T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUERSETİN VE KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN (CAPE) SIÇAN KRONİK YÜZME EGZERSİZ MODELİNDE MİYOKARDIN OKSİDAN/ANTİOKSİDAN DENGESİNE ETKİLERİ

Zehra ÇALIŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hasan Serdar GERGERLİOĞLU

KONYA – 2014

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUERSETİN VE KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN (CAPE) SIÇAN KRONİK YÜZME EGZERSİZ MODELİNDE MİYOKARDIN OKSİDAN/ANTİOKSİDAN DENGESİNE ETKİLERİ

Zehra ÇALIŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hasan Serdar GERGERLİOĞLU

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 11202024 proje numarası ile desteklenmiştir

KONYA-2014

i. ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimime katkılarından dolayı Fizyoloji A.D'deki tüm hocalarıma ve araştırma görevlilerine özellikle bilgi ve tecrübelerini paylaşan ve hoşgörüsünü esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Enver Ahmet DEMİR'e, Uzm. Dr. Mehmet ÖZ ve Dr. M. İkbal ALP'e, tezin istatistiksel analiz aşamasındaki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Sait BODUR ve Yrd. Doç. Dr. Fatih KARA'ya, laboratuvar aşamasındaki desteklerinden dolayı Prof. Dr. Sadık BÜYÜKBAŞ ve Arş. Gör. Dr. Yeşim CAN'a, anlayışlarından dolayı iş arkadaşlarıma, deney aşamasındaki yardımlarından dolayı tüm SÜDAM personeline ve tabii ki manevi destekleriyle her zaman yanımda olduklarını bildiğim değerli aileme teşekkür ederim.

ii. İÇİNDEKİLER

iii. KISALTMALAR

1.GİRİŞ 6

1.1. Oksidatif Stres 6

1.2. Reaktif Oksijen Türleri 7

1.2.1. Süperoksit ($O2-.$) 7

1.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) 7

1.2.3. Hidroksil Radikali ($OH^{\bullet}$) 8

1.2.4. Hidroperoksit Radikali ($HO_2^{\bullet}$) 9

1.2.5.Nitrik Oksit ($NO^{\bullet}$) 9

1.3. Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynağı 9

1.3.1. Serbest Radikallerin Hücre Dışı Kaynakları 10

1.3.2. Serbest Radikallerin Hücre İçi Kaynakları 10

1.4. Serbest Radikal Hasarı Riski Altındaki Hücresel Komponentler 10

1.5. Antioksidan Savunma Sistemleri 11

1.5.1. Enzimatik Antioksidanlar 12

1.5.1.1 Süperoksit dismutaz 12

1.5.1.2.Tiyol 13

1.5.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar 13

1.5.2.1. Polifenolik Bileşikler 13

1.6. Kuersetin 14

1.7. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) 17

1.8. Egzersiz ve Oksidatif Stres 18

2. GEREÇ VE YÖNTEM 21

2.1. Hayvanlar 21

2.2. Yöntem 22

2.2.1. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü 22
2.2.2. MDA Miktarının Tayini 23
2.2.3. Nitrik Oksit Miktarının Tayini 23
2.2.4. Total Tiyol (T-SH) Tayini 23
2.2.5. İstatistisel Analiz 24
3. BULGULAR 25
3.1. Plazma SOD Aktivitesi 25
3.2. Plazma MDA (µmol/L) Düzeyleri 26
3.3. Plazma NO (µmol/L) Düzeyleri 27
3.4. Plazma Tiyol (µmol/L) Düzeyleri 28
3.5. Miyokard Dokusu SOD (U/mg protein) Aktiviteleri 29
3.6.Miyokard Dokusu MDA (nmol/g protein) Düzeyleri 30
3.8. Miyokard Dokusu NO (µmol/g protein) Düzeyleri 31
4.TARTIŞMA 33
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 36
6.ÖZET 37
7.SUMMARY 38
8. KAYNAKLAR 39
9. EKLER 45
EK-A: Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurul Onayı 45
EK-B: Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulu Ek Projeye Katılma Protokolü 46
11. ÖZGEÇMİŞ 47

iii. KISALTMALAR

AA: Asetik asit

ASS: Antioksidan savunma sistemi

CAPE: Kafeik asit fenetil ester

cGMP: Siklik guanozin monofosfat

CysGlySH: Sisteinilglisin

CysSH: Sistein

GPx: Glutatyon peroksidaz

GR: Glutatyon redüktaz

GSH: Glutatyon

GSSG: Okside glutatyon

GST: Glutatyon-S-transferaz

$HO_2^{\bullet}$: Hidroperoksit radikali

H_2O_2: Hidrojen peroksit

CAT: Katalaz

LPO: Lipid peroksidasyonu

LOOH: Hidroperoksitler

MDA: Malondialdehit

NF-kB: Nükleer faktör kappa B

NBT: Nitro blue tetrazolium

NO_3^- : Nitrat

NO: Nitrik oksit

PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri

$OONO^-$: Peroksinitrit

$OH^\bullet$: Hidroksil radikali

$O_2^{-\cdot}$: Süperoksit radikali

SR: Serbest radikal

ROS: Reaktif oksijen türleri

RNS: Reaktif nitrojen türleri

RONS: Reaktif oksijen ve nitrojen türleri

SOD: Süperoksit dismutaz

TBARS: Tiyobarbitürik asit reaktif substant

1.GİRİŞ

Egzersizin indüklediği oksidatif streste, yapılan egzersizin niteliği ve şiddeti önem arz etmektedir. Antioksidan maddelerin oksidatif stresi azalttığı bilinmektedir. Oksidatif stres farklı dokularda farklı derecelerde açığa çıkabilmektedir. Bildiğimiz kadarıyla literatürde egzersizin indüklediği oksidatif strese karşı kuersetinin ve CAPE'nin etkilerini ayrı ayrı inceleyen çalışmalar olmasına rağmen her iki maddenin birlikte kullanılarak miyokard dokusunda oksidan/antioksidan dengeye etkisini araştıran bir çalışma yoktur.

Antioksidan özellikleri bilinen bu iki maddenin bir arada kullanılması, oksidan/antioksidan dengeye kuersetinin tek başına mı yoksa CAPE ile kombine halde verilmesi durumunda mı daha etkili olduğunu gözlemlemek açısından da önemlidir. Bu çalışmada kuersetin ve CAPE'nin sıçan kronik yüzme egzersiz modelinde miyokard dokusunun oksidan/antioksidan dengesine etkilerini araştırmayı amaçladık.

1.1. Oksidatif Stres

Serbest radikal (SR)'ler dış yörüngesinde bir veya birden fazla eşlenmemiş elektron bulunduran reaktif atomlar veya moleküllerdir ve reaktif yapılarından dolayı diğer moleküller ile reaksiyona girerek yapılarını bozma eğilimindedirler (Clarkson ve Thompson 2000). Radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron ayrılmasıyla veya radikal olmayan bir atom veya moleküle bir elektron ilavesiyle oluşurlar (Flora-Swaran 2009). SR'ler aerobik metabolizmanın fizyolojik ürünüdür ve normal koşullar altında sinyalizasyon, apoptozis, antioksidan savunma sistemi (ASS)'ni harekete geçirmek gibi birçok farklı görev için organizma tarafından kullanılmaktadır (Radak ve ark 2008).

Normal şartlarda endojen antioksidan sistem reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi reaktif türlere karşı yeterli korumayı sağlar. Ancak, biyolojik sistemde SR üretimi ve endojen antioksidan sistem arasındaki dengenin bozulması ve dengenin SR üretimi yönüne kayması durumunda oksidatif stres diye adlandırılan durum ortaya çıkar (Bloomer ve Goldfarb 2004). Oksidatif stres, artmış oksidatif hasarla sonuçlanabilir. SR'lerin ya da ROS'un aşırı üretimi ya da endojen

antioksidan savunma sistemindeki bir bozukluk buna sebep olabilir (Boots ve ark 2008).

1.2. Reaktif Oksijen Türleri

1.2.1. Süperoksit ($O_2^-.$)

Hemen hemen bütün aerobik hücrelerde oksidatif fosforilasyonun ana bileşeni olan moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu kararsız bir yapı olan süperoksit radikali oluşur (Buonocore ve ark 2010). Diğer radikallerle kıyaslanınca kısmen reaktif olmayıp NO gibi bazı radikaller ve proteinlerdeki bir kısım demir-kükürt grupları ile hızlıca reaksiyona girebilirler (Halliwell ve Gutteridge 2007).

Kendiliğinden, özellikle iç mitokondri zarında solunum zinciriyle birlikte oluşur. ($O_2^-.$) ayrıca iskemi-reperfüzyonda aktive olan ksantin oksidaz gibi flavo enzimlerce endojen olarak da oluşturulur. Lipooksijenaz ve siklooksijenaz ise diğer $O_2^-.$ oluşturan enzimlerdir (Zimmerman ve Granger 1994). Aktif süperoksit ürünü NADPH oksidazın aktive olmasıyla elde edilir. Süperoksit dismutaz enzimi (SOD), $O_2^-.$ radikalini hızlı bir şekilde hidrojen peroksite çevirdiği için $O_2^-.$ hasara kolaylıkla neden olmaz (Şekil 1.1.). $O_2^-.$ radikallerinin asıl zararları hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmalarıdır (Leeuwenburgh ve Heinecke 2001).

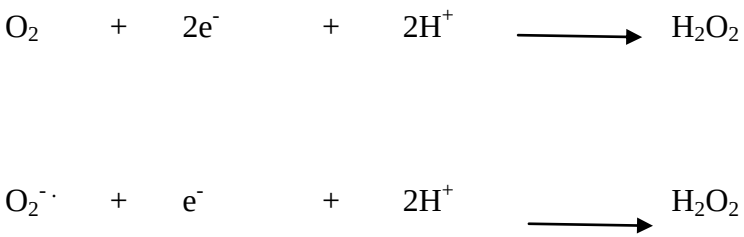
$$O_2^-. + O_2^-. + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

Şekil 1.1. SOD reaksiyonu

1.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

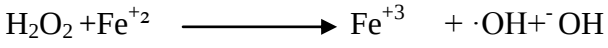
Özel şartlarda hidroksil radikali gibi serbest radikalleri kolaylıkla oluşturabilen reaktif bir bileşiktir.

Asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdan iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit meydana gelir (Şekil 1.2.).



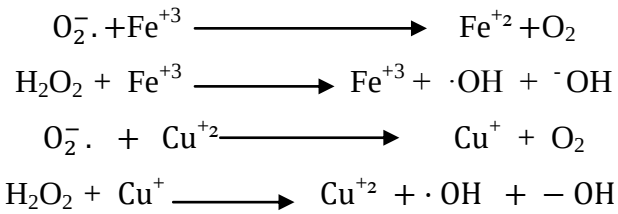
Şekil 1.2. Hidrojen peroksit oluşumu

H_2O_2 kararlıdır ve hücre içerisinde oldukça uzun yarılanma ömrü vardır. Sitotoksik olmasına rağmen oldukça zayıf okside edici ajandır. DNA veya lipidleri direk olarak okside edemez fakat bazı enzimleri inaktive edebilir (Halliwell ve Gutteridge 2007). H_2O_2'nin sitotoksitesi esasen Fenton reaksiyonu (Şekil 1.3.) gibi metal katalizli reaksiyonlar aracılığı ile hidroksil oluşturabilme yeteneğiyle ortaya çıkar (Powers ve Jackson 2008).



Şekil 1. 3. Fenton Reaksiyonu

Bu reaksiyon Haber Weiss reaksiyonunun bir parçası olarak özellikle önemlidir. Haber Weiss reaksiyonunda demir veya bakırın süperoksit tarafından indirgenmiş formu sağlanır ve bundan dolayı H_2O_2'den hidroksil formu katalizlenebilir (Halliwell 1995).



Şekil 1.4. Haber Weiss reaksiyonunun içerdikleri

1.2.3. Hidroksil Radikali ($OH^{\bullet}$)

Kimyada en reaktif radikal olarak bilinir. Bu nedenle in vivo oluşan bir $OH^{\bullet}$ hemen her moleküle saldırır ve oluştuğu yerde de büyük hasara neden olur. Radikal olmayan biyolojik moleküllerle zincirleme reaksiyonları başlatır (Halliwell 1987).

Hidroksil radikali oksidan gücü son derece yüksek olan bir radikaldir. Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilebilir (Buonocore ve ark 2010).

1.2.4. Hidroperoksit Radikali ($HO_2^{\bullet}$)

Oksidan olarak süperoksit radikalinden daha güçlüdür. Süperoksit radikalinin protonlanmasıyla oluşur. Biyolojik membranları kolay geçebilmesi ve yağ asitleriyle direkt etkileşime girebilmesi önemlidir (Gutteridge 1995).

1.2.5.Nitrik Oksit ($NO^{\bullet}$)

Düz kas vazodilatasyonu kan damarlarındaki endotelden gevşetici faktörün salınımına bağlıdır. Önceleri endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak bildirilen bu faktör nitrik oksit radikali olarak belirlenmiştir. NO, nitrik oksit sentaz tarafından L-arginin üzerinden üretilir (Boots ve ark 2008). Nitrik oksit sentaz'ın üç temel tipi; birçok hücre çeşidinde bulunmakla beraber aslında nöral dokularda bulunan, nöronal NOS (NOS1), başlangıçta endotelyal hücrelerde tanımlanan endotelyal NOS (NOS3), çoğunlukla enflamatuar durumlarda bulunan uyarılabilir NOS (NOS2)'dur. Nitrik oksit sentaz NADPH kullanarak L-Arginin' i NO ve L-sitruline çevirir (Powers ve Jackson 2008). Aynı anda farklı hücre türlerinde sentezlenen, otokrin veya parakrin mediatör işlevi gören NO, yağda çözünür ve biyolojik zarlardan kolaylıkla geçer. Radikal olarak reaktivitesi düşüktür, metal içeren merkezler ve radikaller ile büyük bir hızla reksiyona girer. Özellikle lipid radikallerle reaksiyona girmesi NO'ye antioksidan bir etki kazandırır. Süperoksit ile NO arasındaki reaksiyonla oluşan peroksinitrit, hidroksil radikali benzeri aktiviteye sahip olup radikalik reaksiyonları başlatmaya ek olarak biyomoleküllerin nitrasyonuna neden olur. Fizyolojik konsantrasyonda üretilen NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO^{-3}) oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Nitrik oksiti ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur (Kılınç ve Kılınç 2002).

1.3. Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynağı

Oksidatif strese sebep olan reaktif türlerin kaynağı endojen ya da çevresel faktörlere dayanabilir.

1.3.1. Serbest Radikallerin Hücre Dışı Kaynakları

En önemli ekzojen SR üretim kaynakları olarak, iyonize ve non-iyonize radyasyon, hava kirleticiler, sigara dumanı, zehirli gazlar, doğal zararlı gazlar (ozon, oksijen ve hiperbarik oksijenin yüksek konsantrasyonları), kanserojen maddeler, alkol, patojenik bakteri, virüsler ve pestisitler bilinir.

Bu tür maddeler dört grupta toplanabilirler; 1. Toksinin kendisi bir serbest radikaldir, 2. Toksin bir serbest radikale metabolize olabilir, 3. Toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali meydana gelebilir, 4. Toksin antioksidan aktiviteyi düşürebilir (Kehrer 1993).

1.3.2. Serbest Radikallerin Hücre içi Kaynakları

Normalde hücrelerde en büyük serbest oksijen radikali kaynağı mitokondriyal elektron transport zincirinden sızıntıdır. Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondriyal süperoksit radikal üretimi artar. Otooksidasyon, atmosferik oksijenin katalizlediği tipik bir SR zincir reaksiyonudur (Nawar 1996). SR'nin oksijenle reaksiyonu oldukça hızlıdır ve bu reaksiyonların başlangıcı için özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve fosfolipidler eğilimlidir.

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda serbest radikal üretimi, membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları da canlı sistemde serbest radikal oluşturan güçlü birer oksidatif katalist olarak görev yapmaktadırlar (Halliwell ve Gutteridge 1990).

Aktive olmuş makrofajlar, nötrofiller ve eozinofillerde fagositik solunumsal patlama sırasında da çeşitli SR'ler oluşur. Bazı yabancı toksik maddeler hücrede SR üretimini artırırlar. Bu maddeler ya doğrudan SR üretirler ya da SR'in ortadan kaldırılmasını sağlayan antioksidan aktiviteyi düşürürler.

1.4. Serbest Radikal Hasarı Riski Altındaki Hücresel Komponentler

SR'lerin proteinler, nükleik asitler, DNA, karbonhidratlar ve membran lipidleri üzerine etkileri vardır.

Proteinler oksidanlara maruz kaldıklarında birçok kovalent değişikliğe uğrar. Bu değişikliklerden bazıları serbest radikallerin protein molekülleri üzerine direkt etkileri sonucu oluşabildiği gibi, bazıları da oksidasyon yan ürünlerinin proteinlere kovalent olarak bağlanması ile meydana gelir (Dalle-Donne ve ark 2005). Proteinlerin radikal aracılı hasarı; elektron kaybı, metal-iyon katalizli reaksiyonlar, lipit ve şekerlerin otooksidasyonu ile başlatılabilmektedir. Bu ürünlerin oluşum hızının artması veya temizleyici mekanizmaların yetersiz kalması, proteinler de dahil olmak üzere diğer hücresel moleküllerdeki oksidatif modifikasyonların artışına yol açar (Shacter 2000).

Okside edici radikaller, hücre membranlarında fazla miktarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerine (PUFA) kolaylıkla zarar verirler. Hasar sonucu zarın yapısı ve işlevleri büyük ölçüde bozulur. PUFA'da oluşan oksidatif hasar lipid peroksidasyonu (LPO) olarak bilinir (Karihtala ve Soini 2007). LPO lipid molekülünde iki doymamış bağ arasında bulunan bir metilen grubundan bir hidrojen atomunun çıkarılması ile başlayan kompleks olaydır. LPO bir kez oluşur sonra hücrede kendi kendine devam eden zincir reaksiyonlar başlar (Karihtala ve Soini 2007). LPO sonucu oluşan lipid peroksil radikalleri (LOO**.**) bir sonraki PUFA'yı okside eder böylece yeni zincirleme reaksiyonlar başlar (Gilbert ve Colton 1999). Devam eden reaksiyonlar sonucunda hidroperoksitler (LOOH) ve bunların da devam eden parçalanması ile daha şiddetli radikal özelliği olan türlere özellikle de rölatif olarak daha kararlı hal alan MDA'ya dönüşürler (Karihtala ve Soini 2007).

MDA oluştuğu ortamda diffüze olarak, ya hücrenin dış ortamına ya da iç kısmına gidip hasar oluşturabilir. Hücre içine girdiğinde birçok yapı ve organel için zararlı etki gösterir (Gilbert ve Colton 1999).

1.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar serbest radikal oluşumunu engelleyerek otooksidasyonu geciktiren ve bir ya da daha fazla mekanizma ile serbest radikallerin yayılmasını durduran bileşikler ya da sistemlerdir. Bu mekanizmalar;

1) Peroksidasyonu başlatan türlerin uzaklaştırılması
2) Metal iyonlarını bağlamak
3) Peroksit oluşumunu engelleyerek $O_2^{-\cdot}$'nin uzaklaştırılması

4) Otooksidatif zincir rekasiyonlarını kırmak
5) Lokalize O_2 konsantrasyonunu azaltmaktır (Brewer 2011).

Çizelge 1.2. enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları göstermektedir.

