

aktivitesini göstermektedir. Özetle; SOD aktivitesi aşağıda verilen II nolu reaksiyonun inhibe edilme derecesiyle ölçülebilmektedir.

3.6. SOD Ölçümü

SOD aktivitesi Sun ve arkadaşlarının belirlediği yöntemle göre ölçüldü.¹²⁸ Kas dokuları homojenize edildikten sonra 18000 g'de 1 saat santrifüj edildi. Spektrofotometre küvetine 2450 µl ölçüm karışımı (0,3 mM Xanthine, 0,6 mM EDTA, 150 µM NBT, 0,4 M Sodyum Karbonat (Na₂CO₃), 1,2 g / L BSA), 500 µl supernatant, 50 µl ksantin oksidaz eklendikten sonra karıştırılarak yaklaşık 20 dakika inkübe edildi ve 1000 µl CuCl₂ inhibitör çözeltisi ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı.

3.7. SOD Aktivitesi'nin Hesaplanması

Reaksiyon ortamında oluşan formazon miktarları 560 nm'de 3 ml'lik kuvartz küvetler kullanılarak okundu. Seyreltme katsayıları dikkate alınarak aşağıdaki geliştirilen formülden aktivite değerleri (EU) elde edildi ve SOD aktivitesi, mmol/dakika/mg doku olarak tarif edildi. Her bir numunenin ölçümü 3 kez yapılarak belirlendi.

3.8.Lipid Peroksidasyon Tayini (LPO)

Serbest radikallerin hücre zarında oluşturduğu lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan MDA düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin çoğu MDA'nın TBA ile verdiği reaksiyonu temel alır. Bir molekül MDA iki molekül TBA ile stabil kırmızı renk oluşturmak üzere reaksiyona girer. LPO ölçümü, Ohkawa ve arkadaşlarının metoduna göre MDA'nın asidik TBA asitle oluşturduğu rengin 532 nm'de optik dansitesinin ölçülmesi prensibine dayanarak yapıldı.

Ohkawa ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem göre belirlendi. 0.5 g doku üzerine 4,5 ml % 10 KCl ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar, 5000 g'de 20 dakika santrifüj edildi ve bu süpernatantlar, LPO miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı

deney tüpleri içerisine 250 µl homojenat, 100 µl % 8 sodyum dodesil sülfat (SDS), 750 µl % 20 asetik asit, 750 µl % 0.08 TBA ve 150 µl saf su pipetlenerek vortekslendi. Karışım 100 oC’de 60 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra üzerine 2,5 ml n-bütanol ilave edilecek ve spektrofotometrik olarak ölçüm yapıldı.

3.9. LPO Miktarının Hesaplanması

Oluşan kırmızı renk miktarları 532 nm’de 3 ml’lik küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanarak numunelerin MDA miktarı belirlendi. Numunelerin LPO miktarları, nmol MDA/g doku olarak tarif edildi. Her bir numunenin ölçümü 3 kez tekrarlanarak verildi.

3.10. GSH Miktarı Ölçümü

Ölçüm Prensibi

Ölçüm ortamındaki DTNB disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülerek GSH miktarı belirlenebilmektedir.

3.11. GSH Miktarının Ölçülmesi

0.5 g doku üzerine 4,5 ml 50 mM Tris-HCl (pH: 7,4) ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar, 12000 g’de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüpleri içerisine 1500 µl ölçüm tamponu (0,2 mM EDTA içeren 200 mM Tris-HCl, pH=8,2), 500 µl süpernatant, 100 µl 5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) ve 7900 µl metanol pipetlenerek vortekslendi. Karışım 37 °C’ta 30 dakika inkübasyona bırakıldı ve sonra spektrofotometre ile ölçümler yapıldı.¹²⁸

3.12. GSH Miktarının Hesaplanması

Oluşan sarı renk miktarları 412 nm’de 3 ml’lik quartz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanılarak numunelerin GSH miktarı belirlendi. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg doku olarak tarif edildi. Her bir numunenin ölçümü 3 tekrar yapılarak elde edildi.

3.13. Verilerin Analizi

Çalışmada elde edilen verilerin analizi SPSS 19 paket yazılım programı kullanılarak gruplar arasındaki ilişki One-Way Anova yöntemi ile belirlendi, gruplar arasındaki bağıntı için ise LSD yöntemi uygulanarak tespit edilmiştir.

4.BULGULAR

Çalışmada farklı sürelerde yüzme egzersizi yapan ve gün aşırı 200 mg/kg grape seed extract(15) verilen sıçanlarda kas dokusunda meydana gelen serbest radikal düzeyleri analiz edilmiştir. Gruplar arasında GSH, SOD ve MDA parametrelerinin ilişkisi aşağıdaki tablolarda incelenmiştir.

Tablo 4. 1. Kronik yüzme gruplarının GSH düzeyi

DEĞİŞKENLER	GRUP	GRUP	ORTALAMA	S HATA	p
GSH	KONTROL	15 DK	,110000**	,034741	,004
		30 DK	,173750**	,034741	,000
		60 DK	,168750**	,034741	,000
	15 DK	KONTROL	-,110000**	,034741	,004
		30 DK	,063750	,034741	,077
		60 DK	,058750	,034741	,102
	30 DK	KONTROL	-,173750**	,034741	,000
		15 DK	-,063750	,034741	,077
		60 DK	-,005000	,034741	,887
	60 DK	KONTROL	-,168750**	,034741	,000
		15 DK	-,058750	,034741	,102
		30 DK	,005000	,034741	,887

**($p<0,001$)

Sunulan çalışmada kronik yüzme egzersiz grupları arasında GSH düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; kontrol grubu ile 15dk, 30dk ve 60 dk yüzme egzersizi yapan gruplar arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı düzeyde bir farklılık varken, diğer egzeriz grupları 15,30 ve 60 dk arasında anlamlık düzeyinde herhangi bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4. 2. Kronik yüzme grublarının SOD düzeyi

DEĞİŞKENLER	GRUP	GRUP	ORTALAMA	S HATA	p
SOD	KONTROL	15 DK	-5,593750**	1,428060	,001
		30 DK	-2,352500	1,428060	,111
		60 DK	-,091250	1,428060	,950
	15 DK	KONTROL	5,593750**	1,428060	,001
		30 DK	3,241250*	1,428060	,031
		60 DK	5,502500**	1,428060	,001
	30 DK	KONTROL	5,593750	1,428060	,111
		15 DK	-3,241250*	1,428060	,031
		60 DK	2,261250	1,428060	,125
	60 DK	KONTROL	,091250	1,428060	,950
		15 DK	-5,502500**	1,428060	,001
		30 DK	-2,261250	1,428060	,125

*(p<0,05) , ** (p<0,001)

Yukarıdaki tablo 2' ye göre gruplar arasında SOD düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen bulgularda 15 dk yüzme egzersizi yapan grup ile kontrol, 30dk ve 60 dk arasında (p<0,001) göre anlamlı düzeyde bir fark varken, kontrol, 30dk ve 60 dklık gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

Tablo 4. 3. Kronik yüzme grublarının MDA düzeyi

DEĞİŞKENLER	GRUP	GRUP	ORTALAMA	S HATA	p
MDA	KONTROL	15 DK	,025000**	,006707	,001
		30 DK	,037500**	,006707	,000
		60 DK	-,008750	,006707	,203
	15 DK	KONTROL	-,025000**	,006707	,001
		30 DK	,012500	,006707	,073
		60 DK	-,033750**	,006707	,000
	30 DK	KONTROL	-,037500**	,006707	,000
		15 DK	-,012500	,006707	,073
		60 DK	-,046250**	,006707	,000
	60 DK	KONTROL	,008750	,006707	,203
		15 DK	,033750**	,006707	,000
		30 DK	,046250**	,006707	,000

