T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

DİYABETLİ SIÇANLARDA KOENZİM Q10 VE ALFA LİPOİK ASİT DESTEKLERİNİN EGZERSİZLE OLUŞAN LİPİT PEROKSİDASYONU VE ANTİOKSİDAN DURUM ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Rahime ÇELİK TAV

Danışman
Doç.Dr.Nilsel OKUDAN

KONYA, 2008

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

DİYABETLİ SIÇANLARDA KOENZİM Q10 VE ALFA LİPOİK ASİT DESTEKLERİNİN EGZERSİZLE OLUŞAN LİPİT PEROKSİDASYONU VE ANTİOKSİDAN DURUM ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Rahime ÇELİK TAV

Danışman
Doç.Dr.Nilsel OKUDAN

İkinci Danışman
Prof.Dr.Hakkı Gökbel

KONYA, 2008

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

DİYABETLİ SIÇANLARDA KOENZİM Q10 VE ALFA LİPOİK ASİT DESTEKLERİNİN EGZERSİZLE OLUŞAN LİPİT PEROKSİDASYONU VE ANTİOKSİDAN DURUM ÜZERİNE ETKİLERİ

SABE PROJE NO:

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Rahime ÇELİK TAV

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 14/02/2008 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri Başkanı: Doç.Dr. Nilsel Okudan
Danışman: Doç.Dr. Nilsel Okudan
Üye: Doç.Dr. Ayşe Saide Şahin
Üye: Yrd.Doç.Dr.H. Serdar Gergerlioğlu

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ iii

KISALTMALAR LİSTESİ iv

1. GİRİŞ 1

2. LİTERATÜR BİLGİ 2

2.1. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma 2

2.1.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Biyolojik Etkileri 2

2.1.2. ROS ve Reaktif Nitrojen Türlerinin Zararlı Etkilerinin Azaltılması 3

2.2. Egzersiz, Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma 4

2.2.1.Akut egzersizde oksidatif stres 4

2.2.2. Akut Egzersizin Lipit Peroksidasyonna ve Antioksidan Sisteme Etkisi 5

2.2.3.Düzenli Egzersizde Oksidatif Stres 5

2.3. Diyabette Lipit Peroksidasyonu 6

2.3.1. Diyabette Antioksidanların Rolü 6

2.3.2. Diyabette Egzersiz ve Antioksidan Savunma 7

2.4. Koenzim Q10 8

2.4.1. Koenzim Q10 takviyesinin etkileri 8

2.5. Alfa Lipoik Asit 10

2.5.1. Alfa lipoik asit takviyesinin etkileri ve Lipit peroksidasyon 12

3. MATERYAL VE METOT 13

3.1. Hayvan Sağlanması 13

3.2. Test öncesi şartlar 13

3.3. Grupların Oluşturulması ve Kan Örneklerinin Toplanması 13

3.4. Kan örneklerinin incelenmesi 14

3.4.1. Kullanılan Cihazlar 14

3.4.2. Kullanılan Reaktif ve Çözeltiler 14

3.4.2.A. Malondialdehit reaktifleri 14

3.4.2.B. Nitrik Oksit reaktifleri 14

3.4.2.C. Ksantin Oksidaz reaktifleri 15

3.4.2.D. Süperoksit Dismutaz reaktifleri 15

3.4.3. Kullanılan Analiz Yöntemleri 16

3.4.3.1. Malondialdehit Ölçümü 16

3.4.3.2. Ksantin Oksidaz Ölçümü 16

3.4.3.3. Süperoksit Dismutaz Ölçümü 17
3.4.3.4. Nitrik Oksit Ölçümü 17
3.5. İstatistiksel Analizler 18
4. BULGULAR 19
4.1. CoQ10 ve ALA kullanımıyla ROS aktivasyonunda (MDA, NO) ve antioksidan enzimlerde (SOD) meydana gelen değişiklikler 19
4.1.1. Malondialdehit 19
4.1.2. Nitrik Oksit 19
4.1.3. Süperoksit Dismutaz 19
4.1.4. Ksantin Oksidaz 19
5.TARTIŞMA VE SONUÇ 21
5.1. CoQ10'nun 30 dakikalık kısa süreli aerobik egzersizlerle oksidatif stres ve antioksidan savunmada oluşan değişiklikler üzerine etkileri 21
5.2. ALA'nın 30 dakikalık kısa süreli aerobik egzersizlerle oksidatif stres ve antioksidan savunmada oluşan değişiklikler üzerine etkileri 21
6.ÖZET 23
7. SUMMARY 24
8. KAYNAKLAR 25
9. ÖZGEÇMİŞ 37
10. TEŞEKKÜR 38

TABLO LİSTESİ

TABLO 1- Grupların malondialdehit, nitrik oksit, süperoksit dismutaz, ksantin oksidaz değerleri

KISALTMALAR LİSTESİ

ALA: Alfa lipoik asit

CAT: Katalaz

CHF: Konjestif kalp yetmezliği

CoQ10: Koenzim Q10

DHLA: Dihidrolipoik asit

DM: Diabetes mellitus

GPx: Glutatyon peroksidaz

GR: Glutatyon redüktaz

GSH: Glutatyon

GST: Glutatyon- S-transferaz

GSSG: İndirgenmiş glutatyon

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein

HPLC: Yüksek basıçlı sıvı kromatografisi

i.p: İntraperitoneal

LA: Lipoik asit

LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

LDL- TRAP: Düşük yoğunluklu lipoprotein antioksidan gücü

MDA: Malondialdehit

NA: Noradrenalin

NO: Nitrik oksit

RNS: Reaktif nitrojen türleri

ROS: Reaktif oksijen türleri

SOD: Süperoksit dismutaz

STZ: Streptozotosin

TBARS: Tiobarbitürik asit reaktivitesi yoğunluğu

VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

XO: Ksantin oksidaz

1.GİRİŞ

Serbest radikaller insan vücudunda doğal olarak üretilen reaktif bileşiklerdir, pozitif (immün sistem üzerine) ve negatif (lipit, protein ve DNA oksidasyonu üzerine) etkileri vardır.

Egzersizin reaktif oksijen türlerinin oluşumuna ve oksidatif hasara neden olduğu, düzenli antrenmanın ise reaktif oksijen türlerinin neden olduğu lipit peroksidasyonuna karşı direnci artırdığı, oksidatif proteinleri ve DNA hasarını azalttığı bilinmektedir. Düzenli antrenmanın süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırarak oksidatif stresin zararlı etkilerini ortadan kaldırdığı gösterilmiştir. Antioksidan takviyesinin genellikle performansı artırmadığı, antioksidan durumu ise iyileştirdiği bulunmuştur.

Koenzim Q10, mitokondride enerji üretiminde anahtar rol oynayan, endojen bir moleküldür. Sporcularda ve sedanterlerde çeşitli egzersiz tiplerinde koenzim Q10'un etkisi araştırılmış; bazı çalışmalarda performansı artırdığı, bazı çalışmalarda ise artırmadığı bulunmuştur.

Alfa lipoik asit, hem yağda hem de suda çözünebilen güçlü bir antioksidandır. Alfa lipoik asitin hem okside formu hem de indirgenmiş formu antioksidan aktivite göstermektedir. Alfa lipoik asitin diyabetten korunmada, glikoz kontrolünde ve nöropati gibi kronik hiperglisemiye bağlı komplikasyonlardan korunmada etkili olduğu yapılan çalışmalarda görülmektedir.

Bu çalışmanın amacı, diyabetli sıçanlarda koenzim Q10 ve α-lipoik asit desteklerinin egzersizle oluşan lipit peroksidasyonu ve antioksidan durum üzerine etkilerini araştırmaktır.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1. OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküllerdir. Serbest radikaller ve oksijenin radikal olmayan türevleri birlikte reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılır.

ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS), metabolik süreçler sonucunda üretilen serbest radikal ürünleridir (Urso ve Clarkson 2003, Halliwell ve Gutteridge 2000).

2.1.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Biyolojik Etkileri

1- Pozitif etkiler: ROS, fagositoz sırasında antijenlere karşı rol oynar (Rimbach ve ark 1999). Bu rol inflamasyon sırasında artar (Malm 2001). ROS aynı zamanda enzim aktivasyonlarını içine alır (Jenkins 1988) ve kas kontraksiyonunda temel rol oynar (Coombes ve ark 2001).

2- Negatif etkiler: Lipit peroksidasyonu, protein oksidasyonu, DNA oksidasyonu, serbest radikallerin (FR) neden olduğu kas yorgunluğu.

ROS, sağlam hücrelerde inflamasyonu başlatabilir veya hücresel fonksiyonu değiştirebilir. Bu bozukluklar katarakt, kanser, Alzheimer veya Parkinson hastalığı gibi dejeneratif patolojilere neden olur (Golden ve ark 2002). ROS lipitler, proteinler ve DNA üzerinde zararlı etkiler gösterir.

Serbest radikallerin neden olduğu kas yorgunluğu: Minimal miktarda ROS kas kontraksiyonu için gereklidir (Coombes ve ark 2001

Lipit peroksidasyonu: Lipoprotein peroksidasyonu, damar sertliği patogenezinde önemli bir faktördür (Young ve Mc Eneny 2001). ROS, LDL oksidasyonunu başlatır (Morel ve ark 1983). Her tip hücreye, özellikle kas hücresine ve eritrositlere ROS zararlıdır (Tavazzi ve ark 2000). Lipit peroksidasyon markırları oksidatif hasarın indikatörü olarak kullanılır. Lipit hidroperoksitler üretildikleri alandan difüze olabilen malondialdehit ve 4-hidroksi-2-nonenal gibi çok sayıda aldehite ayrışabilir ve bunlar da proteinleri veya DNA'yı okside ederek daha ileri hasara neden olur (Urso ve Clarkson 2003).

Protein oksidasyonu: Protein ve aminoasit oksidasyonu, protein karbonil miktarını artırır (Levine 2002). Proteinlerdeki oksidatif hasar amino asit yan zincirlerinin oksidasyonuna ve

polipeptidlerin parçalanmasına neden olur (Bloomer ve Goldfarb 2004).

DNA oksidasyonu: ROS, DNA ipliklerinin ayrılmasına sebep olur ve temel onarıma zarar verir (Wallace 2002). DNA oksidasyonu mutajenleri harekete geçirerek kanser oluşumuna yol açabilir (Fehrenbach ve Northoff 2001).

2.1.2. ROS ve RNS'nin Zararlı Etkilerinin Azaltılması

Hücreler metabolik süreçlerin sonucunda devamlı olarak serbest radikal ve RNS üretirler. Alınan oksijenin % 1-5'i ROS oluşumuna neden olur (Urso ve Clarkson 2003). Serbest radikallerin hücre içerisinde üretimi o kadar fazladır ki, ani yıkımlardan ve ölümden kaçınmak için hücrede bir koruma sisteminin varlığı gereklidir. Çok sayıda koruma/savunma süreci tanımlanmıştır:

Birinci basamak endojen serbest radikal üretiminin azaltılmasıdır; bu, mitokondride serbest radikal sızıntısının azaltılmasıyla gerçekleştirilir.