Çizelge 1.2. Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi

Enzimatik	Nonenzimatik	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutatyon (GSH)	Albümin
Katalaz (CAT)	α-Tokoferol (vit E)	Seruloplazmin
Glutatyon peroksidaz (GSHPx)	Askorbat (vit C)	Transferrin
Fosfolipid hidroperoksit	β-Karoten	Ferritin
glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px)	Flavonoidler	Laktoferrin
	Ürat	Melatonin
Glutatyon S-transferaz (GST)	Bilirubin	Sistein
Glutatyon redüktaz(GSSG-R)		

1.5.1. Enzimatik Antioksidanlar

1.5.1.1 Süperoksit dismutaz

Aerobik hücrelerde oksijen radikalinin zararına karşı intrasellüler savunmada büyük rol oynar. SOD'un aktivitesinde yaşlanmaya bağlı olarak azalma olmaktadır (Ciriolo ve ark 1991). Süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit radikallerine karşı savunmada ilk basamaktır. SOD hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijen (O_2) oluşturmak için süperoksit radikallerini dismute eder.

$$2O_2^{-\cdot} + 2H \xrightarrow{\text{SOD}} H_2O_2 + O_2$$

Şekil 1.5. SOD Reaksiyonu

Memelilerde SOD'un 3 izoformu (SOD1, SOD2, SOD3) bulunur ve hepsi de süperoksit anyonunun katalitik bozulmasını tamamlamak için aktif kenarlarında

redoks aktif geçiş metaline gereksinim duyarlar. SOD izoformlarının ikisi hücre içinde biri hücre dışı boşluktadır (Suzuki ve ark 2000).

1.5.1.2.Tiyol

Tiyoller bir sülfidril grubu (-SH) içeren ve tiyol grubu diye de bilinen organik bileşiklerin bir sınıfıdır. Bir sülfür atomu ve karbon atomuna bağlanmış bir hidrojen atomundan oluşur. Plazmadaki protein tiyolleri protein sülfidril gruplarını ve homosistein, sisteinilglisin, sistein ve glutatyonla beraber protein karışımlı disülfidleri içerir.

İnsan plazması indirgenmiş tiyoller olarak homosistein (HcySH), sisteinilglisin (CysGlySH), sistein (CysSH) ve glutatyon (GSH) içerir (Prakash 2009). Plazma tiyolleri, fizyolojik olaylar üzerinde prooksidan veya antioksidan etkilere sahiptir; ama genel olarak antioksidan olarak kabul edilirler (Atmaca 2004). Tiyollerin anti veya prooksidan etki gösterip göstermeyeceği oksidan stres ve fizyolojik koşullar tarafından belirlenir. Plazma tiyolleri arasında en çok sistein bulunurken, homosistein ve GSH onu takip eder. Bu tiyollerdeki -SH grubunun oksidatif strese karşı koruyucu öneminin olduğuna inanılır. Tiyoller Cu^{+2} veya Fe^{+3}'ü, direkt olarak radikalleri tutabilen Cu^{+}ve Fe^{+2}'ye kendileri disülfite okside olarak indirgeyebilir. Bu indirgenmiş metal iyonları bir süperoksitle reaksiyona girerek yine yükseltgenebilir. SOD, süperoksidi H_2O_2'ye dönüştürür. Yani, bu reaksiyonlar süperoksit, H_2O_2 ve hidroksil radikalleri gibi ROS'ları üretir. Tiyol bileşikleri ile indüklenen prooksidan etkiler, böbrek iskemisi, karaciğer yetmezliği ile kalp-damar ve serebrovasküler dokuların hastalıklarında bildirilmiştir (Yardim-Akaydin ve ark 2003).

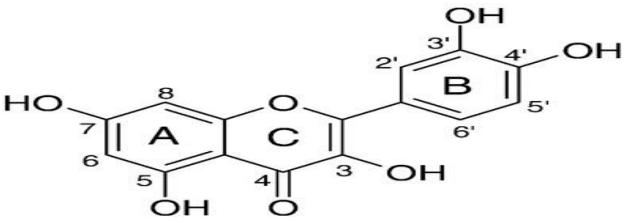
1.5.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1.5.2.1. Polifenolik Bileşikler

Polifenolik bileşikler veya polifenoller, flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere iki ana sınıfı içeren polihidroksile fitokimyasallardır.

Flavonoidler düşük molekül ağırlıklı, benzo-F-piron türevi ve yenilebilir sebze ve meyvelerde bulunan ikincil fenolik bitkilerden geniş bir ailedir (Bieger ve ark 2008). Flavonoidler heterosiklik piren ya da piron halkasına (C Şek.1.6) bağlı iki

benzen halkasından (A ve B Şek.1.6) meydana gelen fenil benzo (γ) piron türevli yapı ile tanımlanırlar (Harwood ve ark 2007). Çoğu flavonoid ortak 3 halka yapısını paylaşır, bu halkalardan A ve B halkası aromatik, C halkası ise heterosikliktir. Heterosiklik C halkasındaki varyasyonlar, flavonoidlerin çeşitli alt sınıflara bölünmesinin temelini oluşturur (Boots ve ark 2008).



Şekil 1.6. Kuersetinin kimyasal yapısı

Özel yapıları ile flavonoidler, metal iyonlarıyla şelat yaparak reaktif oksijen türleri üretimini inhibe edebilirler aksi takdirde bu metal iyonları fenton reaksiyonları boyunca ROS üretimini destekler (Moskaug ve ark 2004). Flavonoidlerin güçlü antioksidan ve SR'leri süpürücü aktiviteleri vardır. ROS'u süpürebilir, metal iyonlarıyla şelat yapabilir, lipid peroksil radikalini süpürerek veya lipid hasarını önlemek için lipid bariyerine gönderilerek zincir kırıcı antioksidan olarak rol oynayabilirler (Chander ve ark 2003).

1.6. Kuersetin

3,3,4,5,7-Pentahidroksiflavon (kuersetin) esas olarak meyve kabuklarında, yapraklı sebzelerde, çilekte, siyah çay, kırmızı şarap ve çeşitli meyve sularında doğal olarak bulunan polifenolik bir flavonoiddir. Sebze ve meyveler, özellikle elma, kızılcık, yaban mersini ve soğan tipik batı diyetinin doğal kuersetin diyeti açısından ana kaynaklarıdır ve aglikon olarak seviyesi 350 ppm'ye kadar çıkan flavonol içerir (Harnly ve ark 2006). Tabi diyet değerlendirmeleri alışılmış diyette tipik olarak 5 mg - 40 mg arası değişen ortalama kuersetin alımının bol meyve, sebze tüketenlerde günlük seviyenin 200-500 mg'ı bulduğunu göstermiştir (Harwood ve ark 2007). Kuersetinin antioksidan, antikarsinojenik, antienflematuar ve kardiyoprotektif özellikleri vardır (Harwood ve ark 2007), viral enfeksiyona yatkınlığı azaltır (Ristow

ve ark 2009). Gıda takviyesi olarak bulunur, bioyararlanımı yüksektir (Jin ve ark 2010).

Antioksidan özellikler genellikle kuersetinin kimyasal yapısının özellikle de hidroksil (–OH) ikamesi ve katekol tip B halkasının varlığı ve lokasyonunun bir fonksiyonudur (Harwood ve ark 2007). Kuersetin apoptozu indükler, tümör gelişimini engeller, fosfolipaz A_2 ve protein kinazları inhibe eder, membran akışkanlığını arttırır, farelerde eritrosit membranlarını oksidatif hasara karşı korur (Pawlikowska-Pawlega ve ark 2003). Kuersetin, antioksidan etkinliği ile oksidatif strese bağlı doku hasarını azaltarak global iskemi sonrası reperfüzyonda miyokardial iyileşmeyi arttırmaktadır. Bu koruyucu etki özellikle kronik tedavi uygulanan kalplerde belirgin olarak görülmektedir (Ikizler ve ark 2007). Motoyama ve ark (2009)'nın yaptığı bir çalışmada farelere uygulanan kuersetinin aterosklerotik alanların gelişimini inhibe ettiği belirtilmiştir.

Glikozitlerinin hidrofilik karakterinden dolayı aglikon gibi şeker grubu olmadan yalnız kuersetinin gastrointestinal yoldan pasif difüzyonla ilk olarak alındığı öngörülmüştür (Kühnau 1976). Kuersetin ayrıca kalın barsak, böbrek, karaciğer, akciğer, kas, beyin (de Boer- Vincent ve ark 2005) gibi çeşitli dokulara ulaşır ve buralarda birikir. Kuersetinin günlük alımı, enflamatuar aracıların salınımının inhibisyonu, lipid peroksidasyonu ve oksidatif DNA hasarına karşı koruyuculuğuyla, nörodejeneratif hastalıklar, felç, tümör gelişimi ve kardiyovasküler hastalık riskinin azalmasıyla bağlantılı olabilir. Kuersetin doza bağlı olarak hücrelerdeki peroksit üretiminin inhibisyonuna neden olmaktadır (Robaszkiewicz ve ark 2007). Süperoksit ve hidroksil radikallerini temizlemekte, lipid peroksidasyonunu inhibe etmekte ve lipid peroksil radikallerini azaltmaktadır (Chaudhary ve ark 2007) sadece direkt reaktif oksijen türlerinin temizleyicisi değildir; hücre içi sinyal kaskatları ile etkileşerek endojen antioksidan savunma sisteminde düzenleyici olarak da kendini gösterebilir (Liu ve ark 2010).

Kuersetin uygulamasının ardından karaciğerdeki bazal MDA konsantrasyonunun anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür (Choi ve ark 2005).

Kuersetin ayrıca antioksidan özelliklerinden dolayı fiziksel performansı da geliştirebilir. Antioksidan uygulama diyetlerinin membranlardaki, iskelet kasındaki

kontraktil ve yapısal proteinlerdeki hasarı azaltarak egzersiz performansını geliştirdiği hipotez edilmiştir. Böylece egzersiz sırasında oluşan artmış reaktif oksijen türlerinin akut negatif ve yorucu etkilerini kısıtlar (MacRae- Holden ve Mefferd 2006).

İn vitro olarak karaciğer ve enterositlerde üretilen kuersetin metabolitlerinin, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolün oksidasyona direncini arttıran antioksidanlar gibi görev yaptıkları bulunmuştur (Morand ve ark 1998).

Kuersetin in vitro testlerde adenozin A1- reseptör antagonisti olarak görülür (Alexander 2006) ve kafein gibi analjezik etkileri olabilir. Böylece uzamış egzersiz sırasında kafeinle olduğu gibi güç ve ağrı algısını azaltarak fiziksel performansı iyileştirebilir (Cureton ve ark 2007). Hayvan çalışmalarında kuersetin uygulamasının oksidatif stresi (Coskun ve ark 2005), kan basıncını (Edwards ve ark 2007) ve düşük dereceli sistemik enflamasyonu (Comalada ve ark 2005) azaltarak ve mitokondriyal biyogenezi arttırarak (Davis ve ark 2009) sağlığa faydalar sağladığı öngörülmüştür. Bazı insan çalışmalarının sonuçlarına göre genç sağlıklı katılımcılara yapılan kuersetin ilavesi enflamasyonu (Nieman ve ark 2007) ve oksidatif stresi (Shanely ve ark 2010) azaltmaz.