** (p<0,001)

Tablo 3'e göre, gruplar arasında MDA düzeyleri incelendiğinde; kontrol grubu ile 15 dk ve 30 dk grupları arasında, 15 dk ile 60dk arasında ve 30 dk ile 60 dk arasında .(p<0,001) düzeyinde anlamlı bir fark varken kontrol grubu ile 60dk, 30 dk ilede 15 dk arasında anlamlılık düzeyinde farkın olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 4. 4. GSE verilen kronik yüzme grublarının GSH düzeyi

DEĞİŞKENLER	GRUP	GRUP	ORTALAMA	S HATA	p
GSH	KONTROL	15 DK	,176250**	,026284	,000
		30 DK	,191250**	,026284	,000
		60 DK	,185000**	,026284	,000
	15 DK	KONTROL	-,176250**	,026284	,000
		30 DK	,015000	,026284	,573
		60 DK	,008750	,026284	,742
	30 DK	KONTROL	-,191250**	,026284	,000
		15 DK	-,015000	,026284	,573
		60 DK	-,006250	,026284	,814
	60 DK	KONTROL	-,185000**	,026284	,000
		15 DK	-,008750	,026284	,742
		30 DK	,006250	,026284	,814

** (p<0,001)

Sunulan çalışmada GSE verilen gruplar arasında GSH düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; kontrol grubu ile 15 dk, 30 dk ve 60 dk'lık gruplar arasında (p<0,001) düzeyde anlamlı bir fark varken, diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4. 5. GSE verilen kronik yüzme grublarının SOD düzeyi

DEĞİŞKENLER	GRUP	GRUP	ORTALAMA	S HATA	p
SOD	KONTROL	15 DK	16,767500**	1,580839	,000
		30 DK	15,137500**	1,580839	,000
		60 DK	22,045000**	1,580839	,000
	15 DK	KONTROL	-16,767500**	1,580839	,000
		30 DK	-1,630000	1,580839	,311
		60 DK	5,277500**	1,580839	,002
	30 DK	KONTROL	-15,137500**	1,580839	,000
		15 DK	1,630000	1,580839	,311
		60 DK	6,907500**	1,580839	,000
	60 DK	KONTROL	-22,045000**	1,580839	,000
		15 DK	-5,277500**	1,580839	,002
		30 DK	-6,907500**	1,580839	,000

** (p<0,001)

Sunulan çalışmada gruplar arasında SOD düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; kontrol grubu ile 15 dk, 30 dk ve 60 dk'lık gruplar arasında, 15 dk ile 60 dk arasında ve 30 dk ile de 60 arasında (p<0,001) düzeyinde anlamlı bir fark varken, 15 dk ile 30 dk arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4. 6. GSE verilen kronik yüzme grublarının MDA düzeyi

DEĞİŞKENLER	GRUP	GRUP	ORTALAMA	S HATA	p
MDA	KONTROL	15 DK	,007500	,0088	,406
		30 DK	-,017500	,0088	,059
		60 DK	,010000	,0088	,270
	15 DK	KONTROL	-,007500	,0088	,406
		30 DK	-,025000**	,0088	,009
		60 DK	,002500	,0088	,781
	30 DK	KONTROL	,017500	,0088	,059
		15 DK	,025000**	,0088	,009
		60 DK	,027500**	,0088	,004
	60 DK	KONTROL	-,010000	,0088	,270
		15 DK	-,002500	,0088	,781
		30 DK	-,027500**	,0088	,004

** (p<0,001)

Tablo 6 incelendiğinde gruplar arasında MDA düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 15 dk ile 30 dk, 30 dk ile de 60 dk arasında (p<0,05) anlamlı düzeyde bir fark varken, diğer gruplar arasında anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir.

5.TARTIşMA

Egzersizle ve antrenmanla meydana gelen değişiklikler üzerine üzüm çekirdeği ekstrelerinin (proantosiyandinler) geniş biyolojik ve farmakolojik özelliklerinden dolayı son yıllarda çok sayıda çalışma yapılmaktadır.¹³⁸ Ancak GSE'nin egzersiz performansı ve egzersizin neden olduğu oksidatif stres ve antioksidan savunma üzerine etkilerini araştıran çalışma çok fazla bulunmamaktadır. Bu tezin amacı kronik egzersiz yaptırılan sıçanlarda GSE takviyesinin çeşitli oksidatif stres ve antioksidan savunma parametreleri üzerine etkilerini araştırmaktır.

MDA değerlerinin akut ve kronik egzersizle nasıl değiştiiğini inceleyen çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya konulmuştur. Düzenli yapılan egzersizin lipid peroksidasyonuna karşı direnci artırdığı ve oksidatif protein ve DNA hasarını azalttığı bilinmektedir.¹⁵¹ Bazı araştırmalarda.^{118,152} akut egzersizle plazma, iskelet kası, karaciğer ve akciğer gibi dokularda MDA değerlerinin arttığı bildirilirken, MDA'nın deęişmediğini¹⁵³⁻¹⁵⁶ hatta azaldığını.^{157,158} öne süren çalışmalar da mevcuttur. Antrenmanın etkisi ile ilgili olarak genel kabul gören görüş düzenli egzersiz sonucunda MDA değerinin azaldığı yönünde olmasına rağmen⁷⁸ değişmediğini iddia eden çalışmalar da mevcuttur.¹⁵⁹

GSE takviyesi yapılan kronik egzersiz grubunda MDA seviyelerinin GSE takviyesi yapılmayan kronik egzersiz grubuna kıyasla daha düşük olması GSE'nin egzersizin neden olduğu lipid peroksidasyonunu azaltıcı özelliğine bağlı görünmektedir. Antrenmana cevap olarak antioksidan enzim aktivitesinin artması, sistemin reaktif oksijen ve nitrojen türlerine karşı korumayı kolaylaştırmak için antioksidan oluşturma ihtiyacından dolayı olduğu ifade edilmiştir. Yeterli şiddet ve sürede tekrarlanan egzersizlerin biriken etkileri sonucunda adaptasyon gerçekleşir.¹⁴⁴ Kontrol ve kronik egzersiz grubuna göre MDA azalırken, SOD ve GSH arttığı çalışmamızda, sıçanlarda

oksidatif strese karşı adaptasyon sağlamada yeterli görünmektedir. GSE takviyesi yapılan gruplarda MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre azalması GSE'nin antioksidan etkisini desteklemektedir.

Çalışmada deneklerin uygulama sonrası ölçümlerdeki gruplararası MDA düzeyleri karşılaştırıldığında, en yüksek değerin 30 dk'lık yüzme egzersizi yaptırılan grupta elde edilmiştir ($P<0,05$).