İkinci basamak metabolik hızın azaltılmasıdır.

Üçüncü basamak oksidatif hasarda anahtar hedeflerin dirençlerinin artırılmasıdır.

Dördüncü basamak antioksidanlar tarafından temizlenmek suretiyle serbest radikallere karşı korumanın artırılmasıdır (Cutler ve ark 2005). Fizyolojik koşullarda hücreler oluşan serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur. Bu sistemler şu şekilde sınıflandırılabilir:

A. Enzimatik Antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR).

B. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar: C vitamini, E vitamini, A vitamini, flavinoidler, melatonin, ürik asit, albümin, haptoglobulin, sistein, seruloplazmin, transferin, laktoferrin, ferritin, oksipurinol, ubiquinon (koenzim Q10), bilirubin, mannitol, lipoik asit ve hemopeksin (Halliwell ve Gutteridge 2000).

Genel olarak enzimatik antioksidanlar hücre içinde, enzimatik olmayan antioksidanlar ise hücre dışında daha etkilidir.

Beşinci basamak tamir, geri dönüşüm ve yeniden şekillendirme sürecidir.

Altıncı basamak ise hücrenin nükleik asit, protein ve lipit unsurları için tamir sürecidir (Cutler ve ark 2005).

2.2. EGZERSİZ, OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA

Serbest radikal üretiminin antioksidan savunmanın kapasitesini aşması oksidatif strese yol açar. Oksidatif stres bazı patolojik durumların (kanser, Parkinson hastalığı gibi) ilerlemesinde rol alabilir (Finaud ve ark 2006). Yoğun egzersiz oksidatif stresi artırır.

2.2.1. Akut Egzersizde oksidatif stres

Egzersizin ROS oluşumuna ve oksidatif hasara neden olduğu, düzenli antrenmanın ise ROS'un neden olduğu lipit peroksidasyonuna karşı direnci artırdığı ve oksidatif proteinleri, DNA hasarını azalttığı bilinmektedir (Quindry ve ark 2003).

Egzersiz serbest radikal üretimini birçok yolla artırır (Deaton ve Marlin 2003):

1- Egzersizde, egzersizin yoğunluğuna ve kişinin performansına bağlı olarak oksijen tüketimi 8-16 kata kadar artar. Mitokondriyal elektron transfer zincirinden elektron sızıntısı süperoksit anyonu üretiminde artışla sonuçlanır.

2- Şiddetli egzersizde aktif kaslar hipoksik olabilir.

3- Egzersiz esnasında katekolamin konsantrasyonu artar ve bu da ROS'un otooksidasyonu ile sonuçlanır.

4- Egzersizin neden olduğu hipertermi oksidatif hasara neden olabilir.

Aerobik-anaerobik ağırlıklı egzersizin daha fazla, aerobik ağırlıklı egzersizin daha az oksidatif strese sebep olduğu ve kadınların oksidatif strese karşı erkeklerden daha toleranslı oldukları gösterilmiştir (Ilhan ve ark 2004). Cinsiyete bağlı bu farkın açıklaması, erkeklerdeki daha yüksek metabolik hızın mitokondriyal akışta artışa yol açarak ROS üretimini artırması, ayrıca kadınlarda antioksidan özellikler gösteren östrojen hormonunun daha fazla bulunmasıdır (Mastaloudis ve ark 2004).

Otuz dakikalık aerobik ve anaerobik egzersizin DNA ve lipit peroksidasyonu üzerine etkisi azken protein ve glutatyon oksidasyonunu artırdığı, protein oksidasyonunun daha çok anaerobik egzersizden, glutatyon oksidasyonunun ise daha çok aerobik egzersizden etkilendiği bildirilmiştir (Bloomer ve ark 2005).

Yoğun egzersiz kas hasarına, takiben inflamasyona cevap olarak nötrofil aktivasyonuna ve nötrofiliye sebep olabilir (Umegaki ve ark 2000). Aktive olan nötrofiller, kendilerine ve komşu hücrelere hasar veren süperoksit ve hidrojen peroksit gibi ROS'lar üretir.

Nötrofil sayısının ve nötrofillerden oluşan süperoksit seviyelerinin maksimal koşu bandı egzersizinden hemen sonra yüksek olması, egzersizin yol açtığı nötrofilinin oksidatif strese katkıda bulunduğunu göstermektedir (Quindry ve ark 2003).

2.2.2. Akut Egzersizin Lipit Peroksidasyonuna ve Antioksidan Sisteme Etkisi

Egzersiz sıçan kas ve karaciğerinde serbest radikal üretimine ve oksidatif strese neden olur. Oksidatif zarar, protein karbonilleri ve tiobarbitürik asit reaktivitesi yoğunluğu (TBARS) gibi biyomarkırlar ile artar (Sen ve ark 1992). Bu biyomarkırlar mitokondriyal fonksiyonu etkiler (Willis ve Jackman 1994), kalpte (Somani ve ark 1995), kanda (Viguie ve ark 1993), akciğerde (Salminen ve ark 1997), karaciğerde (Ji 1993), beyinde (Somani ve ark 1995) ve kasta (Powers ve ark 1994) antioksidan enzimlerin miktarını azaltır.

Fiziksel egzersiz, antioksidan savunmayı artırır ve LDL oksidasyonunu önleyebilir (Vasankari ve ark 1997).

Endojen antioksidanlar kas, kalp, beyin gibi organlardaki egzersize bağlı oksidatif stres ve adaptasyonda önemli rol oynar (Liu ve ark 2000).

2.2.3. Düzenli Egzersizde Oksidatif Stres

Antrenmanın şiddetine, tipine ve kişinin antrenman öncesi durumuna bağlı olarak antrenman, oksidatif stres üzerinde pozitif veya negatif etkiler gösterebilir. Dayanıklılık antrenmanlarının egzersizle oluşan oksidatif stresi ve kas hasarını azalttığı gösterilmiştir (Finaud ve ark 2006).

Yoğun dayanıklılık antrenmanının eritrositlerdeki antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı ve tüketici egzersize cevap olarak nötrofillerden süperoksit üretimini azalttığı gösterilmiş, antioksidan savunmadaki bu upregülasyonun eritrosit membranında egzersizin neden olduğu lipit peroksidasyondaki azalma ile bağlantılı olduğu ileri sürülmüştür (Miyazaki ve ark 2001).

2.3. DİYABETTE LİPİT PEROKSİDASYONU

Diabetes mellitus, hiperglisemiyle ve endojen insülinin yetersiz sekresyonu veya yetersiz etkisiyle karakterize kronik bir metabolik hastalıktır (Laakso 2001). Hem insülin bağımlı (Tip 1) hem de insülinden bağımsız (Tip 2) diyabette oksidatif stres artar (Rahimi ve ark 2005). Tip 1 ve tip 2 diyabetlilerde plazma SOD ve CAT aktivitelerinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Bununla beraber, diyabetik hastalarla sağlıklı kişiler arasında antioksidan durum açısından önemli fark olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Willems ve ark 1998). Kontrol grubuna göre tip 2 diyabetlilerde SOD aktivitesinin arttığını, CAT aktivitesinin ise azaldığını iddia eden çalışmalar da vardır (Turk ve ark 2002). Eritrosit SOD ve CAT aktivitesi ve GSH içeriği tip 2 diyabetli bireylerde önemli ölçüde azalır, fakat diyabetik nefropatili bireylerde CAT aktivitesinin ve GSH içeriğinin, nefropatisi olmayan bireylere göre daha az olduğu bildirilmiştir (Bhatia ve ark 2003). Tip 1 ve 2 diyabetlilerde eritrosit ve plazmada GSH ve GPx aktivitelerinin azaldığı gösterilmiştir (Memişoğulları ve ark 2003, Ruiz ve ark 1999).

Lipit peroksidasyonun diğer bir markırı olan hidroperoksitler her iki tip diyabette de yükselir (Santini ve ark 1997). Streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan sıçanların plazma ve dokularında oksidatif stres markırlarının arttığı (Aksoy ve ark 2005, Naziroğlu ve Butterworth 2003, Çay ve ark 2001), böbrek dokularında SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azaldığı (Kedziora-Kornatowska ve ark 2000) bildirilmiştir.

Diyabetli sıçanların plazma, eritrosit, karaciğer, kas ve testislerinde TBARS seviyelerinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde yükseldiği bulunmuştur (Çay ve ark 2001, Naziroğlu 2003). Sıçanlarda deneysel diyabetin birinci haftasında karaciğer dokusunda ve eritrositlerde TBARS seviyelerinde önemli bir değişiklik gözlenmezken dördüncü haftada TBARS seviyelerinin önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Feillet-Coudray ve ark 1999).

2.3.1. Diyabette Antioksidanların Rolü

E vitamini, C vitamini ve α-lipoik asit gibi antioksidanların uygulanması, dolaşımdaki monositlerde oksidatif markırları nötralize etmelerine paralel olarak diyabetik retinopati, nefropati, nöropatinin ve kardiyovasküler hastalıkların erken oluşumunu durdurarak veya engelleyerek pozitif sonuçlar sağlamıştır (Scott ve King 2004).

2.3.2. Diyabette Egzersiz ve Antioksidan Savunma

STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda 8 haftalık koşu bandı antrenmanı, böbrekte ve vastus lateralis kasında TBARS ile ölçülen lipit peroksidasyonunu ve hiperglisemiyi azaltmıştır, ancak antrenman sonunda yapılan akut egzersizden dolayı karaciğer lipit peroksidasyonundaki artış önlenememiştir (Gul ve ark 2002).

Akut egzersiz oksidatif strese sebep olurken orta şiddetteki düzenli antrenmanlar E ve C vitamini takviyesi ile birlikte sağlıklı sıçanlarda antioksidan savunmayı artırır ve lipit peroksidasyonunu azaltır (Radak ve ark 2001). Egzersiz, özellikle de orta şiddette egzersiz, diyabetli sıçanlarda muhtemelen lipit peroksidasyonunu azaltıp antioksidan enzim aktivitesini artırarak koruyucu etki göstermektedir. STZ ile oluşturulan Tip 1 diyabette antrenmanın insülin hassasiyetini artırdığı ve β hücrelerini koruduğu gösterilmiştir (Coşkun ve ark 2004). Yüksek dozda fruktoz verilerek insülin direncine ve hiperinsülinemiye yol açılan sıçanların karaciğer dokularında lipit peroksidasyonu, konjuge dienler ve hidroperoksitleri önemli ölçüde artar, insülin direncinin patolojik sonuçlarının azaltılmasında önemli olan antrenman bu sıçanlarda olumsuz etkileri engeller (Thirunavukkarasu ve ark 2003).

STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda antrenman, plazma ve eritrositlerdeki katalaz, GPx ve GSH seviyelerini kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaltır, bu sıçanlarda 20 günlük egzersiz ile birlikte E ve C vitamini takviyesi eritrositlerde lipit peroksidasyonunu azaltmaktır. STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda antrenmanın, plazma ve eritrositlerdeki katalaz, GPx ve GSH seviyelerini kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Naziroğlu ve Butterworth 2005).

Özkaya ve ark (2002) diyabetli sıçanlarda 8 haftalık aerobik antrenmanın beyin Cu/ Zn-SOD ve GPx aktivitesini diyabetli kontrollere kıyasla önemli ölçüde artırdığını, beyin CAT aktivitesini ise etkilemediğini bulmuşlardır. Ksantin oksidaz aktivitesi diğer gruplara göre sadece diyabetli egzersiz grubunda artarken, ksantin dehidrogenaz egzersiz yapan sıçanlarda kontrollere kıyasla azalmıştır (Özkaya ve ark 2002).

Düzenli egzersiz diyabetlilerde antioksidan aktivitesinde artışa neden olur ve böylece reaktif oksijen türlerinin zararsız hale getirilmesini kolaylaştırır (Villa-Caballero ve ark 2000).

2.4. KOENZİM Q10

Koenzim Q10 (CoQ10), mitokondrial elektron transport geçişinde temel bir komponent olan lipofilik bir endojen antioksidandır (Ishrat ve ark 2006). CoQ10, oksidatif hasarın ve suboptimal hücresel enerji metabolizmasındaki bozuklukların tedavisinde kullanılır. Koenzim Q10 (2,3 dimetoksi –5-metil- 6-dekaprenil benzokuinon) vitamin benzeri bir quinoldur. Yaygın olarak ubiquinon, CoQ veya vitamin Q10 olarak bilinir **(**Bonakdar ve Guarneri 2005). CoQ10 ilk olarak 1957 yılında kalp, beyin, karaciğer ve böbrek gibi enerji tüketimi yüksek olan dokularda ve sığır eti mitokondrisinde bulunmuştur (Greenberg ve Frishman 1990).

CoQ10 mitokondride, başlıca mitokondri membranında bulunur ve enerji üretiminde anahtar rol oynar (Linnane ve ark 2002). CoQ10 direkt olarak peroksil radikaline etki eden bir antioksidandır, ayrıca vitamin C ve E'nin rejenerasyonunda indirekt olarak fonksiyon görür (Crane 2001).

CoQ10'un antioksidan etkisi daha çok son 15 yılda araştırılmıştır (Turunen ve ark 2004). Membranlarda quinolün yüksek konsantasyonlarda bulunması radikallerde direkt reaksiyonla veya tokoferol ve askorbatın rejenerasyonuyla antioksidan etki için temel sağlar (Crane 2001).

CoQ10, kas içinde protein sentezi ve gen ekspresyonu için bir aracı olarak fonksiyon görür (Linnane ve ark 2002).

CoQ10'un en bol bulunduğu organlar kalp (114 μ/g dokuda), böbrekler (66,5 μg/g dokuda) ve karaciğerdir (54,9 μg/g) (Donovan ve ark 1994).

Plazma askorbat, CoQ10, kan glutatyon ve serum ürik asit konsantrasyonunun egzersiz sırasında arttığı görülmüştür (Kaikkonen ve ark 2002). Maraton koşusu sırasında plazmanın ubiquinol miktarının arttığı, gösterilmiştir (Mohr ve ark 1992).

2.4.1. Koenzim Q10 Takviyesinin Etkileri

CoQ10 apoptozise veya hücre yaşlanmasına, kansere ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruma gibi yararlı etkilere sahiptir (Linnane ve ark 2002).

İnsanlarda CoQ10 takviyesi serum CoQ10 konsantrasyonunun 3 kattan daha fazla artmasına sebep olur (Eriksson ve ark 1999). CoQ10 takviyesi alan sağlıklı genç erkeklerde CoQ10 konsantrasyonunun plazmada artarken iskelet kasında artmadığı görülmüştür

(Svensson ve ark 1999). CoQ10 takviyesi sıçan beyninde endojen CoQ10 içeriğini artırır (Kwong ve ark 2002). Kurowska ve arkadaşları (2003) CoQ10'un farklı ticari preparatları arasında antioksidan kapasite açısından fark olmadığını göstermişlerdir.

CoQ10 takviyesinin kişileri kardiyovasküler hastalıklardan, kas ve dişeti hastalıklarından koruduğu bulunmuştur (Greenberg ve Frishman 1990). Parkinson hastalığı, konjestif kalp yetmezliği ve diyabette CoQ10 takviyesinin yararlı olduğu görülmüştür. Kalp yetmezliği olan hastalarda kanda ve miyokardda CoQ10 konsantrasyonunun normalden düşük olduğunu gösteren deliller vardır (Baur ve ark 1991). CoQ10'un kronik kalp yetmezliği olan hastalarda kullanılmasının uygun olduğu gösterilmiştir (Mortensen 2003). Kronik kalp yetmezliği olan hastalarda CoQ10 takviyesinin 6 dakika yürüme mesafesini 269 metreden 382 metreye artırdığı bulunmuştur (Mortensen 2005). CoQ10 takviyesinin kalp cerrahisi gereken hastalarda mortaliteyi azaltarak iyi sonuçlar verdiği görülüştür (Kucharska ve ark 1998). Konjestif kalp yetmezlikli hastaların miyokardında oksidatif stres artar, dokularda CoQ10 konsantrasyonu azalır (Folkers ve ark 1985). Hayvan çalışmalarında CoQ10 takviyesinin, reperfüzyon hasarına ve iskemi hasarına karşı koruduğu gösterilmiştir (Mortensen 1993). Kalp cerrahisini takiben kullanıldığında, CoQ10'un miyokardiyal izoenzim konsantrasyonlarını ve sol ventrikül fonksiyonunu düzelttiği, postoperatif iyileşmeyi hızlandırdığı gösterilmiştir (Judy ve ark 1993).

Diyabetli hastalarda CoQ10 konsantrasyonunun kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görülmüştür (Kishi ve ark 1976). CoQ10 takviyesi Tip 1 diyabetli hastalarda glisemik kontrolü sağlar, insülinin kan glikozunu düzenlemesine yardımcı olur (Andersen ve ark 1997). Henriksen ve arkadaşları (1999) diyabetli hastalarda CoQ10 takviyesinin glisemi kontrolüne, insülin düzenlemesine, kan glikoz konsantrasyonuna etkili olmadığını göstermişlerdir. CoQ10 takviyesi yapılan diyabetik sıçanlarda, karaciğerde glutatyon peroksidaz aktivitesi % 44, böbrekte süperoksit dismutaz aktivitesi % 87, beyinde GSSG konsantrasyonu % 54, beyin glutatyon peroksidaz aktivitesi % 17, kalp katalaz aktivitesi % 70 artmış,kalpte lipit peroksidasyonu % 33 azalmıştır **(**Rauscher ve ark 2001).

CoQ10 özellikle hipertansiyon, koroner arter hastalığı veya kalp yetmezliği olan Tip 2 diyabetli hastalarda güvenle kullanılmıştır (Eriksson ve ark 1999).

CoQ10'un sinir koruyucu mekanizması dikkat çekicidir. Bazı nörolojik hastalıklar

mitokondriyal disfonksiyona ve oksidatif strese bağlıdır. On Friedreich ataksi hastasına vitamin E ve CoQ10 takviyesi yapıldığında kalp ve iskelet kasının biyoenerjisinde ve kalp fonksiyonlarında gelişme olduğu görülmüştür (Hart ve ark 2005). Oral yolla alınan CoQ10'un Parkinson hastalığında ve Friedreich ataksisinde yararlı olduğu gösterilmiştir (Hart ve ark 2005). Migren profilaksisinde CoQ10'un ve riboflavinin yararlı etki gösterdikleri ortaya konulmuştur (Rozen ve ark 2002). 6 ay süreyle CoQ10 takviyesinin seminal plazma ve sperm hücrelerini önemli oranda artırdığı görülmüştür (Balercia ve ark 2002). Maküler dejenerasyon, hipospermi ve migren gibi durumlarda CoQ10'un yararlı etki gösterdiği ortaya konulmuştur (Littarru ve Tiano 2005).

Kaikkonen ve arkadaşlarının (1997) yaptığı bir çalışmada, 2 ay boyunca günde 90 mg⁄kg CoQ10 takviyesinin; VLDL ve LDL konsantrasyonunu iki kattan fazla artırdığı, lipoproteinlerin oksidasyonuna dirençte değişiklik oluşturmadığı bulunmuştur. CoQ10'un oksidatif stresi azalttığı, invivo ortamlarda antioksidatif kapasiteyi artırdığı gözlemlenmiştir (Kaikkonen ve ark 2000). 2 hafta günlük 90 mg CoQ10 alımının plazmadaki TBARS konsantrasyonunu azalttığı görülmüştür (Weber ve ark 1994).

Altı hafta günde 120 mg CoQ10 takviyesinin aerobik performansı etkilemediği, egzersiz testinden sonra alınan kas biopsisinde CoQ10 konsantrasyonunun değişmediği bulunmuştur (Laaksonen ve ark 1995).

CoQ10 takviyesinin sıçanların gastroknemius kaslarında, karaciğer, kalp gibi organlarında egzersize bağlı lipit peroksidasyonunu önlediği bulunmuştur (Faff ve Frankiewicz 1996).

2.5. ALFA LİPOİK ASİT (ALA)

Lipoik asit bir tioldür ve lipit peroksidasyonu engeller, lipoik asit takviyesi antioksidan korumayı artırır ve bazı tedavi edici etkilere sahiptir (Coombes ve ark 2002). ALA hem hayvanlar hem de bitkiler tarafından sentezlenebilir. Alfa lipoik asitin biyosentez yolağı hala tam olarak açıklanamamışsa da, 8 karbonlu bir yağ asidi ve elementer sülfürün mitokondride birleşmesiyle sentezlendiği düşünülmektedir (Packer ve ark 2001). ALA'nın intrasellüler GSH'nin artmasına sebep olduğu ve normal koklear fonksiyon için gerekli olduğu gösterilmiştir (Busse ve ark 1992).

ALA hem yağda hem de suda çözünebilir. ALA, ROSları ortadan kaldıran, endojen

antioksidanların yeniden oluşumunu sağlayan, siklosporin A kullanımıyla oluşan hipertansiyon ve nefrotoksisiteyi önleyen doğal bir antioksidandır (Louhelainen ve ark 2006). Alfa lipoik asitin hem okside formu hem de indirgenmiş formu antioksidan aktivite göstermektedir. ALA, dihidroaskorbik asiti (DHLA) askorbik asite çevirebilir; direkt olarak C vitamininin, indirekt olarak E vitamininin yeniden oluşumunu sağlayabilir (Scholich ve ark 1989).