Antrene olmamış erkeklerde yapılan bir çalışmada kuersetin ve plasebo grupları karşılaştırıldığında kas oksidatif kapasitesinde önemli (% 20-30) bir artışa sebep olmadığı bulunmuştur (Cureton ve ark 2009). Egzersiz yapmayan erkeklerde kısa vadede kronik kuersetin diyeti ilavesi kas oksidatif kapasitesini, uzamış egzersizde performansın metabolik, nöromusküler ve algısal belirteçlerini ya da bisiklet çevirme performansını geliştirmemiştir (Cureton ve ark 2009).

Flavonoid kuersetin sıçan hipotalamuslarını oksidatif belirteçlerdeki yüzme stresinden kaynaklı değişikliklere karşı korur (Haleagrahara ve ark 2009). O_2^-. anyonunu direk olarak süpürürken, XO (Sanhueza ve ark 1992) veya nötrofil membran NADPH oksidaz kompleksi (Tauber ve ark 1984) gibi O_2^-. oluşturan çeşitli enzimleri inhibe eder.

1.7. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)

Propolis hem bir inşa materyali hem de savunma maddesi olmasından dolayı arılar tarafından üretilen en çekici materyallerdendir. Arılar bu reçineli ürünün mekanik özelliklerini kovanda delik ve çatlakları engellemek, peteği onarmak ve peteğin sınırlarını takviye etmek için kullanır. Propolis doğal ürünlere ilginin artmasıyla 1960'lardan sonra popüler olmaya başlamıştır (Bankova 2009). İlk kimyasal analizler farklı lokasyonlardaki Avrupa propolisinde yapılmıştır ve flavonoid aglikonları, fenolik asitleri ve bunların esterlerinin varlığını göstermiştir (Bankova 2009). Propolis üretmek için arılar bitkilerin farklı kısımlarından reçineli materyalleri toplar ve bunu balmumuyla karıştırır (Crane 1990).

Farklı bölgelerden toplanan propolis örneklerinde 160'dan fazla bilesik tanımlanmıştır. Propolis; polifenoller (flavonoid aglikonlar, fenolik asitler) ve onların esterleri, fenolik aldehitler, alkoller ve ketonlar, seskuiterpen kinonlar, kumarinler, stereoidler, aminoasitler ve inorganik bileşikler gibi çesitli kimyasal bilesikleri içermektedir.

CAPE, flavonoid benzeri bir bileşiktir ve bal arısı kovanlarından elde edilen propolisin aktif komponentidir ve geleneksel tıpta uzun zamandır kullanılmaktadır. Antioksidan aktivite (Russo ve ark 2002), vazorelaksan etki (Cicala ve ark 2003), antienflamatuar etki (Fitzpatrick ve ark 2001), antikarsinojenik aktivite (Su ve ark 1991) ve immunomodulatör etki (Márquez ve ark 2004) CAPE'nin bilinen biyolojik aktivitelerindendir. Antioksidan etkisi yapısındaki hidroksil grubunun varlığından kaynaklanır. CAPE uygulamasının iskemi ve toksik yaralanmalarda lipid peroksidasyonunu azalttığı ve dokuları oksidatif stresten kaynaklanan ROS oluşumundan koruduğu görülmüştür (Ozguner ve ark 2005). Hücre kültürü ve deney hayvanı araştırmalarında intraperitoneal uygulandığı zaman yeterli kan konsantrasyonuna ulaştığı gözlenmiştir (da Cunha-Fernanda ve ark 2004).

CAPE'nin kalpte miyokardiyal iskemi/reperfüzyon hasarının apoptik etkisini önlemek için güçlü SR süpürücü olarak etki ettiğini bildirilmiştir (Parlakpınar ve ark 2005). Reperfüzyon hasarını önler ve immun sistemi uyarır (Koltuksuz ve ark 1999). CAPE, insan pankreatik kanser hücreleri apoptozuna sebep olur (Chen ve ark 2008).

Güçlü bir nükleer faktör (NF)-κB inhibitörüdür ve TNF-α ve diğer enflamatuar ajanlardan kaynaklanan NF-κB aktivasyonunu inhibe eder (Natarajan ve ark 1996).

1.8. Egzersiz ve Oksidatif Stres

Egzersiz sırasında meydana gelen en belirgin biyolojik değişim, oksijen (O_2) tüketim oranının artmasıdır (Ji ve Hollander 2000). O_2 tüketiminin artması SR üretiminde artışa yol açar ve antioksidanlar ile ROS arasında oksidatif stres olarak adlandırılan bir dengesizlik oluşturur (Urso ve Clarkson 2003). SR'ler arasında reaktif oksijen türevleri oksijenden ve metabolizmadan ortaya çıkar, daha önce yapılan birçok çalışma mitokondrinin major bir ROS kaynağı olduğunu bildirmiştir (Nohl ve ark 2003). Düzenli egzersiz antioksidan savunma mekanizmalarını geliştirebilir (Gomez-Cabrera ve ark 2008), uzun süreli ve /veya yüksek yoğunluklu akut egzersizin oksidanların redoks durumunu etkilediği bulunmuştur (Finaud ve ark 2006). Bu durumda SR'in bu karşı konulamaz ürünü antioksidan savunma mekanizmalarıyla dengelenemez bu da oksidatif stresle sonuçlanır (Misra ve ark 2009).

SR, savunmayı artıran sinyaller gibi rol oynadıkları için aslında düşünüldüğü gibi zararlı olmadıkları kabul edilmektedir. Fakat hücreler çok yüksek yoğunlukta bu radikallere maruz kalıyorsa, o zaman serbest radikallerin zararlı etkileri baskın hale gelmektedir. İskelet kasında düşük seviyelerdeki hidrojen peroksit, sarkoplazmik retikulumdan Ca^{+2} salınımını arttırarak güç üretimini arttırmaktayken, yüksek yoğunluklardaki hidrojen peroksit kasılma kuvvetinde ciddi bir azalma oluşturmaktadır (Hoene ve ark 2010).

ROS birikiminin kas kasılma gücü üzerine bazı pozitif etkileri olduğuna dair deliller (Reid 2001) var olmakla beraber ROS potansiyel olarak zararlı inflamasyonu arttıran ve hücre fonksiyonunu değiştiren bir yapıya sahiptir.

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

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

2. Şiddetli egzersizde aktif kaslar hipoksik olabilir. Anaerobik metabolizmayla ksantin üretilir ve ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüştürülür. Reperfüzyonda ise ksantin oksidaz hipoksantini ürik aside dönüştürür ve süperoksit oluşumunda elektron alıcısı olarak oksijen kullanır.

3. Egzersiz sonucunda oluşan doku hasarı daha sonra NADPH oksidaz tarafından serbest radikal üretimi ile nötrofil gibi inflamatuar hücrelerin aktivasyonuna neden olabilir.

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

5. Egzersizin neden olduğu hipertermi oksidatif hasara neden olabilir.

6. Oksihemoglobinin methemoglobine otooksidasyonu egzersizle artabilir, bu da O_2^-. üretimiyle sonuçlanır.

Hem aerobik hem de anaerobik egzersizler kronik ya da akut olarak düzenlenebilir (Thompson ve ark 2001). Kronik egzersiz sonucunda 2 durum ortaya çıkar; egzersiz ile birlikte oksidan maddelerin oluşumu ile oksidan- antioksidan dengenin bozulması neticesinde oksidatif stres ortaya çıkarken diğer taraftan da egzersiz ile oluşan oksidatif stresin zararlı etkilerinin azaltılması için antioksidan enzimler etkili hale getirilir (Sen 1995). Akut aerobik egzersizlerin oksidatif stres cevaplarını şiddetlendirdiği belirtilmiştir (Nikolaidis ve ark 2007). Buna karşın aerobik egzersiz düzenli olarak uzun süre uygulandığı durumda oksidatif stresin bir göstergesi olan lipit peroksidasyon seviyesinin azaldığı ve antioksidan enzim aktivitesinin (SOD, GSH-Px, CAT) hem kadın hem de erkek bireylerde arttığı bulunmuştur (Elosua ve ark 2003). Sadece aerobik egzersizlerin değil, anaerobik egzersizlerin de iskelet kasında ve kanda oksidatif değişikliklere neden olduğu saptanmıştır (Inal ve ark 2001).

Egzersiz kaynaklı oksidatif stres egzersizin şiddetine bağlıdır. Yüksek yoğunluklu egzersiz, hafif ya da düşük şiddetteki egzersizle kıyaslandığında daha fazla lipid peroksidasyonuna sebep olur (Seifi-Skishahr ve ark 2008). Halbuki düzenli fiziksel antrenmanın antioksidan kapasiteyi arttırırken, akut egzersiz kaynaklı oksidatif stresi ve kas hasarını azaltabildiği gözlenmiştir (Radak ve ark 2008).

Egzersiz kaynaklı oksidatif stres doku tipine ve dokunun antioksidan kapasitesine bağlı farklı tepkiler ortaya koyabilir. Antioksidan kapasite genelde karaciğer ve böbrekte yüksek; fakat akciğer ve kalpte düşüktür (Cao ve ark 1996). Muhtemelen mitokondriyal biyogenez ve oksidan kaynaklı dejenerasyonun oluşumundaki farktan dolayı kas ve kalp oksidatif strese yanıt vermede diğer organlara göre farklıdır (Liu ve ark 2000). İskelet kasında aniden oluşan ROS iskelet kası hücrelerinde hasara neden olabilmektedir.

Araştırmacılara göre yöntemsel farklılıklara rağmen hem yüzme hem de koşu bandı koşusu laboratuvar hayvanları üzerinde araştırma yapmak için iyi birer model olarak gözükmektedir (Carvalho ve ark 2005, Jones ve Carter 2000). Bir stres unsuruyla beraber zorlu egzersizin nöronal hasardan korunmayı sağlamada gönüllü egzersize göre daha iyi olduğu kortikosteron seviyelerindeki artışla gösterilmiştir (Hayes ve ark 2008).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hayvanlar

Çalışma için Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen Wistar cinsi Albino erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Çalışma protokolü aynı merkezin etik kurulu tarafından onaylandı (EK-A). Toplam 58 sıçan aşağıdaki şekilde 8 gruba bölündü.