Düzenli fiziksel aktivitenin sağlık açısından önemli olduğunun bilinmesine karşın, yüksek yoğunlukta ve/veya akut olarak yapılan egzersizlerin ROS üretimindeki artıştan dolayı oksidatif hasarı artırabileceğine dikkat çekmektedir.¹⁶⁰ Dayanıklılık antrenmanının antioksidan maddelerin uygulanmasına rağmen DNA hasarını artırdığını göstermişlerdir.¹⁶¹

Yapılan bir çalışmada E vitamini desteğinin submaksimal egzersizde oksidatif üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırmaya 8 gönüllü sporcu katılmış, sporculardan istirahat ve standart koşu egzersizi programı sonrasında; herhangi bir ilaç kullanmadan önce, 1 haftalık plasebo kullanımından sonra ve 1 haftalık E vitamini kullanımı sonrasında olmak üzere 3 kez ölçüm alınmıştır. Oksidatif stres E vitamini kullanımı öncesinde serum TBARS düzeyini anlamlı şekilde arttırdığı ancak, E vitamini kullanımı sonrasında bu artış oranında anlamlı bir azalma olduğu tespit etmiştir.¹⁶²

Akut fiziksel aktivitenin, antioksidan sistem parametreleri üzerine olan etkisinin incelenmesi amacıyla yapılan başka bir çalışmada ise akut egzersiz sonrası MDA düzeyinde azalma meydana gelmiştir. MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı saptanan bu azalma, antrenmanda antioksidan savunma sistemin güçlenmesi sonucunda serbest radikalleri ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunu azalttığını belirtmiştir.¹⁶³

Çalışmamızda elde edilen verilerde, yüzme egzersizi yapan ve üzüm çekirdeği alan gruplarda kontrol grubuna göre MDA düzeylerinde anlamlı bir farkın olduğu saptanmıştır. Özellikle 30dk'lık grupta anlamlılık düzeyi diğer gruplara göre daha yüksek olduğu bununla egzersizin süresi ve şiddeti oluşan serbest radikallerin uzaklaştırılmasında önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Egzersizle beraber serbest radikal üretimi bağlı olarak antioksidan aktivitesi artar. Bu artışın egzersizin şiddeti ve süresi ile ilişkili olup olmadığı birçok çalışmayla araştırılmıştır.^{164,81} Ancak egzersiz sırasında oluşan oksidatif stres nedeniyle kandaki düzeyleri artan serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında egzersizin yoğunluğuna da bağlı olarak vücudun tabii antioksidan sistemleri bazen yetersiz kalabilmektedir. Antioksidan savunma sistemlerinin en üst kapasite sınırına yakın ama onu aşmayacak şekilde sürekli aktivitede bulunmaları halinde, bu sistemin faaliyette olduğunun bir göstergesi olarak kandaki GSH düzeyinin azaldığı bildirilmiştir.¹⁶⁵ Deneklerin uygulama sonrası ölçümlerdeki gruplar arası GSH düzeyleri değerlendirildiğinde, egzersiz grubunun GSH düzeyinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalma gösterdiği belirlenmiştir ($P<0,05$).

Egzersizin GSH düzeylerini nasıl etkilediği konusunda çelişkili bilgiler bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, egzersizle birlikte artan GSH düzeylerinden bahsedilirken¹⁶⁶⁻¹⁶⁸ yapılan diğer çalışmalarda deneklerin GSH değerlerinde önemli bir azalma belirlendiğini tespit etmişlerdir¹⁶⁹⁻¹⁷³ Başka bir çalışmada deneklerin GSH değerlerinde önemli bir farklılık tespit edilemediğini bildirmişlerdir.¹⁶²

Çalışmamızda, yüzme egzersizi yaptırılan grubun uygulama sonrasındaki kas dokusunda GSH değeri, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı, bu artışa paralel olarak GSE verilen kronik yüzme grubundaki tüm gruplarda GSH artışı anlamlı bir şekilde artmıştır. Buda GSE enin antioksidan seviyesini artırdığını göstermiştir. Bu

bulgular yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir.^{164, 166,167,168,174} Diğer araştırmacıların yaptığı çalışmada egzersizin GSH düzeyindeki azalma veya değişiklik olmadığını bildirmişlerdir.¹⁶⁹⁻¹⁷³ Nitekim yoğun fiziksel egzersiz yapan kişilerin kan GSH düzeylerinde azalma olduğunu elde edilen birbirinden farklı sonuçların değişik egzersiz programlarından mı, farklı test programlarından mı yoksa diğer farklılıklardan mı kaynaklandığının araştırmaya açık konular olduğunu bildirmiştir.¹⁶⁵

Gerek bizim gerekse diğer araştırmacıların çalışmalarında kandaki GSH düzeyindeki azalma egzersizle birlikte artan serbest radikal üretiminin, artan antioksidan aktivite ile birlikte GSH gibi antioksidanlar tarafından tamponlanması nedeniyle olabilir.¹⁶⁹⁻¹⁷⁵ Egzersiz sırasında üzüm çekirdeği alınmasının reaktif oksijen miktarını düşürdüğünü bildiren¹⁶¹ vücudun oksidatif durumunun hem nonenzimatik (Tokoferol, Beta-karoten, glutatyon) hem de enzimatik (SOD, CAT, GSHpx) aktiviteler tarafından dengelendiğini ve bu sistemlerin serbest radikallerin hücrelerde oluşturduğu hasarı birlikte önlediğini saptamışlardır.

Bazı durumlarda kandaki GSH gibi antioksidanların azalmasını antioksidan savunma sisteminin aktif bir göstergesi olduğunu ileri sürmüşlerdir.¹⁶⁵ Çalışmamızda egzersiz yapan grupların MDA düzeylerinde azalma meydana gelmiş, üzüm çekirdeği uygulaması kontrol ve diğer gruplara göre tolere etmiştir. Bununla birlikte üzüm çekirdeği ile birlikte yüzme egzersizi uygulama sonrası kas dokusunda GSH düzeyinin egzersiz grubuna göre istatistiksel olmasa da azalma göstererek, üzüm çekirdeği beraber yüzme egzersizi yapanların GSH düzeyleri üzerine olumlu bir etkisinin olduğunu düşünmekteyiz.

Sıçanlarda iskelet kası SOD aktivitesinin antrenmanla arttığı ortaya konulmuştur.^{75,79,176} Bununla birlikte, bazı çalışmalarda¹⁷⁶⁻¹⁷⁸ benzer hayvan modelleri kullanılmasına rağmen SOD aktivitelerinde değişiklik tespit edilememiştir.

Çalışmalardaki bu farklılık, farklı SOD izoenzimlerinin çalışılmasına, farklı SOD analizlerinin kullanılmasına ve antrenman periyodunun farklı şiddet ve sıklıkta olmasına bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Sıçanlarda 8 haftalık antrenmanın plazma SOD aktivitelerini etkilemediğini saptamıştır.¹⁵⁹ Sıçanlarda yapılan çalışmalarda 6,5¹⁷⁹ ve 10¹⁸⁰ haftalık treadmill antrenmanlarının SOD aktivitesini artırdığı tespit etmiştir. Bu yönüyle çalışmamızla paralellik göstermiştir ayrıca bu paralelliğin antrenman protokolü seçiminde antrenman süresi ve şiddetinin de önemli olduğunu düşünmekteyiz.

GSE takviyesinin akut ve kronik egzersizde SOD aktiviteleri üzerine etkisini araştıran çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte, GSE'nin iskemi/reperfüzyon hasarı.^{181,182} ve çeşitli ilaçların ve kimyasalların neden olduğu organ toksisiteleri^{104,183,184} sonucunda azalan SOD aktivitelerini yükselttiği gösterilmiştir.