Araştırmacılar, ALA'nın hücreler arası glutatyon (Busse ve ark 1992) ve koenzim Q10 (Kagan ve ark 1990) seviyelerini artırdığını bulmuşlardır. Sonuçta, ALA'nın diyabetten korunmada, glikoz kontrolünde ve nöropati gibi kronik hiperglisemiye bağlı komplikasyonlardan korunmada etkili olduğu görülmektedir. ALA, güçlü serbest radikal temizleyici, mitokondriyal enzimler için gerekli kofaktördür (Biewenga ve ark 1997).

ALA'nın Klinik Endikasyonları

Diyabet: DHLA, güçlü antioksidan etkinliği sayesinde, pankreastaki Langerhans adacık hücrelerini reaktif oksijen hasarına karşı korumaktadır (Heller ve ark 1997). Tip 2 diyabet hastalarına 1000 mg i.v. ALA verilmesi insülinle stimüle edilmiş glukoz kullanımında % 50 gelişme sağlamıştır (Jacob ve ark 1995). Tip 2 diyabet hastalarına 10 gün günde 500 mg ALA i.v. olarak verildiğinde açlık kan şekeri veya insülin seviyelerinde bir değişim olmaksızın glikoz kullanımında ortalama % 30 artış olduğu bulunmuştur (Jacob ve ark 1996). Nöropati gelişiminde lipit peroksidasyonunun önemli rol oynadığına inanılmaktadır. Bir in-vitro çalışmada (Nickander ve ark 1996) lipoik asidin sinir dokusunda lipit peroksidasyonunu azalttığı bulunmuştur ALA'nın diyabetik nöropati semptomlarını azalttığı gösterilmiştir (Kahler ve ark 1993). Sonuçta, ALA'nın glikoz kontrolünde, diyabetten ve nöropati gibi kronik hiperglisemiye bağlı komplikasyonlardan korunmada etkili olduğu görülmektedir.

Katarakt: Aldoz redüktaz enzimi diyabette katarakt gelişimine neden olan önemli faktörlerden birisidir. ALA'nın sıçan lenslerinde aldoz redüktaz enzimini inhibe ettiği bulunmuştur (Qu ve ark 1996). STZ'yle oluşan diyabetli sıçanlarda lipoik asit takviyesinin, katarakt progresyonunu ve gelişimini geciktirdiği görülmüştür (Kojima M ve ark 2007).

Glokom: Açık açılı glokomu olan 75 hastaya 2 ay günde 75 mg veya 1 ay günde 150 mg ALA verildiğinde, hem glokomun biyokimyasal parametrelerinde hem de görsel fonksiyonlarda en fazla gelişimin günde 150 mg alfa lipoik asit alan grupta olduğu görülmüştür (Filina ve ark

1995).

İskemi-Reperfüzyon Yaraları: Reperfüzyon yaralarından korunmada DHLA'nın etkinliği bir hayvan çalışması ile gösterilmiştir (Scheer ve Zimmer 1995)

Diğer Klinik Endikasyonlar: ALA ve DHLA'nın diğer terapötik kullanımları; radyasyon yaralanmalarından korunmayı, santral sinir sisteminde oksidatif hasarını azaltarak çeşitli nörolojik bozukluklardan korunmayı (Packer ve ark 1995), transkriptaz enziminin inhibisyonu ile HIV virüsünün replikasyonunun engellenmesini (Baur ve ark 1991), sigara kullanımına bağlı gelişebilecek sorunlardan korunmayı ve ağır metal zehirlenmelerinin tedavisini (Packer ve ark 1995) kapsamaktadır.

2.5.1. Alfa Lipoik Asit Takviyesinin Etkileri ve Lipit Peroksidasyonu

Diyabette retinal oksidatif stresin ALA ile önlendiği görülmüştür (Obrosova ve ark 2000). ALA'nın diyabete bağlı kalpteki noradrenalin içeriğinin azalmasını önlerken, diyabete bağlı ileumdaki noradrenalin içeriğinin azalmasını önleyemediği gösterilmiştir (Shotton ve ark 2003).

ALA takviyesi karaciğer ve kandaki glutatyon konsantrasyonunu artırır. Kalp glutatyon S-transferaz aktivitesinin egzersizle azalması ALA takviyesi ile önlenir (Khanna ve ark 1999).

Karnitin ve ALA takviyesinin sıçan beynindeki lipit peroksidasyonunu ve protein karbonil miktarını azalttığı, antioksidan enzim aktivitesini ise artırdığı gösterilmiştir (Muthuswamy ve ark 2006). ALA takviyesi ile sıçanlarda nefrotoksik hasarın azaldığı görülmüştür. Diyabetik sıçanlardaki oksidatif stresi azaltmada beta karoten ve ALA'nın bir arada daha etkili olduğu bulunmuştur (Abbie ve ark 2004).

ALA'nın nekrotik ve apoptotik hücrelerin sayısını azalttığı gözlemlenmiştir (Selvakumar ve ark 2006). Böbrekte artan lipit peroksidasyonu ALA takviyesi ile azalır, ALA; böbrek, karaciğer ve kalpte Cu/Zn SOD aktivitesini azaltır, glutatyon peroksidaz aktivitesini artırır (Şahin ve ark 2006).

ALA takviyesi yaşlı sıçanların beynindeki asetilkolineraz aktivitesini düzenleyici etki gösterir (Arivazhagan ve ark 2006).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hayvan sağlanması

Çalışma protokolü Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulunun 22.12.2006 tarih ve 2006-38 sayılı kararı ile onaylandı. Çalışmamız için Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden ortalama 200 gram ağırlığında 84 erkek Sprague Dawley sıçan temin edildi. Tüm sıçanlar 10 haftalıktı.

3.2. Test öncesi şartlar

Sıçanlar çalışma boyunca iklim kontrollü odalarda, 20±1 derece sıcaklıkta % 45 rölatif nem ve 12/12 saat ışık periyodunda barındırıldı. Sıçanlar polikarbonat malzemeden yapılmış Tip 4 standardında (Tekniplast) kafeslerde ve her kafeste 5 sıçan olacak şekilde barındırıldı. Yem ve su ad-libitum verildi. Yem olarak Purina markalı standart sıçan yemi kullanıldı. Çeşme suyu her gün taze olarak verildi.

3.3. Grupların Oluşturulması ve Kan Örneklerinin Toplanması

STZ (Sigma) pH'ı 4.5 sitrat tamponlu salin içerisinde çözüldü. Oniki sıçan kotrol grubu olarak ayrıldıktan sonra yetmiş iki sıçana tek doz 50 mg/kg i.p. STZ verildi. Bir hafta sonra kan glikoz düzeyleri 300 mg/dl'nin üzerinde olan sıçanlar çalışmaya dahil edildi. Diyabetin etkilerinin tam olarak ortaya çıkabilmesi için 3 hafta beklendikten sonra diyabetli sıçanlar (n=57) randomize olarak 6 gruba ayrıldı. Koenzim Q10 sıçanın 100 g/0.1 ml çözücü bulunacak şekilde çözündü, ALA salin içerisinde çözülünceye kadar NaOH ilave edildi. pH'ı 7.4 oluncaya kadar HCl ilave edildi. Toplam yedi gruba uygulanan işlemler şunlardır.

1. Kontrol grubu (n=12**)**: Hiçbir işlem yapılmadı.

2. Diyabet kontrol grubu (n=11**):** Yalnızca diyabet oluşturuldu, başka herhangi bir işlem yapılmadı.

3. Diyabet egzersiz grubu (n=7**)**: Koşu bandında 20 m/dk hızda 30 dk egzersiz yaptırıldı.

4. Koenzim Q10 grubu (n=10**)**: İki hafta boyunca 10 mg/kg i.p. koenzim Q verildi.

5 Koenzim Q10-egzersiz grubu (n=9**)**: İki hafta i.p. 10 mg/kg koenzim Q10

uygulamasından sonra koşu bandında 20 m/dk hızda 30 dk egzersiz yaptırıldı.

6. α-lipoik asit grubu (n=10**):** İki hafta 100 mg/kg i.p. α-lipoik asit verildi.

7. α-lipoik asit-egzersiz grubu (n=10**)**: İki hafta i.p. 100 mg/kg α-lipoik asit uygulamasından sonra koşu bandında 20 m/dk hızda 30 dk egzersiz yaptırıldı.

Çalışma sonunda 30/3 mg/kg dozunda ketamin ve ksilazin kombinasyonu ile i.m anestezi uygulandı. Anestezi altında sıçanlardan intrakardiyak kan alınarak hipovolemik şok ile ötenazi uygulandı ve servikal dislokasyon yapıldı.

3.4. Kan örneklerinin incelenmesi

Çalışma sonunda sıçanların kalbinden intrakardiyak yoldan 5 cc'ye yakın kan alındı. Kan iki EDTA'lı tüpe eşit olarak bölünerek ve 3000 devirde 10 dakika santrifüje edildi, elde edilen serumlar ependorflara eşit olarak bölüştürüldü. Kapakları kapatılan ependorflar analiz edilinceye kadar -82 ^{o}C'de saklandı.

3.4.1 Kullanılan cihazlar

a. Ultrasonic Homojenizatör

b. Soğutmalı santrifüj: Hettich Universal 30 RF

c. Spektrofotometre : Shimadzu UV - 1601

d. Ayarlanabilir otomatik pipetler

e. Vorteks

f. Benmari

g. Hassas terazi

h. Manyetik karıştırıcı ve manyetik bar

3.4.2. Kullanılan Reaktif ve Çözeltiler

3.4.2.A. MDA reaktifleri

a. % 0,675'lik TBA çözeltisi

b. %10'luk TCA

c. 1,1,3,3-tetramethoxypropane

3.4.2.B. NO reaktifleri

a. Kadmiyum granülleri

b. Glisin-NaOH tamponu (pH 9.7)

c. Sülfanilamid (%1)

d. N-Naphthylethylene diamine (200mg/L)

e. 5 mmol/L $CuSO_4$

f. 0.1 mol/L H_2SO_4 Solüsyonu

g. Standart solüsyonu($NaNO_2$ ve $Na_2B_4O_7$ ile)

h. 75 mmol/L $ZnSO_4$

i. 55 mmol/L NaOH

3.4.2.C. XO reaktifleri

a. Fosfat tamponu (50 mM, pH 7,5)

b. 4 mM xanthine

c. TCA (%100 w / v)

3.4.2.D. SOD reaktifleri

a. 0,3 mmol / L xanthine

b. 0,6 mmol / L EDTA

c. 150 μmol / L NBT

d. 400 mmol / L Na_2CO_3

e. 1 g / L bovine serum albumin

f. 0,8 mmol / L $CuCl_2$

g. 2 M $(NH_4)_2SO_4$

h. 167 U / L xanthine oxidase

i. 150 mM NaCN

3.4.3. Kullanılan Analiz Yöntemleri

3.4.3.1. MDA Ölçümü

MDA seviyeleri tiobarbitürik asit (TBA) reaktivitesi yöntemi kullanılarak ölçüldü (Hammouda ve ark 1995). Yağ asidi peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek sıcak ve alkali ortamda, 532 nm'de maksimum absorbans veren renkli kompleks oluşturur. Oluşan kompleksin okunan absorbansından faydalanılarak MDA değerleri elde edilir.