Kontrol grubu (n=6): 4 hafta boyunca, haftada ardışık 5 gün 1ml/kg intraperitoneal (i.p) serum fizyolojik her gün aynı saatlerde uygulandı.

Etanol grubu (n=7): 4 hafta boyunca, haftada ardışık 5 gün % 40'lık 1ml/kg i.p etanol her gün aynı saatlerde uygulandı.

Kuersetin grubu (n=8): 4 hafta boyunca, haftada ardışık 5 gün 150 µmol/kg i.p kuersetin her gün aynı saatlerde uygulandı.

Kuersetin+Cape grubu (n=8): 4 hafta boyunca, haftada ardışık 5 gün 150 µmol/kg i.p kuersetin ve 10 µmol/kg i.p Cape uygulandı.

Kontrol-Egzersiz grubu (n=5): 4 hafta boyunca, haftada ardışık 5 gün, 1 saat/gün yüzme egzersizi yaptırılan deneklere, 10 µmol/kg i.p serum fizyolojik uygulandı.

Etanol-Egzersiz grubu (n=8): 4 hafta boyunca, haftada ardışık 5 gün, 1 saat/gün yüzme egzersizi yaptırılan deneklere % 40'lık 1ml/kg etanol i.p uygulandı.

Kuersetin-Egzersiz grubu (n=8): 4 hafta boyunca, haftada ardışık 5 gün, 1 saat/gün yüzme egzersizi yaptırılan deneklere 150 µmol/kg i.p kuersetin uygulandı.

Kuersetin + CAPE-Egzersiz grubu (n=8): 4 hafta boyunca, haftada ardışık 5 gün, 1 saat/gün yüzme egzersizi yaptırılan deneklere 150 µmol/kg i.p kuersetin ve 10 µmol/kg i.p Cape uygulandı.

Ortam sıcaklığı 20±2 °C' de sabit tutuldu. Her grup ayrı kafeslerde barındırıldı ve beslendi.

Yüzme egzersizi için plastik materyalden yapılmış özel havuz (150x80x60) kullanıldı. Hayvanlar 1 saat yüzebilir hale geldikten sonra egzersiz protokolüne başlandı.

Yüzme egzersizi ve enjeksiyonlar her gün aynı saatte yapıldı. 4 hafta sonunda, son enjeksiyondan 24 saat sonra eter anestezisi altında EDTA'lı tüplere intrakardiyak kan alındıktan sonra 4°C sıcaklıktaki soğutmalı santrifüj cihazında 10 dakika süreyle 3500 rpm hızda santrifüjasyonu takiben plazma elde edildi. Plazma örnekleri mikrosantrifüj tüplerine eşit miktarlarda transfer edilerek -80°C'de analizler gerçekleştirilene kadar saklandı. Temin edilen miyokard doku örnekleri biyokimyasal analizler gerçekleştirilene kadar -80°C'de saklandı. Analiz safhasında miyokard dokusu pH 7.5, 0.2 mM Tris-HCl tamponu içerisinde homojenizatör ile homojenize edildikten sonra homojenatın bir kısmı MDA (Draper ve Hadley 1990) ve NO (Cortas ve Wakid 1990) analizleri için ayrılmıştır. Homojenatın bir kısmı ise 3220 rpm hızla, 30 dakika boyunca, 6 °C sıcaklıktaki soğutmalı santrifüjde santrifüje edildi. SOD analizleri için süpernatanın 1/1 (v/v) oranında kloroform/etanol (3/5, v/v) ile karıştırılması ile elde edilen ekstrakt ayrıldı. Hesaplamalar için ölçüm yapılan tüm ara basamaklarda Lowry ve ark (1951)'ın metoduna göre protein ölçümü gerçekleştirildi.

2.2. Yöntem

2.2.1. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü

SOD (EC 1.15.1.1) enzim aktivitesi ölçümü Sun ve ark (1988)'ın yöntemine göre yapıldı. Bu yöntem ksantin / ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitro blue tetrazolium'u (NBT) indirgeyerek renkli formazon oluşturması esasına dayanmaktadır. Bu maksatla hazırlanan kör ve numune tüplerine 1425 μL assay reaktifi eklendi ve ardından, numune tüplerine 50 μL plazma ve kör tüpüne 50 μL distile su konuldu. Tüm tüplere 25'er μL XO enzimi ilavesi ile tüpler alt üst edilip 25º C'de 20 dakika inkübasyon sonu hemen tüm tüplere 500'er μL $CuCl_2$ ilavesi ile reaksiyonlar durduruldu. Distile suya karşı körden başlanarak 560 nm'de absorbansları okundu. Sonuçlar U/ml olarak ifade edildi.

2.2.2. MDA Miktarının Tayini

MDA seviyeleri Hammouda ve ark (1995)'nın metodu ile tiobarbitürik asit (TBA) reaktivitesi yöntemi kullanılarak ölçüldü. 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 G hızında 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatanlardan 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 ölçüldü. 1,1,3,3-tetramethoxypropane'nın değişik konsantrasyonları ile hazırlanan standart grafiğinden faydalanılarak μmol/L olarak hesaplandı.

2.2.3. Nitrik Oksit Miktarının Tayini

NO miktarı Cortas ve Wakid (1990)'in yöntemine göre ölçüldü. Spesifik olmayan reaksiyonların oluşmasını önlemek için homojenatlar önce deproteinize edilip daha sonra nitrit/nitrat konsantrasyonları griess reaksiyonu ile belirlendi. PH 9.7 olan glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmiyum granüllerinin deproteinize numune süpernatanı ile 90 dakikalık inkübasyon sonunda nitratın nitrite indirgenmesi sağlandı. Üretilen nitrit; sülfonilamid ve N-naphthyl ethylenedaimin (NNDA) reaksiyonu sonucu pembe renk oluşumuna yol açtı. Oluşan renk spektrofotometrede 545 ηm dalga boyunda okundu. Elde edilen nitrit konsantrasyonu ilk konsantrasyondan çıkarılarak nitrat miktarı belirlendi. Sonuçlar μmol/L olarak hesaplandı.

2.2.4. Total Tiyol (T-SH) Tayini

Total tiyol seviyeleri Hu'nun (1994) tanımladığı yönteme göre çalışıldı. Bu yöntem serbest tiyol gruplarının bazik ortamda DNTB ile sarı renkli bir bileşik oluşturması ve bu bileşiğin renginin 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak

ölçülmesi esasına dayanır. 0,2 M Na_2HPO_4 ve 0.002 M Na_2EDTA ile reaktif 1 hazırlandı. 0.2 M Na_2HPO_4 ve DTNB ile reaktif 2 hazırlandı. Reaktif 2'nin reaktif 1'e oranı 1/45 olarak sağlanacak şekilde karıştırıldıktan sonra uygun miktarda numune eklenerek oda ısısında 30 dakika bekletildi. Santrifüjde 15 dakika santrifüjasyon sonunda elde edilen süpernatan 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede köre karşı okundu. Sonuçlar μmol/L olarak hesaplandı.

2.2.5. İstatistisel Analiz

Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS v.11 paket programında yapıldı. Tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve gruplar arası karşılaştırma için *post hoc* Tukey's çapraz karşılaştırma testi uygulandı. $p<0,05$ için sonuçlar anlamlı kabul edildi.

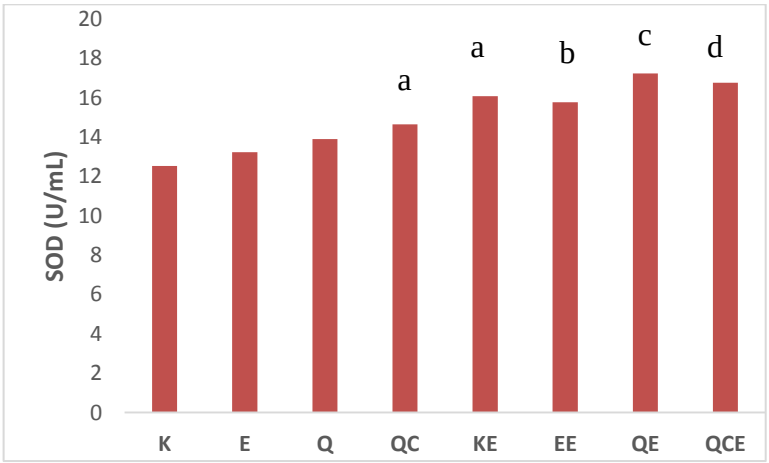
3. BULGULAR

3.1. Plazma SOD Aktivitesi

Egzersiz yaptırılan gruplar egzersiz yaptırılmayan gruplarla kıyaslandığında egzersiz yaptırılan tüm gruplarda plazma SOD aktivitesinde anlamlı artış bulundu. Egzersiz yaptırılmayan denekler içerisinde Kontrol grubunun SOD aktivitesi Kuersetin+CAPE grubuna göre daha düşüktü (p=0,06). Egzersiz yaptırılan denekler içerisinde araştırma grupları arasında SOD aktivitesi yönünden anlamlı farklılık görülmedi. Gruplar arasında yapılan diğer ikili karşılaştırmalarda anlamlı farklılık bulunmadı.