İnsanlarda ve hayvanlarda aerobik egzersizden sonra kandaki antioksidant enzimlerden SOD aktiviteleri artmaktadır^{78, 151,168, 185} sprinterler ve yarı maratoncularda SOD değerinin arttığını saptamışlardır¹⁶⁶. Başka bir çalışmada 800 m. serbest stil yüzme sonrası SOD düzeyinde bir artış belirlemişlerdir. Farklı olarak, SOD değerinin akut veya kronik egzersizde değişmediğini bildiren çalışmalar da vardır¹⁸⁶. 80 km koşu sırasında SOD değerinin artmadığını kaydetmişlerdir.¹⁸⁷ Diğer yapılan çalışmalarda,¹⁶⁴ voleybolcularda,¹⁶⁹ yarı maraton koşucularında,¹⁸⁸ da sedanter öğrencilerde SOD aktivitesinin değişmediğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda GSE takviyesi yapılan kronik egzersiz gruplarında SOD aktiviteleri GSE almayan kontrollerine göre yükseldiği tespit edilmiştir. GSE takviyesi yapılan kronik egzersiz grubunun en yüksek SOD aktivitesine sahip olması ve GSE takviyesi yapılan egzersiz grubunda SOD aktivitelerinin 15 dk lık gruba göre düşük 60 dk lık gruba göre ise yüksek olduğu tespit edilmiştir. GSE'nin antioksidan enzimlerin

artışı yoluyla egzersizin neden olduğu oksidatif hasarı önlemede etkin olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Kronik Yüzme Egzersizi Grubu Elde Edilen Sonuçlar

Sunulan çalışmada kronik yüzme egzersizi yapan gruplar arasında SOD düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen bulgulara 15 dk yüzme egzersizi yapan grup ile kontrol, 30dk ve 60 dk arasında ($p<0,001$) göre anlamlı düzeyde bir fark varken, kontrol, 30dk ve 60 dk'lık gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

Sunulan çalışmada kronik yüzme egzersiz grupları arasında gsh düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; kontrol grubu ile 15dk, 30dk ve 60 dk yüzme egzersizi yapan gruplar arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı düzeyde bir farklılık varken, diğer egzersiz grupları.^{15,30,60} arasında anlamlık düzeyinde herhangi bir farklılık saptanmamıştır.

Sunulan çalışmada kronik yüzme egzersiz gruplar arasında MDA düzeyleri incelendiğinde; kontrol grubu ile 15 dk ve 30 dk grupları arasında, 15 dk ile 60dk arasında ve 30 dk ile 60 dk arasında $(p<0,001)$ düzeyinde anlamlı bir fark varken kontrol grubu ile 60dk, 30 dk ile 15 dk arasında anlamlılık düzeyinde farkın olmadığı tespit edilmiştir.

2. Üzüm Çekirdeği + Kronik Yüzme Egzersiz Grubu Elde Edilen Sonuçlar

Sunulan çalışmada GSE verilip yüzme egzersizi yaptırılan gruplar arasında SOD düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; kontrol grubu ile 15 dk, 30 dk ve 60 dk'lık gruplar arasında, 15 dk ile 60 dk arasında ve 30 dk ile de 60 arasında ($p<0,001$) düzeyinde anlamlı bir fark varken, 15 dk ile 30 dk arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Çalışmada GSE verilip yüzme egzersizi yaptırılan gruplar arasında GSH düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; kontrol grubu ile 15 dk, 30 dk ve 60 dk'lık gruplar arasında ($p<0,001$) düzeyde anlamlı bir fark varken, diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Çalışmada GSE verilip yüzme egzersizi yaptırılan gruplar arasında MDA düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 15 dk ile 30 dk, 30 dk ile de 60 dk arasında ($p<0,05$) anlamlı düzeyde bir fark varken, diğer gruplar arasında anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak farklı sürelerdeki yüzme egzersizi ve antioksidan kullanımı, egzersizde oluşan serbest radikalleri hem baskılamada hemde uzaklaştırmada etkin olduğunu, bunun farklı mekanizmalarla geliştirilerek sporcuların performansını artırmak için uygun miktar ve yöntemle kullanılması önerilebilir.

KAYNAKLAR

1. Karademir SE. Bazı Polifenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2005.
2. Kaur C, Kapoor HC, Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 2001, 37: 153-161.
3. Weight LM, Byrne MJ, Jacobs P. Haemolytic effects of exercise. *Clinical Science*. 1991, 81: 147-152.
4. Pikulski M, Brodbelt JS. Differentiation of flavonoid glycoside isomers by using metal complexation and electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2003, 14: 1437-53.
5. Bosnak-Güçlü M, Sağlam M, İnce Dİ, Savcı S, Arıkan H. Şeker hastalığı ve egzersiz, Klasmat matbaacılık, Ankara, 2008.
6. Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. The relative activities of plant-derived poliphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 1995, 22: 375-383.
7. Bando N, Wakamatsu S, Terao J. Effect of an excessive intake of quercetin on the vitamin E level and antioxidative enzyme activities of mouse liver under paraquat-induced oxidative stress. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2007, 71: 2569-72.
8. Von Sonntag C. Free-Radical-Induced DNA Damage and Its Repair. *Verlag Berlin Heidelberg New York: Springer*; 2006.
9. Prior RL, Wu X, Scaich K. Standardized methods for the determination antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, 53: 3110-3113.

10. Uylaser V, İnce K. Saraptaki antioksidanlar ve fenolik bileşikler. Türkiye 10. Gıda Kongresi. Erzurum, 2008: 1151-1154.
11. Balu M, Sangeetha P, Murali G, Panneerselvam C. Modulatory role of grape seed extract on age-related oxidative DNA damage in central nervous system of rats, *The Brain Research Bulletin*, 2006, 68: 469-473.
12. Shao, ZH, Terry L, Hoek V, Xie J, Wojcik K, Grape Seed Proanthocyanidins Protect Cardiomyocytes From İschemia And Reperfusion İnjury Via Akt-NOS Signaling, *Journal of Cellular Biochemistry*, 2009, 107: 697-705.
13. Feng YZ, Liu YM, Fratkins JD, Leblan MH. Grape seed extract suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. *The Brain Research Bulletin*. 2005, 66: 120-127.
14. Devi L, Badanavalu M P, Domenico FG, Narayan GA, Hindupur KA. Accumulation of amyloid precursor protein in the mitochondrial import channels of human alzheimer's disease brain is associated with mitochondrial dysfunction. *The Journal of Neuroscience*. 2006, 26: 9057–9068.
15. Per S. Üzüm Çekirdeği Özütünün Penisilinle Uyarılan Epileptiform Aktiviteye Etkisi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji, Kayseri, 2010.
16. Gai-ning D. Effect of quercetin on Free radical Metabolism in Muscle and Exercise Performance of Trained Rat. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*. 2006, 23: R24-33
17. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. Cilt 1. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 1991.
18. Halliwell B, Gutteridge JMC, Role of free radicals and catalytic metal ions in human diseases: *An Overview, Methods in enzymology*, 1990, 186, 1-86.

19. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence. *Lancet*. 1994, 344: 721-24.
20. Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *Journal of Clinical Pathology*, 2001, 54: 356-361.
21. Burak M, Çimen Y. Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*.1999, 19: 296-304.
22. Devi PS, Shyamala DCS. Protective effect of quercetin in cisplatin-induced cell injury in the rat kidney. *Indian Journal of Pharmacology*. 1999, 31: 422-426.
23. Kahraman A, Erkasap N, Serteser M, Köken T. Protective effect of quercetin on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of Nephrology*. 2003, 16: 219-24.
24. Moskaug JQ, Carlsen H, Myhrstad M, Blomhoff R. Molecular imaging of the biological effects of quercetin and quercetin-rich foods. *Mechanisms of ageing and development*. 2004, 125: 315-324.
25. Yukio I, Takashi K. Effect of Host Plants and Dietary and Dietary quercetin on Antioxidant Enzymes in Onion and Seedcorn Maggots, *Delia antiqua* and *D.platura* (Diptera: Anthomyiidae). *Applied entomology and zoology*. 1991, 26: 245-253.
26. Pietta PG. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 2000, 63: 1035-1042.
27. Halliwell B, Zhao K, Whiteman M. The gastrointestinal tract: a major site of antioxidant action? *Free Radical Research*. 2000, 33: 819-30
28. Groot H, Rauen U. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 1998, 12: 249-55.
29. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress relationship with exercise and training. *Sports Medicine* 2006, 36: 327–58.