Numune ve deney tüpleri hazırlandı. Tüplere 2,5 ml % 10'luk (w/v) TCA çözeltisi koyulduktan sonra kör tüpüne 0,5 ml distile su, numune tüpüne ise 0,5 ml numune koyularak vorteksle karıştırıldı. Tüplerin ağzı kapatıldıktan sonra 90 ^{0}C'lik su banyosunda 15 dakika bekletildi. Tüpler soğutulduktan sonra 3000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Supernatanlardan 2 ml alınıp üzerine % 0,675'lik (w/v) TBA çözeltisinden 1 ml eklendi. Tekrar 90 ^{0}C lik su banyosunda 15 dakika bekletildikten sonra tüpler soğutuldu. Her numunenin 532 nm de köre karşı absorbansları okutuldu.

1,1,3,3-tetramethoxypropane'nın değişik konsantrasyonları ile hazırlanan standart grafiğinden faydalanılarak MDA düzeyleri nmol/ ml olarak hesaplandı.

3.4.3.2. XO Ölçümü

XO aktivitesi Prajda ve Weber'in (1975) metoduna göre çalışıldı. Bu metot numunede bulunduğu farz edilen XO'ın ortamdaki ksantinden ürik asit oluşturması esasına dayanır. Oluşan ürik asit miktarı % 100'lük TCA solüsyonu eklenmesi ile sabitlenir.

Her bir numune için ayrı ayrı olacak şekilde numune ve kör tüpleri hazırlandı. Tüm tüplere EDTA'lı fosfat tamponundan 1680 µL ve ksantin solüsyonundan 30 µL pipetlendi. Ardından numune tüplerine 30'ar µL numuneler pipetlendi. 37˚C'de 30 dakika inkübasyonun arkasından numune tüplerindeki reaksiyon 84 µL TCA ilavesi ile durduruldu. Kör tüplerine de önce 30'ar µL numune ve hemen beklenmeden 84 µL TCA pipetlenip vortekslendi. 4000xg'de 20 dakika santrifüj sonu süpernatanların 293 nm dalga boyunda distile suya karşı absorbansları okundu. Böylece 30 dakika içerisinde üretilen ürik asit miktarı belirlendi ve sonuçlar NOD / St OD x standart toplam µM sayısı x 1 / 30 dakika x 20 (dilüsyon faktörü) formülünden faydalanılarak aktivite U/ ml cinsinden ifade edildi.

Ksantin →XO→ ürik asit

3.4.3.3. SOD Ölçümü

SOD aktivite analizi Sun ve arkadaşlarının (1988) metoduna göre gerçekleştirildi. Yöntem ksantin / ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitro blue tetrazoliumu (NBT) indirgenmesi esasına dayanır. Oluşan süperoksit radikalleri (O_2) ortamdaki NBT'yi indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Enzimin olmadığı ortamda bu indirgenme meydana gelip mavi–mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise NBT indirgenmesi olmayıp mavi–mor renk meydana gelmemekte ve enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır.

Kör ve numune tüpleri hazırlandı. Tüm tüplere 1425 µL ASSAY reaktifinin ardından numune tüplerine 50 µL ekstrakt (Etanol fazı) ve kör tüpüne 50 µL distile su pipetlendi. Tüm tüplere 25'er µL XO enzimi ilavesi ile tüpler alt üst edilip 25 ^{0}C'de 20 dakika inkübasyondan sonra hemen tüm tüplere 500'er µL $CuCl_2$ ilavesi ile reaksiyonlar durduruldu. Distile suya karşı körden başlanarak 560 nm'de absorbanslar okundu ve sonuçlar U/ml olarak verildi.

Enzimin % inhibisyonu = ($Abs_{kör}$ – Abs_{num}) / ($Abs_{kör}$ x 100) Bir SOD ünitesi; NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir. % 50 inhibisyonu gerçekleştiren enzim aktivitesi U olarak hesaplandıktan sonra U/ml değerine çevrilerek verilir.

%50 inhibisyon = (% İnhibisyon / 50) x 1 / F = U / mL

3.4.3.4. NO Ölçümü

Vücutta endojen olarak üretilen nitrik oksitin doku ve vücut sıvılarındaki konsantrasyonu, pek çok çalışmada nitrit ve nitrat olarak belirtilmektedir (Lit NO_1). Çünkü nitrik oksit, üretildiği bölgede saniyeler içinde okside olarak önce nitrite (NO_2^-) daha sonra da nitrata (NO_3^-) dönüşebilmektedir. Bununla beraber proteinden zengin homojenat, serum ve plazma gibi solüsyonlarda spesifik olmayan reaksiyonlar olabileceğinden, Griess reaksiyonu ile gerçekleştirilecek analizlerde bazı sıkıntılar yaşanmaktadır. Bu açıdan biz nonspesifik reaksiyonların önüne geçebilmek için numunelerin önce deproteinize edilmesini sağladıktan sonra nitrit ve nitrat konsantrasyonlarını ölçtük. Zor olmakla birlikte *in vivo* olarak direkt NO ölçümü de mümkündür. Bu amaçla NO propları geliştirilmiştir ama bunların *in vitro*/*ex vivo* şartlarda çalışılması mümkün değildir (Lit NO_2).

Dokuda nitrit ve nitrat miktarı deproteinizasyondan sonra Griess reaksiyonu ile belirlenir (Lit NO_3). Total nitrit (nitrit + nitrat) konsantrasyonu modifiye kadmiyum redüksiyon metodu ile değerlendirildi. pH 9.7 glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmiyum granüllerinin deproteinize numune süpernatantı ile 90 dakikalık inkübasyonu sonunda nitrat redüksiyonu sağlandı. Üretilen nitritin; sülfanilamid ve buna bağlı N-naphthylethylene diaminle (NNDA) diazotizasyonuyla reaksiyonu sonucunda oluşan pembe rengin 545 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu ve sonuçlar mmol/L olarak verildi.

3.5. İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistik analizi bilgisayarda SPSS 15.0 for Windows programı ile yapıldı. Bulgular ortalama±standart sapma (SS) şeklinde verildi. Grup verilerinin istatistiki analizi tekrarlı ANOVA ölçümleri ile yapıldı. Grup verileri arasındaki farklar faktoriyel ANOVA kullanılarak elde edildi. P değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. CoQ10 ve ALA kullanımıyla ROS aktivasyonunda (MDA, NO) ve antioksidan enzimlerde (SOD) meydana gelen değişiklikler

4.1.1. Malondialdehit (MDA)

Egzersiz yapmayan diyabetli grupta MDA düzeyi kontrol grubundan farklı değildir (Tablo 1). Egzersiz yaptırılan diyabetli grupta MDA değeri kontrol grubuna ve egzersiz yapmayan diyabetli gruba göre yüksekti. Buna karşılık, CoQ10 ve ALA grupları kendi içlerinde egzersiz yapan-yapmayan şeklinde karşılaştırıldığında, fark olmadığı bulundu. CoQ10 ve ALA verilen gruplarla bu maddelerin verilmediği egzersiz yapmayan diyabetli grup arasında MDA düzeyi açısından fark bulunamadı. CoQ10 verilen grupların MDA değerleri kontrol grubundan yüksekti. ALA verilip egzersiz yaptırılan grupta MDA düzeyi herhangi bir madde verilmeden egzersiz yaptırılan gruba (DM-Ex) göre düşüktü (Tablo 1).

4.1.2. Nitrik Oksit (NO)

Egzersiz yapan diyabetli grupta NO düzeyi egzersiz yapmayan gruba göre daha yüksek bulundu. CoQ10 ve ALA takviyesi verilen egzersiz gruplarındaki NO düzeyleri, egzersiz yapan ve bu antioksidanların verilmediği diyabetli gruptaki NO düzeyinden daha düşüktü (Tablo 1).

4.1.3. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Egzersiz yapan ve CoQ10 takviyesi yapılan gruptaki SOD düzeyi, egzersiz yapan ve ALA takviyesi yapılan gruba göre daha yüksek bulundu (Tablo 1).

4.1.4. Ksantin oksidaz (XO)

XO değerleri açısından gruplar arasında herhangi bir fark bulunmadı (Tablo 1).

Tablo 1: Grupların malondialdehit, nitrik oksit, süperoksit dismutaz, ksantin oksidaz değerleri (Ort±SS)

	MDA	**NO**	**SOD**	**XO**
K (n= 12)	0.72±0.31**	26.90±21.61*	7.32±1.97	0.23±0.14
DM-K (n= 11)	0.96±0.57*	32.13±12.03*	5.54±2.99	0.16±0.14
DM-Ex (n= 7)	2.03±0.20	70.90±26.31	12.78±8.03	0.19±0.15
Q10-K (n= 10)	1.64±0.78!	47.34±21.33	7.92±2.58	0.27±0.24
Q10-Ex (n= 9)	1.44±0.77!	34.91±15.40*	11.11±5.36	0.14±0.10
ALA-K (n= 10)	1.21±0.60	33.00±18.92*	10.90±11.20	0.21±0.23
ALA-Ex (n= 10)	1.12±0.51*	28.02±14.20*	5.90±2.75&	0.19±0.11
ANOVA P	0.000	0.000	0.052	0.738

*: DM-Ex grubundan P<0.05 düzeyinde farklı
**: DM-Ex grubundan P<0.01 düzeyinde farklı
!: K grubundan P<0.05 düzeyinde farklı
&: Q10-Ex grubundan P<0.05 düzeyinde farklı

DM-K: Diyabet Kontrol grubu

DM-Ex: Diyabet Egzersiz grubu

K: Kontrol grubu

Q10-K: Koenzim Q10 grubu

Q10-Ex: Koenzim Q10 Egzersiz grubu

ALA-K: ALA Kontrol grubu

ALA-Ex: ALA Egzersiz grubu

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tezin amacı, 30 dakika süreli egzersizle oluşan lipit peroksidasyonu ve antioksidan savunmadaki değişiklikler üzerine CoQ10'un ve ALA'nın etkisinin belirlenmesiydi.