Çizelge 3.1**.** Araştırma grupları ve egzersize göre plazma SOD (U/ml) aktiviteleri

Gruplar	EGZERSİZ YAPTIRILMAYAN	EGZERSİZ YAPTIRILAN	p değeri
Kontrol	12,52±0,83	16,07±0,86	0,00
Etanol	13,22±0,85	15,75±1,58	0,00
Kuersetin	13,89±0,40	17,23±0,52	0,00
Kuersetin+CAPE	14,63±1,15	16,76±0,95	0,02



Şekil 3.1. Plazmada SOD aktivitesinin gruplara göre dağılımı

a: Kontrol'e göre, b: Etanol'e göre, c: Kuersetin'e göre, d: Kuersetin+CAPE'ye göre p<0,05

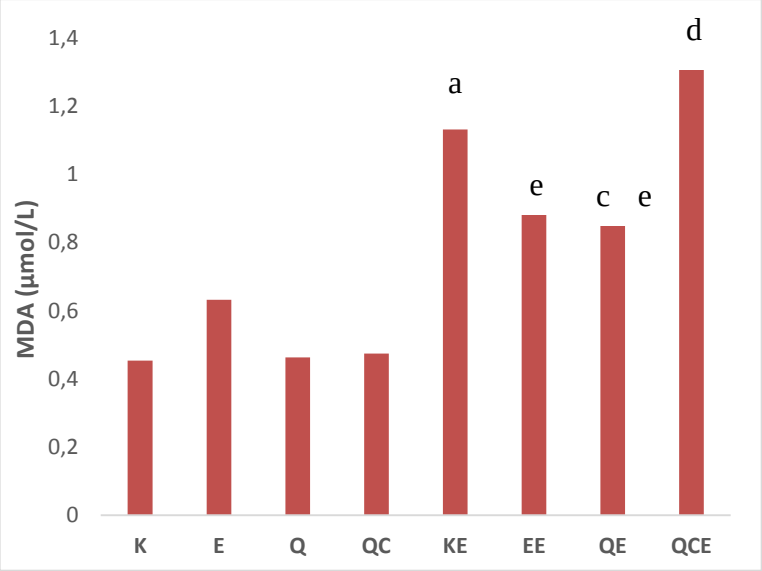
3.2. Plazma MDA (µmol/L) Düzeyleri

Kontrol grubu içerisinde egzersiz yaptırılan grup MDA düzeyi egzersiz yaptırılmayan gruba göre anlamlı yüksek görüldü (p=0,00). Etanol grubu içerisinde egzersiz yaptırılmayan grup ile egzersiz yaptırılan grup arasında MDA düzeyleri yönünden anlamlı fark görülmezken (p=0,53), etanol grubuna göre kontrol egzersiz ve kuersetin+CAPE+egzersiz grubunun MDA düzeyleri anlamlı yüksek görüldü (p=0,00 ve p=0,00). Kuersetin grubu içerisinde egzersiz yaptırılan grup MDA düzeyi egzersiz yaptırılmayan gruba göre anlamlı yüksek görüldü (p=0,22). Kuersetin+CAPE grubu içerisinde egzersiz yaptırılan grup MDA düzeyi egzersiz yaptırılmayan gruba göre anlamlı yüksek görüldü (p=0,00).

Egzersiz yaptırılmayan denekler içerisinde araştırma grupları arasında MDA düzeyleri yönünden anlamlı farklılık görülmedi. Egzersiz yaptırılan denekler içerisinde araştırma grupları arasında MDA düzeyleri yönünden anlamlı farklılık görüldü. Etanol grubunun MDA düzeyi kuersetin+Cape grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunurken (p=0,10) Kuersetin grubunun MDA düzeyi Kuersetin+CAPE grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulundu (p=0,00).

Çizelge 3.2 Araştırma grupları ve egzersize göre plazma MDA (µmol/L) düzeyleri

Gruplar	**EGZERSİZ YAPTIRILMAYAN**	**EGZERSİZ YAPTIRILAN**	**p değeri**
Kontrol	0,45±0,10	1,13±0,25	0,00
Etanol	0,63±0,18	0,94±0,32	0,05
Kuersetin	0,46±0,06	0,85±0,10	0,02
Kuersetin+CAPE	0,47±0,10	1,31±0,20	0,00



Şekil 3.2. Plazma MDA seviyelerinin gruplara göre dağılımı

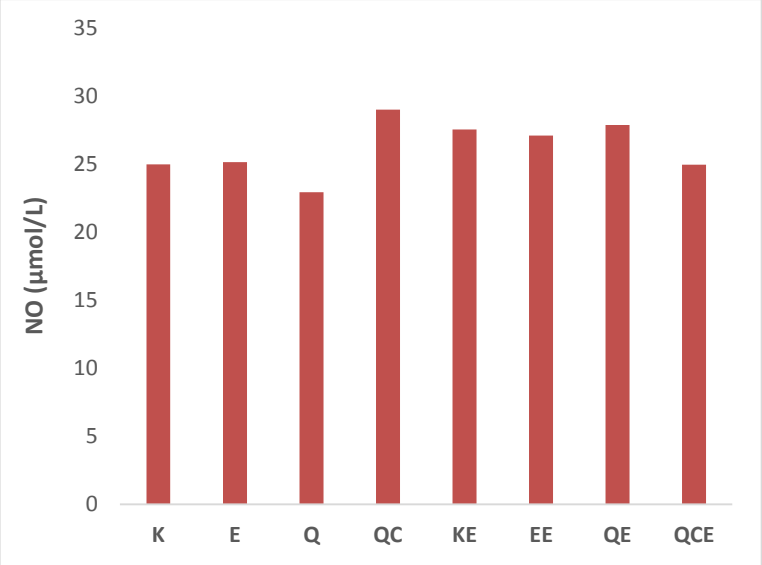
a: Kontrol'e göre, c: Kuersetin'e göre, d: Kuersetin+CAPE'ye göre, e: Kuersetin+CAPE Egzersiz'e göre $p<0,05$

3.3. Plazma NO (µmol/L) Düzeyleri

Egzersiz yaptırılan bütün gruplar egzersiz yaptırılmayanlarla kıyaslandığında plazma NO düzeylerinde anlamlı fark görülmedi. Egzersiz yaptırılan ve yaptırılmayan gruplar kendi içlerinde karşılaştırıldığında plazma NO düzeylerinde anlamlı fark görülmedi.

Çizelge 3.3. Araştırma grupları ve egzersize göre plazmada ölçülen NO (µmol/L) düzeyleri

Gruplar	EGZERSİZ YAPTIRILMAYAN	EGZERSİZ YAPTIRILAN	p değeri
Kontrol	25,01±5,19	25,57±5,89	0,99
Etanol	25,18±7,51	27,12±7,39	0,99
Kuersetin	22,96±3,35	27,91±9,18	0,86
Kuersetin+CAPE	29,04±4,64	24,97±4,45	0,90



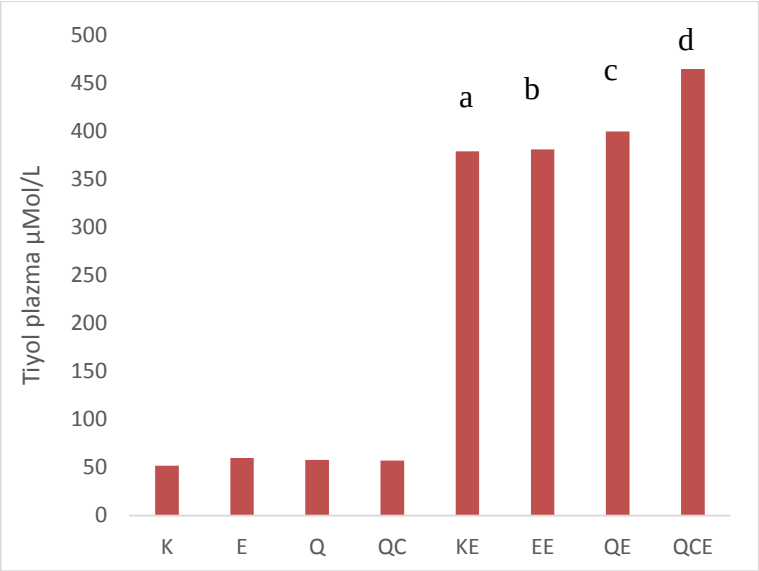
Şekil 3.3. Plazma NO düzeylerinin gruplara göre dağılımı

3.4. Plazma Tiyol (µmol/L) Düzeyleri

Egzersiz yaptırılan bütün gruplar egzersiz yaptırılmayanlarla karşılaştırıldığında egzersiz gruplarının hepsinde plazma tiyol düzeylerinde anlamlı artış görüldü (p=0,00). Egzersiz yaptırılan ve yaptırılmayan gruplar kendi içlerinde karşılaştırıldığında plazma tiyol düzeyleri yönünden anlamlı farklılık görülmedi.

Çizelge 3.4. Araştırma grupları ve egzersize göre plazmada ölçülen tiyol (µmol/L) düzeyleri

Gruplar	EGZERSİZ YAPTIRILMAYAN	EGZERSİZ YAPTIRILAN	p değeri
Kontrol	51,92±19,26	379,24±99,26	0,00
Etanol	59,93±11,10	381,39±101,86	0,00
Kuersetin	57,96±18,51	400,07± 68,12	0,00
Kuersetin+CAPE	57,29±15,72	467,01±119,86	0,00



Şekil 3.4. Plazma tiyol seviyelerinin gruplara göre dağılımı

a: Kontrol'e göre, b: Etanol'e göre, c: Kuersetin'e göre, d: Kuersetin+CAPE'ye göre $p<0,05$

3.5. Miyokard Dokusu SOD (U/mg protein) Aktiviteleri

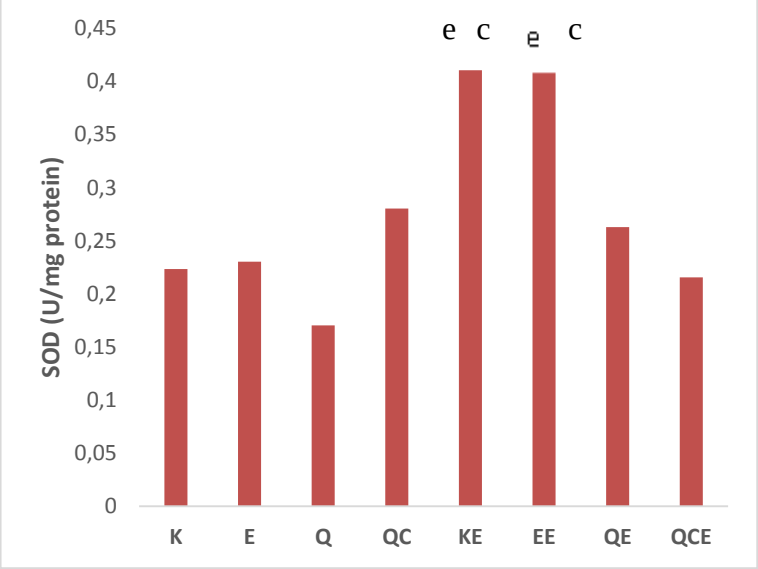
Egzersiz yaptırılan gruplar egzersiz yaptırılmayan gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmedi ($p> 0,05$).