30. Meisler A, Anderson ME, Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*. 1983, 52, 711-60.
31. Mchedlishvili G. Disturbed blood flow structuring as critical factor of hemorheological disorders in microcirculation. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 1998, 19: 315-325.
32. Elliot JG. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technol*. 1999, 53: 46-48.
33. Gencer S. Fakoemülsifikasyon cerrahisinde serbest radikal hasarına karşı intraoperatif askorbik asit kullanımı. İstanbul Haydarpasa Numune Eğitim ve Arastırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2004.
34. Frei B., Stocker R., Ames B.N. Small molecule antioxidant defences in human extracellular fluids. *Current Communications in Cell and Molecular Biology*, 1992, 5: 23–45.
35. Güzelhan Y, Sayar K, Öztürk M, Kara İ. Şizofrenide serbest radikaller. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni, 2000, 10: 90-96.
36. Dichter, M. A. The epilepsies and convulsive disorders, harrison's principles of internal medicine, McGraw-Hill. 1994, 2229.
37. Sivritepe N., Asma üzüm ve saraptaki antioksidantlar. *Gıda. Dünya Yayınları*. 2000, 12: 73-78.
38. Yamamoto, N. Kabuto H, Matsumoto S, Ogawa N, Yokoi I. α -Tocopheryl-L-ascorbate-2-Ophosphate diester, a hydroxyl radical scavenger, prevents the occurrence of epileptic foci in a rat model of posttraumatic epilepsy, *Pathophysiology*. 2002, 8: 205–214.
39. Sivritepe N. Asma,üzüm ve saraptaki antioksidanlar. *Dünya Gıda*, 2000, 5: 73-78.

40. Brailowsky S., Garcia O. Ethanol, GABA and Epilepsy, *Archives of Medical Research*, 1999, 30: 3-9.
41. Berköz M. Yalın S, Güler G.V, Yalçın A. Akut Lösemilerde Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitesi, *Erciyes Tıp Dergisi*, 2008, 30: 157-162.
42. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
43. Dawn BM, Allan DM, Colleen MS. Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach. Lippincott Williams and Wilkins. *Baltimore, Maryland*. 1996.
44. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company. 1994.
45. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. W.B. Saunders Company. Philadelphia, *Pennsylvania*. 1995.
46. Misra HP, Fridovich I. The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. *The Journal of Biological Chemistry*. 1972, 247: 6960-6962.
47. Aydın A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, Isimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clinical Biochemistry*, 2001, 34, 65–70.
48. Podda M, Grundmann- Kollmann M. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2001, 26: 578-582.
49. Fusco D, Colloca G, Lo Monaco MR, Cesari M. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clinical Interventions in Aging*, 2007, 2: 377-87.
50. Tebbe B. Relevance of oral supplementation with antioxidants for prevention and treatment of skin disorders. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*. 2001, 14: 296-302.

51. Alberts D, Ranger-Moore J, Einspahr J. Safety and efficacy of dose-intensive oral vitamin A in subjects with sun-damaged skin. *Clinical Cancer Research*, 2004, 1875-1880.
52. Epstein JH. Effects of betacaroten on ultraviolet induced cancer formation in the hairless mouse skin. *Photochem Photobiol Sci*, 1997, 42: 35-38.
53. Stohl W, Heinrich U, Aust D. Lycopene- rich products and dietary photoprotection. *Photochemical and Photobiological Sciences*. 2006, 5: 238-242.
54. ATBC trial. Cigarette smoke or alcohol consumption may enhance adverse effects of beta carotene in vitamin prevention trials, *National Institute of Health, National Cancer Institute*, 1996.
55. McArdle F, Rhodes LE, Parslew R. UVR-Induced oxidative stress in human skin in vivo: effects of oral vitamin c supplementation. *Free Radical Biology and Medicine*. 2002, 33: 1355-1362.
56. Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D. Meta-Analysis: High dosage vitamin e supplementation may increase all- cause mortality. *Annals of Internal Medicine*. 2005, 142: 37-46.
57. Fuchs J, Packer L. Antioxidant protection from solar-simulated radiation- induced suppression of contact hypersensitivity to the recall antigen nickel sulfate in human skin. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999, 27: 422-427.
58. Nichols JA, Katiyar SK. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Archives of Dermatological Research*. 2010, 302: 71-83.
59. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress- induced cancer. *Chemico Biological Interactions*. 2006, 160: 1-40.

60. Percival M. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*. 1998, 10: 1-4.
61. Witschi A, Reddy S, Stofer B, Lauterburg BH. The systemic availability of oral glutathione. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1992, 43: 667-9.
62. Karasek M. Melatonin. Human aging, and age-related diseases. *Experimental Gerontology*, 2004, 39: 1723-1729.
63. Avanzini G, Franceschetti S. Cellular biology of epileptogenesis. *Lancet*, 2003, 2, 33-42.
64. Hamed S, Abdullah M. Trace elements and electrolytes homeostasis and their relation to antioxidant enzyme activity in brain hyperexcitability of epileptic patients. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2004, 96: 349–359.
65. Jacob RA and Burri BJ. Oxidative damage and defense. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1996, 63: 985S–990S.
66. Cai J, Nelson KC, Wu M, Sternberg P Jr, Jones DP. Oxidative damage and protection of the RPE. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2000, 19: 205–21.
67. Spector A. Oxidative stress-induced cataract: mechanism of action. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*. 1995, 9: 1173–82.
68. Wattanapitayakul SK, Bauer JA. Oxidative pathways in cardiovascular disease: roles, mechanisms, and therapeutic implications. *Pharmacology and Therapeutics*. 2001, 89: 187–206.
69. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *The Biochemical Journal*. 1996, 313: 17–29.
70. Nizamlioğlu N.M., Nas S., Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler, yapıları ve önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*. 2010, 20-35.

71. Debasis BA, Manashi BA, Sidney J, Stohs A, Dipak K, Das B, Sidhartha D, Ray C, Charles A, Kuszynski D, Shantaram S, Joshi D, Harry G. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Pruess Toxicology*. 2000, 148, 187–197.
72. Açıkada C, Ergen E. Bilim ve Spor, Büro-tek ofset Matbaacılık, Ankara, 1990.
73. Kuru E. Spor Psikolojisi. Gazi Basımevi, Ankara, 2000.
74. Erkan, N. Yasam Boyu Spor. Nobel Yayın Dağıtımı, Ankara. 1998.
75. Oh-ishi S., Kizaki T., Ookawara T., Sakurai T., Izawa T., Nagata N., and Ohno H. Endurance training improves the resistance of rat diaphragm to exercise-induced oxidative stress. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1997, 156: 1579-1585.
76. Servais S., Couturier K., Koubi H., Rouanet JL., Desplanches D., Sornay-Mayet MH., Sempore B., Lavoie JM., Favier R. Effect of voluntary exercise on H₂O₂ release by subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine*. 2003, 35: 24–32.
77. Cases N, Sureda A, Maestre I, Tauler P, Aguiló A, Cordova A, Roche E, Tur JA, Pons A. Neutrophil tolerance to oxidative stress induced by hypoxia/reoxygenation. *Free Radical Research*. 2004, 38: 1003-1009.
78. Clarkson PM. Antioxidants and physical performance. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1995, 35: 131-141.
79. Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M, Ji LL. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *The American Journal of Physiology*. 1997, 272: 363-369.