Çalışmanın başlıca bulgusu, diyabetli sıçanlara 30 dakika koşu egzersizi yaptırıldığında CoQ10'nun ve ALA'nın lipit peroksidasyonu ve antioksidan savunma üzerine etkili olduğudur.

5.1. CoQ10'un 30 dakika süreli aerobik egzersizle oksidatif stres ve antioksidan savunmada oluşan değişiklikler üzerine etkileri

Kaikkonen ve ark (2000) CoQ10'un oksidatif stresi azalttığını, in vivo ortamlarda antioksidan kapasiteyi artırdığını göstermişlerdir. CoQ10 desteğinin lipit peroksidasyonunu azalttığı ve plazma antioksidan kapasitesini artırdığı görülmüştür (Mohr ve ark 1992). E vitamini ve CoQ10 takviyesinin yoğun egzersizin neden olduğu kas hasarını ve lipid peroksidasyonunu etkilemediği, egzersiz sırasındaki plazma askorbat, CoQ10, glutatyon ve serum ürik asit konsantrasyonlarını artırdığı gösterilmiştir (Kaikkonen ve ark 2002). Bu çalışmada, Kaikkonen ve ark (2002)'nin çalışmasından farklı olarak, CoQ10'un MDA'yı artırdığını (Tablo 1) dolayısıyla oksidatif stres üzerine etkili olduğunu bulduk.

5.2. ALA'nın 30 dakika süreli aerobik egzersizle oksidatif stres ve antioksidan savunmada oluşan değişiklikler üzerine etkileri

ALA böbrek, karaciğer ve kalpte Cu/Zn SOD aktivitesini azaltırken, glutatyon peroksidaz aktivitesini artırır (Şahin ve ark 2006). ALA takviyesi kalbi, karaciğeri ve gastroknemius kasını lipit peroksidasyonuna karşı korur (Khanna ve ark 1999). Karnitin ve ALA takviyesinin sıçan beynindeki lipit peroksidasyonunu ve protein karbonil miktarını azalttığı, antioksidan enzim aktivitesini artırdığı gösterilmiştir (Muthuswamy ve ark 2006). Beta karoten ve ALA'nın diabetik sıçanlarda oksidatif stresi azaltmada daha etkili olduğu bulunmuştur (Abbie ve ark 2004).

Oksala ve ark (2006) sıçanlarda lipoik asit takviyesinin egzersizin neden olduğu oksidatif strese karşı antioksidan korumayı deneysel diyabetin varlığında veya yokluğunda artırdığını göstermişlerdir. Çalışmamızda, ALA takviyesinin egzersiz yaptırılan grupta SOD'un düzeyini belirgin derecede azalttığı görülmüştür.

ALA verilen ve egzersiz yaptırılan gruptaki MDA düzeyinin DM'lu egzersiz yaptırılan

gruptakinden düşük olduğu görülmüştür. Dolayısıyla diyabetli sıçanlarda ALA takviyesi egzersiz grubunda lipit peroksidasyonunu azaltarak oksidatif strese karşı güçlü koruma göstermiştir.

SONUÇ

Diyabetli sıçanlarda egzersizle oluşan lipit peroksidasyonunu ALA desteğinin azalttığı, NO artışını hem ALA hem de CoQ10 desteğinin engellediği sonuçlarına varıldı.

6. ÖZET

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Fizyoloji (TIP) Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi/ Konya-2008
Rahime Çelik TAV

Danışman
Doç.Dr. Nilsel OKUDAN

İkinci Danışman
Prof.Dr. Hakkı GÖKBEL

Diyabetli sıçanlarda koenzim Q10 ve alfa lipoik asit desteklerinin egzersizle oluşan lipit peroksidasyonu ve antioksidan durum üzerine etkileri

Çalışmanın amacı, diyabetli sıçanlarda koenzim Q10 (CoQ10) ve alfa lipoik asit (ALA) desteklerinin egzersizle oluşan lipit peroksidasyonu ve antioksidan durum üzerine etkilerinin belirlenmesiydi.

On iki sıçan kontrol grubu olarak ayrıldı. 72 sıçana i.p 50 mg/kg tek doz streptozotosin verildi. Bir hafta sonra kan glikoz düzeyleri ölçülerek kan glikozu 300 mg/dl'nin üzerinde olan sıçanlar çalışmaya alındı. Üç hafta beklendikten sonra diyabetli 57 sıçan 6 gruba ayrıldı: Diyabet kontrol grubu, CoQ10 grubu, ALA grubu, diyabet egzersiz grubu, CoQ10 egzersiz grubu, ALA egzersiz grubu. İki hafta süreyle ALA ve CoQ10 grublarına sırasıyla 10 ve 100 mg/kg i.p ALA ve CoQ10 verildi. Egzersiz gruplarına ayrılan sıçanlara 15. gün egzersiz yaptırıldı. Anestezi ile sıçanlardan intrakardiyak kan alınarak hipovolemik şokla ötenazi uygulandı. Alınan kan örneklerinde malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), ksantin oksidan ve nitrik oksit (NO) düzeyleri belirlendi.

Egzersiz yapan ALA grubunun MDA düzeyi egzersiz yapan diyabetli gruptan düşüktü. CoQ10 ve ALA takviyesi alan egzersiz gruplarında NO düzeyi, bu antioksidanların egzersiz yapan verilmediği diyabetli gruptaki NO düzeyinden düşüktü. İki egzersiz grubundan CoQ10 takviyesi verilenlerde SOD düzeyi, ALA takviyesi verilenlere göre daha yüksekti.

Diyabetli sıçanlarda egzersizle oluşan lipit peroksidasyonunu ALA desteğinin azalttığı, nitrik oksit artışını hem ALA hem de CoQ10 desteğinin engellediği sonuçlarına varıldı

7. SUMMARY

Effects of coenzyme Q10 and α- lipoic acid supplementation on exercise-induced lipid peroxidation and antioxidant status of diabetic rats

The aim of the study was to determine the effects of coenzyme Q10 (CoQ10) and alpha lipoic acid (ALA) on the lipid peroxidation and antioxidant status.

Twelve rats were included in the control group. 72 rats were given a single dose of 50 mg/kg i.p. streptozotocin. Blood glucose levels were measured after one week and the rats whose blood glucose levels were over 300 mg/dl were included in the study. After 3 weeks 57 diabetic rats were divided into six groups; diabetic control group, CoQ10 group, ALA group, diabetic exercise group, CoQ10 exercise group, ALA exercise group. CoQ10 and ALA groups received 10 and 100 mg/kg i.p. ALA and CoQ10 for two weeks, respectively. The rats in the exercise group were exposed to exercise at 15^{th} day. Intracardiac blood was taken under anesthesia and the rats were underwent hypovolemic euthanasia. MDA, SOD, XO, NO levels were determined in the blood samples.

It was observed that ALA exercise group had lower level of MDA than diabetic exercise group. NO levels in the exercise groups supplemented with CoQ10 and ALA were lower than in the diabetic groups performed exercise but not received these supplementations. SOD level was higher in two exercise groups supplemented with CoQ10 than in the group supplemented with ALA.

We concluded that exercise induced lipid peroxidation is decreased by ALA supplementation and NO increase is attenuated by both ALA and CoQ10 supplementation in diabetic rats.

8. KAYNAKLAR

Aksoy N, Vural H, Sabuncu T, Arslan O and Aksoy S (2005) *Beneficial effects of vitamins C and E againts oxidative stress in diabetic rats,* Nut Res, 25, 625-630.

Andersen CB, Henriksen JE, Hother-Nielsen O, Vaag A, Mortensen SA and Beck-Nielsen H (1997) *The effect of coenzyme Q10 on blood glucose and insülin requirement in patients with insülin dependent diabetes mellitus,* Molec Aspect Med, 18, 307-309.

Arivazhagan P, **Ayusawa D and Panneerselvam C (2006)** *Protective efficacy of alpha lipoic acid on acetyl cholinesterase activity in aged rat brain regions,* Rejuvenation Research, 2, 198-201.

Balercia G, **Arnaldi G**, **Fazioli F**, **Serresi M**, **Alleva R**, **Mancini A et al (2002)** *Coenzyme Q10 levels in idiopathic and varicocele-associated asthenozoespermia,* Andrologia, 34, 107-111.

Baur A, **Harrer T**, **Peukert M**, **Jahn G**, **Kalden JR and Fleckenstein B (1991)** *Alpha-lipoic acid is an effective inhibitor of human immuno-deficiency virus (HIV-1) replication,* Klin Wochenschr, 69, 722-724.

Berryman AM, **Maritim AC**, **Sanders RA and Watkins JB 3rd**. **(2004)** *Influence of treatment of diabetic rats with combinations of pycnogenol, beta -carotene and alpha lipoic asid on parameters of oxidative stress,* J Biochem Mol Toxicol, 18, 345-352.

Bhatia S, Shukla R, Venkata MS, Kaur Gambhir J and Madhava PK (2003) *Antioxidants status, lipid peroxidation and nitric oxide end products in patients of type 2 diabetes mellitus with nephropathy,* Clin Biochem, 36, 557-562.

Biewenga GP, Haenen GI and Bast A (1997) *The pharmacology of the antioxidant lipoic acid,* Gen Pharmacol, 29, 315-331.

Bloomer RJ and Goldfarb AH (2004) *Anaerobic exercise and oxidative stress: a review,* Can J Appl Physiol, 29, 245-263

Bloomer RJ, Goldfarb AH, Wideman L, McKenzie MJ and Consitt LA (2005) *Effects of*

acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress, J Strength Cond Res, 19, 276-285.

Bonakdar RA and Guarneri E (2005) *Coenzyme Q10,* Am Fam Physician, 72, 1065-1070.

Busse E, **Zimmer G**, **Schopohl B and Kornhuber B (1992)** *Influence of alpha-lipoic acid on intracellular glutathione in vitro and in vivo,* Arzneimittelforschung, 42, 829-831.

Coombes JS, Powers SK, Rowell B, Hamilton KL, Dodd SL, Shanely RA et al (2001) *Effects of vitamin E and alpha-lipoic acid on skeletal muscle contractile properties,* J Appl Physiol, 90, 1424-1430.

Coombes JS, **Rowell B**, **Dodd SL**, **Demirel HA**, **Naito H**, **Shanely RA et al (2002)** *Effects of vitamin E deficiency on fatigue and muscle contractile properties,* Eur J Appl Physiol 87, 272-277.

Coşkun O, Ocakci A, Bayraktaroğlu T and Kanter M (2004) *Exercise training prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas,* Tohoku J Exp Med, 203, 145-154.

Crane FL (2001) *Biochemical functions coenzyme Q10,* J Am Coll Nutr, 20, 591- 598.

Cutler RG, Plummer J, Chowdhury K and Heward C (2005) *Oxidative stress profiling: Part II. Theory, Technology, and Practice,* Ann NY Acad Sci, 1055, 136-158.