Egzersiz yaptırılmayan denekler içerisinde araştırma grupları arasında doku SOD aktiviteleri yönünden anlamlı farklılık görülmedi. Egzersiz yaptırılan denekler içerisinde araştırma grupları arasında doku SOD aktiviteleri yönünden anlamlı farklılık görüldü. Kontrol grubunun doku SOD aktivitesi kuersetin+CAPE grubuna göre anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,043$). Etanol grubunun doku SOD aktivitesinde kuersetin+CAPE grubuna göre anlamlı artış görüldü ($p=0,021$).

Gruplar arasında yapılan diğer ikili karşılaştırmalarda kontrol egzersiz ve etanol egzersiz gruplarının doku SOD aktiviteleri kuersetin grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek görüldü ($p=0,022$ ve $p=0,011$).

Çizelge 3.5. Araştırma grupları ve egzersize göre dokudan alınan SOD (U/mg protein) aktiviteleri

Gruplar	EGZERSİZ YAPTIRILMAYAN	EGZERSİZ YAPTIRILAN	p değeri
Kontrol	0,22±0,07	0,41±0,18	0,10
Etanol	0,23±0,07	0,42±0,18	0,07
Kuersetin	0,17±0,05	0,26±0,11	0,88
Kuersetin+CAPE	0,28±0,06	0,21±0,82	0,96



Şekil 3.5. Miyokard dokusunda SOD aktivitelerinin gruplara göre dağılımı

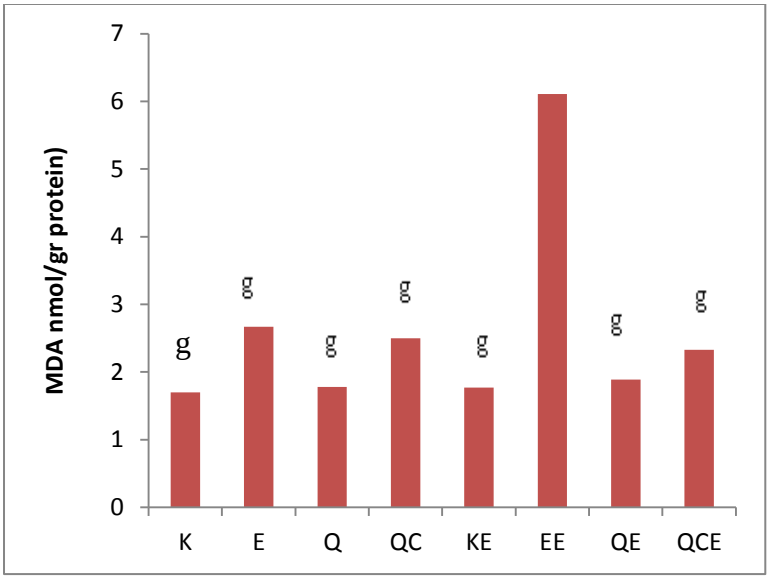
c: Kuersetin'e göre, e: Kuersetin+CAPE Egzersiz'e göre p<0,05

3.6.Miyokard Dokusu MDA (nmol/g protein) Düzeyleri

Etanol egzersiz grubu MDA düzeylerinde kontrol, etanol, kuersetin, kuersetin+CAPE, kontrol egzersiz, kuersetin+egzersiz ve kuersetin+CAPE egzersiz gruplarına göre anlamlı artış gözlendi (0,00).

Çizelge 3.6. Araştırma grupları ve egzersize göre doku MDA (nmol/g protein) düzeyleri

Gruplar	EGZERSİZ YAPTIRILMAYAN	EGZERSİZ YAPTIRILAN	p değeri
Kontrol	1,77±0,26	1,77±0,46	0,99
Etanol	2,67±1,46	6,11±2	0,00
Kuersetin	1,78±0,49	1,89±0,63	0,99
Kuersetin+CAPE	2,50±0,78	2,33±0,49	0,99



Şekil 3.6. Miyokard dokusu MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı

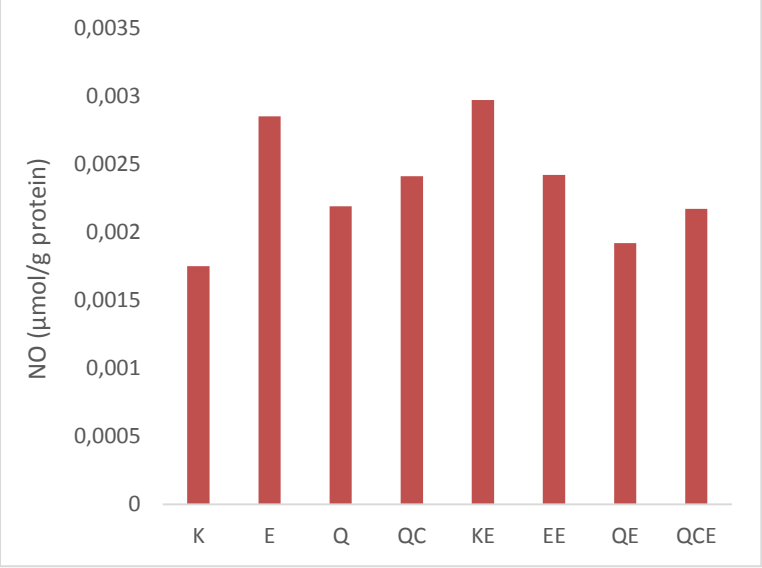
g: Etanol Egzersiz'e göre $p<0,05$

3.8. Miyokard Dokusu NO (µmol/g protein) Düzeyleri

Egzersiz yaptırılan bütün gruplar egzersiz yaptırılmayanlarla karşılaştırıldığında NO düzeylerinde anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Egzersiz yaptırılan ve yaptırılmayan gruplar kendi içlerinde kıyaslandıklarında da anlamlı fark gözlenmedi.

Çizelge 3.8. Araştırma grupları ve egzersize göre doku NO (µmol/g protein) düzeyleri

Gruplar	EGZERSİZ YAPTIRILMAYAN	EGZERSİZ YAPTIRILAN	p değeri
Kontrol	0,00±0,00	0,00±0,00	0,40
Etanol	0,00±0,00	0,00±0,00	0,99
Kuersetin	0,00±0,00	0,00±0,00	1,00
Kuersetin+CAPE	0,00±0,00	0,00±0,00	1,00



Şekil 3.8. Miyokard dokusunda NO'in gruplara göre dağılımı

4.TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında sıçan kronik yüzme egzersiz modelinde kuersetin ve kuersetin+CAPE'nin miyokard dokusunda oksidan/antioksidan dengeye etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Literatüre baktığımızda, doğada yaygın olarak bulunan bir flavonoid olan kuersetinin (İkizler ve ark 2007) ve propolisin etken moleküllerinden olan CAPE'nin antioksidan aktivitesine (Okutan ve ark 2005) dair güvenilir veriler bulunmakla beraber bildiğimiz kadarıyla, kronik egzersiz sürecinde kuersetin ve CAPE'nin birlikte uygulanarak miyokard dokusunda redoks dengesine etkilerine dair çalışma bulunmamaktadır.

Egzersizin indüklediği oksidatif streste, yapılan egzersizin niteliği ve şiddeti önem arz etmektedir. Akut egzersiz oksidatif hasarı arttırırken, kronik egzersizin sağlığa faydaları aşikârdır. Kronik egzersiz neticesinde, SR'lerin oluşumu ile oksidan/antioksidan dengenin bozulmasıyla oksidatif stres ortaya çıkarken diğer yandan egzersiz ile oluşan oksidatif stresin zararlı etkilerinin azaltılması için endojen antioksidan enzimler etkili hale getirilir. Gelişen bu adaptasyon sonucu redoks dengesi kurulmuş olur. Son zamanlarda eksojen antioksidan kullanımı yaygınlaşmıştır, fakat yapılan çalışmalarda sözü edilen moleküllerin, egzersizin indüklediği oksidatif streste antioksidan aktivite gösterdikleri (Haleagraha ve ark 2009) gibi pro-oksidan etki göstererek oksidatif hasara sebep olabildikleri de bildirilmiştir (Choi ve ark 2005).

SOD'un antioksidan savunma sistemi içerisinde en önemli enzim olduğu düşünülür. Bu yüzden SOD, ROS metabolizması içinde ilk sırada yer almaktadır (Ookawara ve ark 2003). Literatüre baktığımızda, kronik egzersiz modeli kullanılan hayvanlarda SOD enzim akivitesinin arttığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Rosety-Rodriguez ve ark 2012, Miyazaki ve ark 2001, Lima ve ark 2013). Farklı yaş gruplarındaki insan çalışmalarına bakıldığında da benzer sonuçlarla karşılaşılmıştır (Gönenç ve ark 2000, Ohno ve ark 1992). Bizim çalışmamızda, önceki çalışmalarla uyumlu şekilde kronik yüzme egzersiziyle SOD enzim aktivitesinde artış gözlenmiştir.

Egzersiz yaptırılmayan hayvanlarda kuersetin+CAPE grubu plazma SOD aktivitesinde anlamlı artış görülürken, kuersetin grubunda olmaması dikkat çekicidir. Bu sonuçtan hareketle kuersetinin CAPE ile birlikte uygulamasının, tek başına

uygulamasına göre sedanter hayvanlarda antioksidan savunmayı desteklemede daha etkili olduğu, rutin diyette kuersetin+CAPE'nin antioksidan özelliğinden dolayı gıda takviyesi olarak kullanılabileceği söylenebilir. Egzersiz yaptırılan kuersetin ve kuersetin+CAPE grubunda ise bu yönde anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Bu bağlamda kuersetin+CAPE'nin sedanter hayvanlarda antioksidan savunmayı desteklerken, 4 haftalık kronik yüzme egzersizinin indüklediği oksidatif streste pro-oksidan ya da antioksidan olarak etki etmediği söylenebilir.