80. Tessier F, Margaritis I, Richard MJ, Moynot C, Marconnet P. Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1995, 27: 390–396.
81. Powers SK, Ji LL, Leeuwenburgh C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1999, 31: 987-997.
82. Palmer GC, Stagnitto ML, Ray RK, Knowles MA, Harvey R, Garske GE. Anticonvulsant properties of calcium channel blockers in mice: n-methyl, -d-, l-aspartate and bay k 8644-induced convulsions are potently blocked by the dihydropyridines. *Epilepsia*. 1993, 34: 372-380.
83. Mastaloudis A, Leonard SW, Traber MG. Oxidative stress during extreme endurance exercise. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001, 31: 911-922.
84. Sen CK. Oxidants And Antioxidants in Exercise. *Journal Of Applied Physiology*. 1995, 79: 675-682.
85. Tiidus PM. Radical species in inflammation and overtraining. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 1998, 76: 533–538.
86. Silva EM, Souza JN, Rogez H, Rees JF, Larondelle Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen electedplant species from the amazonian region. *Food Chemistry*. 2007, 101: 1012-1018.
87. Morillas-Ruiz JM, Villegas Garcia JA, Lo'pez FJ, Vidal-Guevara ML, Zafrilla P. Effects of polyphenolic antioxidants on exercise induced oxidative stress. *Clinical Nutrition*. 2006, 25: 444-453.
88. Iacopini P, Baldi M, Storchi P, Sebastiani L. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2008, 21: 589-598.

89. Yamakoshi J, Kataok S, Koga T, Ariga T. Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*. 1999, 142: 139-149.
90. Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, Joshi SS, Pruess HG . Free radicals and grape seedproanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicol*. 2000, 148: 187-197.
91. Sano T, Oda E, Yamashita T, Naemura A, Ijiri Y, Yamakoshi J, Yamamoto J. Anti-Thrombotic Effect Of Proanthocyanidin, A Purified Ingredient of Grape Seed. *Thrombosis Research*. 2005, 115: 115-121.
92. Qin MQ., Zhang GQ., Qin ZL. Effects of OPC on CK, MDA,SOD,GSH-PX for taekwondo athletes after heavy load training. *Journal of Shandong Institute of Physical*. 2006, 22: 72-73.
93. Engelbrecht AM, Mattheyse M., Ellis B., Loos B., Thomas M., Smith R., Peters S., Smith C., Myburgh K. Proanthocyanidin from grape seeds inactivates the PI3-kinase/PKB pathway and induces apoptosis in a colon cancer cell line. *Cancer Letters*. 2007, 258: 144-153.
94. Cooper CB, Storer TW. Egzersiz testleri ve yorumu. Kayserilioğlu A, Çavusoğlu H (Çeviren). 2001: 15-51.
95. Smith JA, Kolbuch-Braddon M, Gillam I, Telford RD, Weidemann MJ. Changes in the susceptibility of red blood cells to oxidative and osmotic stress following submaximal exercise. *European Journal Of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 1995, 70: 427-436.
96. Çetin A, Sağdıç O. Üzümün biyoaktif bileşenleri ve antioksidan etkileriyle ilgili kısa bir derleme, *Erciyes Tıp Dergisi*. 2009, 31: 369-375.

97. Peterlongo F, Gabetta B, Fuzzati N, Griffini A, Lolla E, Pace R, Rufilli T. Haracterization of proanthocyanidins from grape seeds. *Fitoterapia*. 2000, 71: 162
98. Hwang IK, Yoo KY, Kim DS, Jeong YK, Kim JD, Shin HK, Lim SS, Yoo ID, Kang TC, Kim D, Moon W, Won MH. Neuroprotective effects of grape seed extract on neuronal injury by inhibiting dna damage in the gerbil hippocampus after transient forebrain ischemia. *Life Sciences*. 2004, 75: 1989–2001.
99. Feng, Y, Liu Y, Leblanc MH, Bhatt AJ, Rhodes PG. Grape seed extract given three hours after injury suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats, *Pediatric Research*. 2007, 61: 295-300.
100. Wang Q, Sun AY, Simonyi A, Miller DK, Smith RE, Luchtefeld RG, Korthuis RJ, Sun GY. Oral administration of grape polyphenol extract ameliorates cerebral ischemia/reperfusioninduced neuronal damage and behavioral deficits in gerbils: comparison of pre- and post-ischemic administration, *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2009, 20: 369-377.
101. Shao J, Iwashita N, Ikeda F, Ogihara T, Uchida T, Shimizu T, Uchino H, Hirose T, Kawamori R, Watadal H. Beneficial effects of candesartan, an angiotensin 11 type 1 receptor blocker, on betacell function and morphology in db/db mice. *Biochemical and Biophysical Research*. 2006, 344: 1224–1233
102. Zhao J, Wang J, Chen Y, Agarwal R. Anti-Tumor promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation-promotion protocol and identification of procyanidin B5-3'-Gallate as the most effective antioxidant constituent. 1999, 20: 1737-1745.
103. Robert L, Godeau G, Gavignet C. The effect of proanthocyanidolic oligomers on vascular. *Pathologie Biologie*. 1990, 38: 608-16.

104. Ye X, Krohn RL, Liu W, Joshi SS, Kuszynski CA, McGinn TR, Bagchi M, Preuss HG, Stohs SJ, Bagchi D. The cytotoxic effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 1999, 196: 99-108.
105. Kuntal M, Kakalı M, Arunava G, Haja NA, Bishnu PS, Pulok KM. Enhanced therapeutic benefit of quercetin–phospholipid complex in carbon tetrachloride–induced acute liver injury in rats: a comparative study. *Iranian Journal of Pharmacology Therapeutics*, 2005, 4: 84-90.
106. Holloszy JO, Coyle EF. Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *The Journal of Applied Physiology*. 1984, 56: 831-838.
107. Coyle EF. Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *The Journal of Applied Physiology*. 1984, 56: 831-838.
108. Laursen PB. Free radicals and antioxidant vitamins: optimizing the health of the athlete. *The Journal of Strength and Conditioning Research*. 2001, 23: 17–25.
109. Gutteridge JM. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interactions*. 1994, 91: 133-140.
110. Mercan U, Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi, Y.Y.Ü. *Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2004, 15: 91-96.
111. Gilbert DL, Colton CA. Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Interdisciplinary Approach: *Kluwer academic publishers*; 2002. 110,749-755
112. Venditti P, Di MS. Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats, *International Journal of Sports Medicine*. 1997, 18: 497-502.