Çay M, Naziroğlu M, Şimşek H, Aydilek N, Aksakal M and Demirci M (2001) *Effects of intraperationeally administered vitamin C on antioxidative defense mechanism in rats with diabetes induced by streptozotocin,* Res Exp Med, 200, 205-213.

Dekkers JC, Van Doornen LJ and Kemper HC (1996) *The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise – induced muscle damage,* Sports Med, 21, 213-238.

Donovan KL, Davies M, Coles GA and Williams JD (1994) *Relative roles of elastase and reactive oxygen species in the degradation of human glomerular basement membrane by intact human neutrophils,* Kidney Int, 45, 1555-1556.

Eriksson JG, Forsen TJ, Mortensen SA and Rohde M (1999) *The effect of coenzyme Q10 administration on metabolic control in patients with type 2 diabetes mellitus,* Biofactors, 9, 315-318.

Faff J and Frankiewicz JA (1996) *Effect of ubiquinone on exercise-induced lipid peroxidation,* 75, 413-417.

Fehrenbach E and Northoff H (2001) *Free radical, exercise, apoptosis, and heat shock proteins,* Exerc Immunol Rev, 7, 66-89.

Feillet-Coudray C, Rock E, Coudray C, Grzelkowska K, Azais-Braesco V, Dardevet D et al (1999) *Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes,* Clin Chim Acta, 284, 31-43.

Filina AA, Davydova NG, Endrikhovskii SN and Shamshinova AM (1995) *Lipoic acid as a means of metabolic therapy of open-angle glaucoma,* Vestn Oftalmol, 111, 6-8.

Finaud J, Lac G and Filaire E (2006) *Oxidative stress: Relationship with exercise and training,* Sports Med, 36, 327-358.

Folkers K, Vadhanavikit S and Mortensen SA (1985) *Biochemical rationale and myocardial tissue data on the effective therapy of cardiomyopathy with conzyme Q10,* Proc Natl Acad Sci, 82, 901- 904.

Golden TR, Hinerfeld DA and Melov S (2002) *Oxidative stress and aging: beyond correlation,* Aging Cell 1, 117-123.

Greenberg S and Frishman H (1990) *Co-enzyme Q10:a new drug for cardiovascular disease,* J Clin Pharmacol, 30, 596- 608.

Gul M, Laaksonen DE, Atalay M, Vider L and Hanninen O (2002) *Effects of endurance training on tissue glutathione homeostasis and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats,* Scand J Med Sci Sports, 12, 163-170.

Halliwell B and Gutteridge JMC (2000) *Free Radicals in Biology and Medicine,* Oxford

University Press, New York.

Hammouda A el-R, Khalil MM and Salem A (1995) *Lipid peroxidation products in pleural fluid for seperation of transudates and exudates.* Clin Chem, 41, 1314-1315.

Hart PE, Lodi R, Rajagopalan B, Bradley JL, Crilley JG, Turner C et al (2005) *Antioxidant treatment of patients with Frederick ataxia: four-year follow-up,* Arch Neurol, 62, 621-626.

Heller B, Burkhart V, Lampeter E and Kolb H (1997) *Antioxidant therapy for the prevention of type 1 diabetes,* Adv Pharm 38, 629-638.

Henriksen JE, Andersen CB, Hother-Nielsen O, Vaag A, Mortensen SA and Beck-Nielsen H (1999) *Impact of ubiquinone (coenzyme Q_{10}) treatment on glycaemic control, insulin requirement and well-being in patients with Type 1 diabetes mellitus,* Diab Med, 16, 312-318.

Ilhan N, Kamanli A, Ozmerdivenli R and Ilhan N (2004) *Variable effects of exercise intensity on reduced glutathione, thiobarbituric acid reactive substance levels, and glucose concentration,* Arch Med Res, 35, 294-300.

Ishrat T, **Khan MB**, **Hoda MN**, **Yousuf S**, **Ahmad M**, **Ansari MA et al (2006)** *Co-enzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats,* BehavBrain Res, 171, 9-16.

Jacob S, **Henriksen EJ**, **Schiemann AL**, **Simon I**, **Clancy DE**, **Tritschler HJ et al (1995)** *Enhancement of glucose disposal in patients with type 2 diabetes by alpha- lipoic acid,* Arzneimittelforschung, 45, 872-874.

Jacob S, **Henriksen EJ**, **Tritschler HJ**, **Augustin HJ and Dietze GJ (1996)** *Improvement of insulin-stimulated glucose-disposal in type 2 diabetes after repeated parenteral administration of thioctic acid,* Exp Clin Endocrinol Diabetes, 104, 284-288.

Jenkins RR (1988) *Free radical chemistry. Relationship to exercise,* Sport Med, 5, 156-170.

Ji LL (1993) *Antioxidant enzyme response to exercise and aging.* Med Sci Sports Exerc, 25, 225-231.

Judy WV, Stogsdill WW and Folkers K (1993) *Myocardial preservation by therapy with conzyme Q10 during heart surgery.* Clin Investig 71, 155- 61.

Kagan V, Serbinova E and Packer L (1990) *Antioxidant effects of ubiquinones in microsomes and mitochondria are mediated by tocopherol recycling,* Biochem Biophys Res Comm 169, 851-857.

Kahler W, Kuklinski B, Ruhlmann C and Plotz C (1993) *Diabetes mellitus-a free radical-associated disease. Results of adjuvant antioxidant supplementation,* Z Gesamte Inn Med 48, 223- 232.

Kaikkonen J, Nyyssönen K, Porkkala-Sarataho E, Poulsen HE, Metsa-Ketela T, Hayn M et al (1997) *Effect of oral coenzyme Q10 supplementation on the oxidation resistance of human VLDL + LDL fraction: absorption and antioxidative properties of oil and granule-based preparations,* Free Radic. Biol Med, 22, 1195- 1202.

Kaikkonen J, Nyssönen K, and Salonen JT (1999), *Measurement and stability of plasma reduced, oxidized and total coenzyme Q10 in humans,* Scand J Clin Lab İnvest, 59, 1- 10.

Kaikkonen J, Nyysönen K, Tomasi A, Lannone A, Tuomainen TP, Porkkala E et al (2000) *Antioxidative efficacy of parallel and combinend supplementation with coenzyme Q10 and d-αtocopherol inmildly hypercholesterolemic subject: A randomized placebo-controlled clinical study,* Free Rad Res 33, 329- 340.

Kaikkonen J, Tomi-Pekka Tuomaiinen, Kristina Nyssönen and Jukkat Salonen (2002) *Coenzyme Q10: absorption, Antioxidative Properties Determinants, and Plasma Levels,* Free Radic Res, 36, 389-397.

Kedziora- Kornatowska KZ, Luciak M and Paszkowski J (2000) *Lipid proxidation and activities of antioxidant enzymes in the diabetic kidney: effect of treatment with angiotensin convertase inhibitors,* IUBMB Life, 49, 303-307.

Khanna S, Atalay M, David E, Laaksonen DE, Gül M, Roy S et al (1999) *Alpha-lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise,* J Appl Physiol, 86, 1191-1196.

Kishi T, Kishi H, Watanabe T and Folkers K (1976) *Bioenergetics in clinical medicine. XI. Studies on coenzyme Q and diabetes mellitus,* J Med, 7, 307-321.

Kojima M, **Sun L**, **Hata I**, **Sakamoto Y**, **Sasaki H and Sasaki K (2007)** *Efficacy of α-Lipoic Acid Against Diabetic Cataract in Rat,* Jpn J Ophthalmol, 51, 10-13.

Kucharska I, Gvozdjakova A, Mizera S, Braunova Z and Schreinerova Z (1998) *Coenzyme Q depletion in rejection episodes in patient after heart transplantation First Conference of Int CoQ* Ass Boston 61.

Kurowska EM, Dresser G, Deutsch L, Bassoo E and Freeman DJ (2003) *Relative bioavailability and antioxidant potential of two coenzyme Q10 preparations,* Ann Nutr Metab, 47, 16-21.

Kwong LK, Kamzalov S, Rebrinn I, Baynea C, Jana CK, Morris P, et al (2002) *Effect of conzyme Q10 administartion on its tissue concentration, mitochondrial oxidant generation and oxidative stress in rat,* Free Radic Biol Med, 33, 627- 638.

Laakso M (2001) *Cardiovascular disease in type 2 diabetes challenge for treatment and prevention,* J Intern Med, 249, 225- 235.

Laaksonen R, Fogelholm M, Himberg JJ Laakso J and Salorinne Y (1995) *Ubiquinone supplementation and exercise capacity in trained young and older men,* Eur J Appl Physiol Occup Physiol, 72, 95- 100.

Levine RL (2002) *Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging and disease,* Free Radic Biol Med, 32, 790- 796.

Liu J, Yeo HC, Overvik-Douki E, Hagen T, Doniger SJ, Chyu DW et al (2000) *Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants,* J Appl Physiol, 89, 21-28.

Linnane AW, Zhang C, Yarovaya N, Kopsidas G, Kovalenko S, Papakostopoulos P et al (2002) *Human aging and global function of coenzyme Q10,* Ann NY Acad Sci, 959, 396- 411.

Littarru GP and Tiano L (2005) *Clinical aspects of coenzyme Q10: an update,* Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 8, 641-646.

Louhelainen M, Merasto S, Finckenberg P, Lapatto R, Cheng ZJ and Mervaala EM (2006) *Lipoic acid supplementation prevents cyclosporine -induced hypertension and nephrotoxicity in spontaneously hypertensive rats,* J Hypertens, 24, 947-956.

Malm C (2001) *Exercise-induced muscle damage and inflammation: fact or fiction,* Acta Physiol Scand, 171, 233- 239.

Mastaloudis A, Morrow JD, Hopkins DW, Devaraj S and Traber MG (2004) *Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners,* Free Radic Biol Med, 36, 1329-1341.

Memişoğulları R, Taysi S, Bakan E and Capoğlu I (2003) *Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus,* Cell Biochem Funct, 21, 291-296.

Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S et al (2001) *Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise,* Eur J Appl Physiol, 84, 1-6.

Mohr D, Bowry VW and Stocker R (1992) *Dietary supplementation with coenzyme Q10 results in increased levels of ubiquinol- 10 within circulating lipoporteins and increased resistance of human low-density, lipoprotein to the initiation of lipid peroxidation,* Biochim Biophys Acta, 1126, 247- 254.

Morel DW, Hessler JR and Chisolm GM (1983) *Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid,* J Lipid Res, 24, 1070-1076.

Mortensen SA (1993) *Perspectives on therapy of cardiovascular diseases with conzyme Q10 (ubiquinone*), Clin Invest, 71, 16-23.