113. Nicklas BJ, Brinkley TE. Exercise training as a treatment for chronic inflammation in the elderly. *Exercise and Sport Sciences Reviews*. 2009, 37: 165-70.
114. Lamson DW, Brignall MS. Antioxidants and Cancer III: quercetin. *Alternative Medicine Review*. 2000, 5: 196-208.
115. Telugu ANR, Ayyagari NVL, Tamatam A, Linga Venkateshwar R, Gita S. Protective effects of quercetin during influenza virus induced oxidative stress. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 2000, 9: 314-317.
116. Nieman DC, Williams AS, Shanely RA, et al. Quercetin's influence on exercise performance and muscle mitochondrial biogenesis. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2010, 42: 338-345.
117. Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53: 1841-1856.
118. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage by exercise. *Biochem Biophys Res Commun*, 1982, 107: 1198-1205.
119. Gasparin FR, Spitzner FL, Ishii-Iwamoto EL, Bracht A, Constantin J. Actions of quercetin on gluconeogenesis and glycolysis in rat liver. *Xenobiotica*; 2003, 33: 903-911.
120. Groot H. Reactive oxygen species in tissue injury. *Hepatogastroenterology*. 1994, 41: 328-332.
121. Viitala P. Effects of Antioxidant Vitamin Supplementation on Resistance Exercise Induced Lipid Peroxidation in Trained and Untrained Participants. Yüksek lisans. Canada: University of Lakehead; 2003.
122. Gökpınar S, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. Algal antioksidanlar, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*. 2006, 23: 85-89.

123. Wenzel U, Nickel A, Kuntz S, Daniel H. Ascorbic acid suppresses drug induced apoptosis in human colon cancer cells by scavenging mitochondrial superoxide anions. *Carcinogenesis*, 2004, 25: 703-712.
124. Alessio HM, Goldfarb AH, Cutler RG. MDA content increases in fast- and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. *The American Journal of Physiology*. 1988, 255: 874-877.
125. Elliott M, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells. Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*. 2000, 52: 673-675.
126. Çimen Ç, Öter Ç, Demir H, Savran A. Rat eritrositlerinden elde edilen katalaz enziminin karakterizasyonu ve kinetiğinin incelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*. 2005, 16: 15-20.
127. Burda S, Oleszek W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49: 2774-2779.
128. Chai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioksidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Science*. 2004, 74: 2157-2184.
129. Beecher GR, Warden BA, Merken H. Analysis of tea polyphenols. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1999, 220: 267-70.
130. Erkoç Ş, Erkoç F, Keskin N. Theoretical investigation of quercetin and its radical isomers. *The Journal of Molecular Structure*. 2003, 631: 141-146.
131. Singh S, Singh SK, Kumar M, Chandra K, Singh R. Ameliorative Potential of uercetin Against Paracetamol-induced Oxidative Stress in Mice Blood. *Toxicology International*. 2011, 18: 140-145.
132. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 1984, 105: 121-126.

133. Maiorino M, Aumann KD, Brigelius-Flohe R, Doria D, van den HJ, McCarthy J, Roveri A, Ursini F, Flohe L. Probing the presumed catalytic triad of selenium-containing peroxidases by mutational analysis of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx), *Biological chemistry Hoppe-Seyler*. 1995, 376: 651-660.
134. Tanakol R. Antioksidan vitaminler: Hastalıkta ve sağlıkta önemleri. *Klinik Gelişim Dergisi*, 1998, 11: 347-357.
135. Duarte J, Pérez-Palencia R, Vargas F, Ocete MA, Pérez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Tamargo J. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. *British Journal of Pharmacology*. 2001, 133: 117-24.
136. Thompson-Gorman SL, Zweier JL. Evaluation of the role of xanthine oxidase in myocardial reperfusion injury. *Journal of Chemical Biology*. 1990, 265: 6656–6663.
137. Ayyıldız M, Yıldırım M, Ağar E. The involvement of nitric oxide in the anticonvulsant effects of α -tocopherol on penicillin-induced epileptiform activity in rats, *Epilepsy Research*, 2007, 73: 166.
138. Shao ZH, Terry L, Hoek V, Xie J, Wojcik K, Chan KC, Chang-Quing Li, Hamann K, Qin Y, Paul T. Schumacker and Lance B. B. Grape seed proanthocyanidins induce pro-oxidant toxicity in cardiomyocytes. *Cardiovascular Toxicology*. 2003, 3: 331–339.
139. Dichter MA. The epilepsies and convulsive disorders, harrison's principles of internal medicine, *McGraw-Hill*. 1994, 2229.
140. Arzimanoglou A, Hirsch E, Nehlig A, Castelnau P, Gressens P, De Vasconcelos AP. Epilepsy and neuroprotection: an illustrated review. *Epileptic Disorders*. 2002, 3: 173-182.

141. Stadtman ER, Levine RL. Protein oxidation, *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000, 899: 191–208.
142. Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, Van ZJ, Van Bladeren PJ. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2001, 10: 141-152.
143. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 4. Edition. New York: *Oxford University Press*; 2007.
144. Bloomer RJ, Goldfarb AH. Anaerobic exercise and oxidative stres. A review. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2004, 29: 245-263
145. Duncan K, Harris S, Ardies CM. Running exercise may reduce risk for lung and liver cancer by inducing activity of antioxidant and phase II enzymes. *Cancer Leters*. 1997, 116: 151–158.
146. Dündar U. Enerji sistemleri. Antrenman Teorisi' nde. 6. Baskı. Nobel Basımevi, Ankara, 2003.
147. Şaşmaz GV. Erkek Farelerde Farklı Sürelerdeki Hafif Egzersizin Kas ve Karaciğer Antioksidan Sistemlerine Etkisi. Doktora Tezi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gazi Üniversitesi, Ankara, 1997.
148. Şentürk H. Serbest Radikal Hasarının Hepato-Biliyer Sistem Hastalıklarındaki Rolü. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 2004, 5, (ek sayı 1): 1-8.
149. Young JF, Nielsen SE, Haraldsdóttir J, Daneshvar B, Lauridsen ST, Knuthsen P, Crozier A, Sandström B, Dragsted LO. Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1999, 69: 87-94.
150. Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol es Health*. 2003, 27: 277-284.

151. Leeuwenburgh C, Hansen P, Shaish A, Holloszy JO, Heinecke JW. Markers of protein oxidation by hydroxyl radical and reactive nitrogen species in tissues of aging rats. *The American Journal of Physiology*. 1998, 274: 453-61.
152. Lin WT, Yang SC, Chen KT, Huang CC, Lee NY. Protective effects of L-arginine on pulmonary oxidative stress and antioxidant defenses during exhaustive exercise in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2005, 26: 992-9.
153. Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Barstow TJ. The effect of exercise intensity on lipid peroxidation, *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1997, 29: 1036-9.
154. Child RB, Wilkinson DM, Fallowfield JL. Resting serum antioxidant status is positively correlated with peak oxygen uptake in endurance trained runners. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 1999, 39: 282
155. Dixon CB, Robertson RJ, Goss FL, Timmer JM, Nagle E, Evans RW. Effect of resistance training status on free radical production and muscle damage following acute exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2003, 35: 157.
156. Quindry JC, Stone WL, King J, Broeder CE. The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2003, 35: 1139-45.
157. Lovlin R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN. Are indices of free radical damage related to exercise intensity. *European Journal of Applied Physiology*. 1987, 56: 313-6.
158. Kretzschmar M, Müller D, Hübscher J, Marin E, Klinger W. Influence of aging, training and acute physical exercise on plasma glutathione and lipid peroxides in man. *International Journal of Sports Medicine*. 1991, 12: 218-22.