Mortensen SA (2003) *Owerview on coenzyme Q10 as adjunctive therapy in chronic heart failure,* BioFactors, 18, 79-89.

Mortensen SA (2005) *Symptomatic effects of coenzym Q10/ in heart failure: Q-SYMBIO stdy status. Prensented at the 4 th conference of the international CoQ10 Association,* Los Angeles, California, 57-58.

Muthuswamy AD, Vedagiri K, Ganesan M and Chinnakannu P (2006) *Oxidative stress-mediated macromolecular damage and dwindle in antioxidant status in aged rat brain regions: Role of L-carnitine and DL- α-Lipoic Acid,* Clinica Chim Acta, 368, 84-92.

Naziroğlu M (2003) *Enhanced testicular antioxidant capacity in streptozotocin-induced diabetic rats: protective role of vitamins C and E and selenium,* Biol Trace Elem Res, 94, 61-72.

Naziroğlu M and Butterworth PJ (2005) *Protective effects of moderate exercise with dietary vitamin C and E on blood antioxidative defense mechanism in rats with streptozotocin-induced diabetes,* Can J Appl Physiol, 30, 172-185.

Nickander KK, McPhee BR, Low PA and Tritschler H (1996) *Alpha-lipoic acid: antioxidant potency against lipid peroxidation of neural tissues in vitro and implications for diabetic neuropathy,* Free Radic Biol Med, 21, 631-639.

Obrosova IG, Fathallah L and Greene DA (2000) *Early changes in lipid peroxidation and antioxidative defense in diabetic rat retina: effect of DL- alpha -lipoic acid,* Eur JPharm, 398, 139-146.

Oksala NK, Laaksonen DE, Lappalainen J, Khanna S, Nakao C, Hanninen O et al (2006) *Heat shock protein 60 response to exercise in diabetes: effects of alphalipoic acid supplementation,* J Diabetes Complications, 20, 257-261.

Özkaya YG, Agar A, Yargicoğlu P, Hacioğlu G, Sarikcioğlu B, Özen SI et al (2002) *The effect of exercise on brain antio treatment of patients with Frederic's ataxia: Four-year follow-up,* Arch Neurol, 62, 621-626.

Packer L, Kraemer K and Rimbach G (2001) *Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications,* Nutrition, 17, 888-895.

Prajda N and Weber G (1975) *Malignant transformation-linked imbalance: decreased XO activity in hepatomas, FEBS Lett*, 59: 245-249.

Powers SK, Criswell D, Lawler J, Ji LL, Martin D, Herb RA et al (1994) *Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle,* Am J Physiol 266, 375- 380.

Qu P, Nourozz-Zadeh J, Tritschler HJ and Wolff S (1996) *Activation of aldose reductase in rat lens and metal-ion chelation by aldose reductase inhibitors and lipoic acid,* Free Radic Res, 25, 337- 346.

Quindry JC, Stone WL, King J and Broeder CE (2003) *The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress,* Med Sci Sports Exerc, 35, 1139-1145.

Radak Z, Taylor AW, Sasvari M, Ohno H, Horkay B, Furesz J et al (2001) *Telomerase activity is not altered by regular strenuous exercise in skeletal muscle or by sarcoma in liver of rats,* Redox Rep, 6, 99-103.

Rahimi R, Nikfar S, Larijani B and Abdollahi M (2005) *A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications,* Biomed Pharmacother, 59, 365- 373.

Rauscher FM, Ruth A Sanders, and Watkins III JB (2001) *Effects of CoenzymeQ10 treatment on antioxidant pathways in normal and streptozotocin-induced diabetic rats,* J Biochem Mol Toxicol, 15, 41-46.

Rimbach G, **Höhler D**, **Fischer A**, **Roy S**, **Virgili F**, **Pallauf J et al (1999)** *Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems,* Arch Tierernahr, 52, 203-222.

Rozen TD, Oshinsky ML, Gebeline CA, Bradley KC, Young WB, Shecter AL et al. (2002) *Open label trial of coenzyme Q10 as a migraine preventive,* Cephalalgia, 22, 137-141.

Ruiz C, Alegria A, Barbera R, Farre R and Lagarda MJ (1999) *Lipid peroxidation and*

antioxidant enzyme activities in patients with type I diabetes mellitus, Scand J Clin Lab Invest, 59, 99-105.

Salminen A, Kainulainen H and Vihko V (1997) *Endurance training and antioxidants of lung,* Experientia, 40, 822-823.

Santini SA, Marra G, Giardina B, Cotroneo P, Mordente A, Martorana GE et al (1997) *Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM,* Diabetes, 46, 1853- 1858.

Selvakumar E, Prahalathan C, Varalakshmi P, Kumarasamy P and Saravanan R (2006) *Modification of cyclophosphamide-induced clastogenesis and apoptosis in rats by α-lipoic acid,* Mutat Res, 606, 85- 91.

Sen CK (2001) *Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: introduction,* Med Sci Sports Exerc, 33, 368-370.

Sen CK, Marin E, Kretzcchmar M and Hanninen O (1992) *Exercise-induced oxidative stress; glutathione supplementation and deficiency,* J Appl Physiol, 77, 2177-2187.

Scheer B and Zimmer G (1995) *Dihydrolipoic acid prevents hypoxic/reoxygenation and peroxidative damage in rat mitochondria,* Arch Biochem Biophys, 302, 385-390.

Scholich H, Murphy ME and Sies H (1989) *Antioxidant activity of dihydrolipoate against microsomal lipid peroxidation and its dependence on alpha-tocopherol*, Biochem Biophys Acta 1001, 256-261.

Scott JA and King GL (2004) *Oxidative stress and antioxidant treatment in diabetes,* Ann NY Acad Sci, 1031, 204- 213.

Shotton HR, Clarke S and Lincoln J (2003) *The effectiveness of treatments of diabetic autonomic neuropathy is not the -same in autonomic nerves supplying different organs,* Diabetes, 52, 157-164.

Sivaprasad R, **Nagaraj M and Varalakshmi P (2002)** *Lipoic acid in combination with a*

chelator ameliorates lead-induced peroxidative damages in rat kidney, Arch Toxicol, 76, 437-441.

Sun Y, Oberley LW and Li Y (1988) *A simple method for clinical assay of superoxide dismutase*, Clin Chem, 34, 497–500.

Somani SM, Frank S and Rybak LP (1995) *Responses of antioxidant system to acute and trained exercise in rat heart subcelludant system to acute and trained exercise in rat heart subcellular fractions,* Pharmacol Biochem Behav, 51, 627- 634.

Svensson M, Malm C, Tonkonogi M, Ekblom M, Sjodin B and Sahlin K (1999) *Effect of Q10 supplementation on tissue Q10 levels and a adenine nucleotide catabolism during high-intensity exercise,* Int J Sport Nutr, 9, 166-180.

Şahin M, Sağdıç G, Elmas O, Akpınar D, Derin N, Aslan M et al (2006) *Effect of chronic restraint stress and alpha-lipoic acid on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in rat peripheral organs,* 54, 247- 252.

Tavazzi B, Di Pierro P, Amorini AM et al (2000) *Energy metabolism and lipid per oxidation of human erythrocytes as a function of increased oxidative stress,* Eur J Biochem 267, 684- 689.

Thirunavukkarasu V, Balakrishnan SD, Ravichandran MK and Anuradha CV (2003) *Influence of 6-week exercise training on erythrocyte and liver antioxidant defense in hyperinsulinemic rats,* Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 135, 31-37.

Turk HM, Sevinc A, Camci C, Cigli A, Büyükberber S, Savli H et al (2002) *Plasma lipid proxidation products and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus,* Acta Diabetol, 39, 117-122.

Turunen M, Olsson J and Dallner G (2004) *Metabolism and function of coenzyme Q,* Biochim Biophys Acta, 1660, 171-199.

Umegaki K, Daohua P, Sugisawa A, Kimura M and Higuchi M (2000) *Influence of one bout of vigorous exercise on ascorbic acid in plasma and oxidative damage to DNA in blood*

cells and muscle in untrained rats, J Nutr Biochem, 11, 401-407.

Urso ML and Clarkson PM (2003) *Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation,* Toxicol, 189, 41-54.

Vasankari TJ, **Kujala UM**, **Vasankari TM**, **Vuorimaa T and Ahotupa M (1997)** *Effects of acute prolonged exercise on serum and LDL oxidation and antioxidant defence,* Free Radic Biol Med, 3, 509-513.

Viguie CA, Frei B, Shigenage MK, Ames BN, Packer L and Brooks GA (1993) *Antioxidant status and indexes of oxidative stress during consecutive days of exercise,* J Appl Physiol, 75, 566-572.

Villa-Caballero L, Nava-Ocampo AA, Frati-Munari A and Ponce-Monter H (2000) *Oxidative stress, acute and regular exercise: Are they really harmful in the diabetic patient?* Med Hypotheses, 55, 43-46.

Wallace SS (2002) *Biological consequences of free radical- damaged DNA bases,* Free Radic Biol Med 33, 1- 14

Weber C, Jakobse TS, Mortensen SA, Poulsen F and Holmer FG (1994) *Antioxidative effects of dietary Coenzyme Q10 in human blood plasma,* Int J Vitam Nutr, Res, 64, 311 -315.

Willems D, Dorchy H and Dufrasne D (1998) *Serum antioxidant status and oxidized LDL in well-cotrolled young type 1 diabetic patients with and without subclinical comp lications,* Atherosclerosis, 137, 61-64.

Willis WT and Jackman MR (1994) *Mitochondrial function during heavy exercise.* Med Sci Sports Exerc, 26, 1347- 1353.

Young IS and McEneny J (2001) *Lipoprotein oxidation and atherosclerosis,* Biochem Soc Trans, 29, 358- 62.

9. ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Isparta ilinde doğdu. İlkokul ve ortaokulu Isparta'da, liseyi Ankara'da bitirdi. GATA Ankara Sağlık Meslek Yüksek Okulunu 2000 yılında tamamladı. 2001 yılında dikey geçiş sınavıyla kazandığı SDÜ Burdur SMYO'nu 2004 yılında tamamladı. 2005 yılında yüksek lisans eğitimine başladı. 2001 yılından beri Isparta Asker Hastanesinde çalışmaktadır. Evli olup çocuğu yoktur.

10. TEŞEKKÜR

Çalışmamda bilgi, tecrübe ve özverisiyle bana destek olan danışman hocam Doç.Dr. Nilsel OKUDAN'a, ikinci danışman hocam Prof.Dr. Hakkı GÖKBEL'e, biyokimya analizlerinin gerçekleşmesini sağlayan Prof.Dr.Sadık BÜYÜKBAŞ'a, istatistik analizleri yapan Prof.Dr. Said BODUR'a, laboratuar çalışmalarında destek ve yardımlarını esirgemeyen Safiye SAYAR'a ve Dr. Çiğdem DÖLEK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.