159. Husain K. Interaction of exercise training and chronic NOS inhibition on blood pressure, heart rate, NO and antioxidants in plasma of rats. *Pathophysiology*. 2003, 10: 47-56.
160. Ji LL. Exercise at old age: Does it increase or alleviate oxidative stress? *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001, 928: 236-47.
161. Belviranlı M, Gökbel H. Acute exercise induced oxidative stres and antioxidant changes, selcuk üniversity, Meram faculty of medicine, department of physiology, Konya, Turkey 2006, 3: 126-131
162. Çolakoğlu S, Çolakoğlu M, Kırkalı M, Örmən M, Akan P. E vitamini desteğinin submaksimal egzersizde oksidan stres ve dayanıklılık üzerine etkileri. *Celal Bayar Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi* 1999, 3: 3.
163. Çelik A, Varol R, Onat T, Dağdelen Y, Tugay F. Akut Egzersizin Futbolcularda Antioksidan Sistem Parametrelerine Etkisi. *Spormetre Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi*, 2007, 4: 167-172.
164. Ortenblad N, Madsen K, Djurhuus MS. Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. *American Journal of Physiology*. 1997, 272: 1258-63.
165. Gohil K, Rothfuss L, Lang J, Packer L. Effect of exercise training on tissue vitamin E and ubiquinone content. *Journal of Applied Physiology*. 1987, 63: 1638-41.
166. Marzatico F, Pansarasa O, Bertorelli L, Somenzini L, Della Valle G. Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 1997, 37: 235-9.

167. Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001, 31: 745-53.
168. İnal M, Akyüz F, Turgut A, Getsfrid WM. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2001, 33: 564-567.
169. Duthie GG. Determination of activity of antioxidants in human subjects. *Proceedings Of The Nutrition Society*. 1999, 58: 1015-1024.
170. Hellsten Y, Sjödín B, Richter EA, Bangsbo J. Urate uptake and lowered ATP levels in human muscle after high-intensity intermittent exercise. *American Journal of Physiology*. 1998, 274: 600-6.
171. Hellsten Y, Svensson M, Sjödín B, Smith S, Christensen A, Richter EA, Bangsbo J. Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001, 31: 1313-22.
172. Svensson MB, Ekblom B, Cotgreave IA, Norman B, Sjöberg B, Ekblom O, Sjödín B, Sjödín A. Adaptive stress response of glutathione and uric acid metabolism in man following controlled exercise and diet. *Acta Physiologica Scandinavica*. 2002, 176: 43-56.
173. Thompson D, Williams C, Garcia-Roves P, McGregor SJ, McArdle F, Jackson MJ. Post-exercise vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *European Journal of Applied Physiology*. 2003, 89: 393-400
174. Powers SK., Lennon SL. Analysis Of Cellular Response To Free Radicals Focus On Exercise And Skeletal Muscle. *Proceedings Of The Nutrition Society*. 1999, 58: 1025-1033.

175. Düzova H, Emre MH, Karakoç Y, Karabulut AB, Yılmaz Z, Gürsul C, Yoloğlu S. Orta ve yüksek düzeyde treadmill egzersizinin sıçanların kas ve eritrosit oksidan/antioksidan sistemine etkisi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2006, 13: 1-5.
176. Higuchi M, Cartier LJ, Chen M, Holloszy JO. Superoxide dismutase and catalase in skeletal muscle: adaptive response to exercise. *The Journals of Gerontology*. 1985, 40: 281-6.
177. Laughlin MH, Simpson T, Sexton WL, Brown OR, Smith JK, Korthuis RJ. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. *Journal of Applied Physiology*. 1990, 68: 2337-43.
178. Tiidus PM, Pushkarenko J, Houston ME. Lack of antioxidant adaptation to short-term aerobic training in human muscle. *American Journal of Physiology*. 1996, 271: 832-6.
179. Husain K, Somani SM. response of cardiac antioxidant system to alcohol and exercise training in the rat. *Alcohol*. 1997, 14: 301-7
180. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu FK, Ji LL, Herb RA. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *American Journal of Physiology*. 1993, 265: 2094-8.
181. Sato M, Maulik G, Ray PS, Bagchi D, Das DK. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 1999, 31: 1289-97.
182. Sehirli O, Ozel Y, Dulundu E, Topaloglu U, Ercan F, Sener G. Grape seed extract treatment reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Phytotherapy Research*. 2008, 22: 43-8.

183. Bagchi D, Garg A, Krohn RL, Bagchi M, Bagchi DJ, Balmoori J, Stohs SJ. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *General Pharmacology*. 1998, 30: 771-6.
184. Joshi SS, Kuszynski CA, Bagchi M, Bagchi D. Chemopreventive effects of grape seed proanthocyanidin extract on Chang liver cells. *Toxicology*. 2000, 155: 83-90.
185. Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1993, 25: 225–231
186. Turgut A. Özgürbüz C. Azboy O, Akyüz F, İnal M, Göktürk E, Seber S. Yüzücülerde aerobik ve anaerobik ağırlıklı yüklenmelerde oksidatif stresin karşılaştırılması. *Spor Hekimliği Dergisi*, 1999, 34: 1-10.
187. Kanter MM, Nolte LA, Holloszy JO. Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *Journal of Applied Physiology*. 1993, 74: 965-9.
188. Ohno H, Yahata T, Sato Y, Yamamura K, Taniguchi N. Physical training and fasting erythrocyte activities of free radical scavenging enzyme systems in sedentary men. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*. 1988, 57: 173-6.

EKLER

EK-1 ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	: Öznur AKYÜZ
Doğum tarihi	: 1981
Doğum yeri	: Kayseri
Medeni hali	: Evli
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi Beden Eğitimi Ve Spor Yüksek Okulu
Tel	: 0543 638 25 38
Faks	-
E-mail	: oznurakyuz2538@hotmail.com
EĞİTİM	
Lise	: Kayseri Lisesi
Lisans	: Atatürk Üniversitesi
Yüksek lisans	: Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimler enstitüsü
Doktora	-
YABANCI DİL BİLGİSİ	
İngilizce	:
ÜYE OLUNAN MESLEKİ KURULUŞLAR	
-	
İLGİ ALANLARI, HOBİLER	
Fotoğraf çekmek	
Spor yapmak	

EK-2 HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 36643897-111

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

29.08.2013

ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR YÜKSEKOKULU MÜDÜRLÜĞÜNE

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 05.08.2013 tarih ve 70400699/71.00 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Müdürlüğünüz öğretim üyesi Doç.Dr.Necip Fazıl KİŞHALI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu Müdürlüğünün Spor Fizyolojisi Laboratuvarı ile Tıp Fakültesi Dekanlığının Biyokimya, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dallarının Laboratuvarlarında yürütülecek olan “**Farklı Sürelerde Yüzme Egzersizi ve Antioksidan Kullanımının Rat Kas Dokusu Üzerine Etkisi**” başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 29.08.2013 tarih ve 3 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 93 no’lu kararı ile söz konusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

T. C. ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ Beden Eğitimi ve Spor Yük. Ok. Md.	
Kayıt No:	759
Tarih:	03.09.2013
Dosya No:	

Yanış. Sevgiye
01.09.2013
We

Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan Vekili

Toplantı Tarihi : 29.08.2013

Toplantı Sayısı : 3

KARAR NO : 93- Atatürk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu Müdürlüğü öğretim üyesi Doç.Dr.Necip Fazıl KİŞHALI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu Müdürlüğünün Spor Fizyolojisi Laboratuvarı ile Tıp Fakültesi Dekanlığının Biyokimya, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dallarının Laboratuvarlarında yürütülecek olan “**Farklı Sürelerde Yüzme Egzersizi ve Antioksidan Kullanımının Rat Kas Dokusu Üzerine Etkisi**” başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu Müdürlüğünün 05.08.2013 tarih ve 70400699/71.00 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM
Telefon : 0-442-236 08 80 Fax : 0-442-236 08 81 e-mail: hadyek@atauni.edu.tr