Literatürde kronik egzersizin miyokard dokusu SOD aktivitelerini arttırdığı (Kakarla ve ark 2005) yönünde çalışmalar olmakla beraber, SOD aktivitesinde değişikliğin gözlenmediğini rapor eden çalışmalar da mevcuttur (Ji 1993, Gul ve ark 2006, da Rocha ve ark 2010, Ahmadiasl ve ark 2007). Sedanter hayvanlarda miyokard dokusunda kuersetin ve kuersetin+CAPE gruplarında anlamlı değişiklik gözlenmezken, egzersiz yaptırılan hayvanlarda kuersetin+CAPE grubu SOD aktivitesinde anlamlı azalma gözlenmesi dikkat çekicidir. Buradan yola çıkarak kuersetin ve CAPE'nin radikal temizleyici etkisinden dolayı miyokard dokusunda kronik egzersizle artmış halde bulunan endojen antioksidan aktivite içinde SOD'un rölatif payı azalmış olduğundan, SOD aktivitesinde düşüş görülmüş olduğunu söyleyebiliriz.

Genel manada bakıldığında 4 haftalık kronik yüzme egzersizi, oksidatif strese neden olup plazma antioksidan enzim aktivitesini arttırırken, miyokardın özel yapısı dolayısı ile oksidatif strese karşı daha dirençli olduğu söylenebilir. Gelecekte miyokardın antioksidan kapasitesinin değerlendirileceği çalışmalarda kronik egzersizin süresinin arttırılması, oksidatif hasar belirteçlerini ve antioksidan enzim aktivitelerini değerlendirmede daha etkili olabilir.

MDA lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden birisidir ve oksidatif stres belirteci olarak kullanılır. Birçok çalışmada kronik egzersiz sonrası MDA'nın arttığı gösterilmiştir (Ilhan ve ark 2004, Tauler ve ark 2008, Dağlıoğlu 2009). Bunun yanında azaldığını (Belviranlı ve ark 2012, (Gonenc ve ark 2000) ya da değişmediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Demirayak 2011, Lima ve ark 2012). Çalışmamızda plazma MDA seviyelerinde artış olması kronik egzersizin oksidatif strese sebep olarak lipid peroksidasyonu oluşturduğunu gösterir. Egzersiz yaptırılan hayvanlarda kontrol grubuyla kıyaslandığında kuersetin ve

kuersetin+CAPE grupları MDA değerlerinde anlamlı değişiklik olmaması her iki maddenin de egzersizin indüklediği oksidatif strese olumlu ya da olumsuz etki etmediğini gösterir.

Egzersizin miyokard dokusunda MDA düzeylerini arttırdığını gösteren çalışmalar olmakla beraber (Aydin ve ark 2007, Liu ve ark 2000,Miyazaki 2001), MDA düzeylerini değiştirmediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Gul ve ark 2006, Ahmediasl ve ark 2007). Mevcut çalışmada, miyokard dokusunda sadece etanol egzersiz grubunun MDA değerlerinde anlamlı artış olmuş diğer egzersiz gruplarında anlamlı değişiklik gözlenmemiştir. Bu da 4 haftalık kronik yüzme egzersizinin miyokard dokusunda kısmen oluşan oksidatif hasara karşı endojen antioksidan sistemi aktive etmekle birlikte, lipid membranlarında hasara neden olacak kadar şiddetli oksidatif stres oluşturmaya yetmediğini gösterebilir. Bu bağlamda MDA açısından kuersetin ve kuersetin+CAPE'nin pro-oksidan ya da antioksidan etkinliğini gözlemleme olanağı bulunamamıştır.

Endojen olarak üretilen NO düşük konsantrasyonlarda immünite, vasküler tonus ve nöronal ileti gibi birçok fizyolojik olayın düzenlenmesinde önemli rol oynarken, konsantrasyonunun artmasıyla oksidasyonu hızlanır ve çeşitli RNS türleri oluşur. Literatüre baktığımızda çelişkili sonuçlara rastlanmaktadır (Belviranlı ve ark 2012, Balcı ve Pepe 2012, Zembron-Lacny ve ark 2010, Taylan-Deveden 2011). Bizim çalışmamızda kronik egzersiz plazma ve miyokard dokusunda NO seviyeleri üzerinde herhangi bir etki oluşturmazken, kuersetin ve kuersetin+CAPE'nin de NO seviyelerinde anlamlı değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir.

Plazma tiyol düzeyleri çalışmalarda oksidatif stres belirteci olarak da gösterilmektedir. Bazı egzersiz modellerinde total tiyol seviyelerinde azalma bildirilmiştir (Anuradha ve Balakrishnan 1998, Zinellu ve ark 2007). Bizim çalışmamızda egzersiz yaptırılan gruplarda plazma tiyol düzeylerinin artması oluşan protein oksidasyonunun göstergesidir. Böylelikle endojen antioksidan enzim aktivitesinde dolayısı ile tiyol seviyelerinde artış gözlenmiştir. Sedanter ve egzersiz grupları kendi içlerinde mukayese edildiğinde kuersetin ve/veya kuersetin+CAPE'nin oluşan protein oksidasyonuna karşı pro-oksidan ya da antioksidan etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Verilerimizin önceki egzersiz çalışmalarından farklı olması egzersizin süresi ve şiddetiyle ilgili olabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Egzersize bağlı doku hasarının önemli nedenlerinden biri oksidatif strestir. Tıbbi literatürde miyokard dokusunda kronik egzersizle değişen redoks dengesine, son yıllarda yaygın olarak kullanılan eksojen antioksidanlardan olan kuersetin ve CAPE'nin etkisi net değildir.

Mevcut çalışmamızda kuersetin+CAPE'nin SOD aktivitesini güçlendirdiği ve kronik egzersiz yaptırılan hayvanlarda plazma redoks dengesini değiştirmediği gözlenmiştir. Egzersiz sürecinde kuersetin ve /veya kuersetin+CAPE uygulamasının lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonuna karşı pro-oksidan ya da antioksidan etkisi olmamıştır. Sedanter hayvanlarda kuersetin+CAPE uygulamasının SOD enzim aktivitesini arttırması rutin diyette kuersetin+CAPE'nin kuersetine göre antioksidan etki açısından üstün olduğunu gösterebilir. Bu bağlamda kuersetin+CAPE'nin antioksidan özelliğinden dolayı gıda takviyesi olarak kullanılmasının sağlığa faydalı olacağı söylenebilir.

Miyokard dokusunda egzersiz yaptırılan gruplarda kuersetin+CAPE'nin SOD aktivitelerini anlamlı derecede azaltması, kuersetin ve CAPE'nin radikal temizleyici etkisinden dolayı miyokardda kronik egzersizle kısmen de olsa artmış halde bulunan endojen antioksidan aktivite içinde SOD'un rölatif payı azalmış olduğundan, SOD aktivitesinde düşüş görülmüş olabilir.

Sonuç olarak miyokard dokusunda antioksidan savunmanın tepkilerini harekete geçirmek için egzersizin süresi önemlidir. Farklı dokular aynı nitelikte antrenmana farklı tepkiler göstermektedir. Gelecekte miyokardın antioksidan kapasitesinin değerlendirileceği çalışmalarda kronik egzersizin süresinin arttırılması, oksidatif hasar belirteçlerini ve antioksidan enzim aktivitelerini değerlendirmede daha etkili olabilir.

6.ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUERSETİN VE KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN (CAPE) SIÇAN KRONİK YÜZME EGZERSİZ MODELİNDE MİYOKARDIN OKSİDAN/ANTİOKSİDAN DENGESİNE ETKİLERİ

Zehra ÇALIŞ

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi/KONYA-2014

Kuersetin; çeşitli meyve ve sebzelerde; kafeik asit fenetilester (CAPE) ise propolis (arı reçinesi) ekstresinde yaygın olarak bulunan doğal biyolojik aktif bileşiklerdir. Egzersiz sırasında artan oksijen tüketimi reaktif oksijen türlerinin oluşumuyla sonuçlanır. Pro-oksidanlar ile anti-oksidanlar arasındaki dengenin pro-oksidanlar yönünde değişmesi ise oksidatif stres olarak adlandırılır. Kuersetin ve CAPE egzersizin indüklediği oksidatif stresle mücadelede faydaları bilinen iki bileşik olmasına karşın –bildiğimiz kadarıyla– kronik yüzme egzersizi modelinde söz konusu iki maddenin birlikte uygulanmasının miyokard dokusunda redoks durumuna etkilerini değerlendiren bir araştırma yapılmamıştır.

Bu çalışmamızda wistar albino tipi erkek sıçanların 4 hafta boyunca, haftanın 5 günü, günde 1 saat süreyle yüzdürülmesine dayanan kronik yüzme egzersizi modelinde kuersetin ve kuersetin+CAPE'nin oksidatif parametreler üzerine etkisi araştırıldı. Bu amaçla hayvanlar önce egzersiz yaptırılan ve yaptırılmayan olmak üzere iki gruba ayrıldı. Daha sonra ise her iki grupta kontrol, etanol, kuersetin ve kuersetin+CAPE olmak üzere alt gruplar oluşturuldu. Her egzersiz seansını takiben kontrol gruplarına 10 µmol/kg i.p. serum fizyolojik, etanol gruplarına % 40'lık 1 ml/kg i.p. etanol, kuersetin gruplarına 150 µmol/kg i.p. kuersetin ve kuersetin+CAPE gruplarına 150 µmol/kg i.p. kuersetin ve 10 µmol/kg i.p. CAPE verildi.

Çalışma sonunda egzersiz yaptırılan grupta kronik egzersize bağlı oksidatif strese yanıt olarak plazma süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA) ve tiyol seviyelerinin egzersiz yaptırılmayan gruba kıyasla artış sergilediği, nitrikoksit (NO) değerlerinde anlamlı bir değişimin olmadığı, miyokard dokusunda ise SOD, MDA ve NO değerlerinde egzersizle anlamlı bir artış olmadığı gözlendi. Sedanter sıçanların plazma SOD aktiviteleri karşılaştırıldığında kuersetin+CAPE grubunda anlamlı artış gözlendi, miyokard dokusunda ise egzersiz yaptırılan sıçanlar kendi içlerinde kıyaslandıklarında kuersetin+CAPE'nin SOD aktivitelerini anlamlı derecede azalttığı bulundu. Kuersetin ve kuersetin+CAPE'nin plazma MDA ve tiyol seviyelerine anlamlı bir etkisi gözlenmedi.

Anahtar Sözcükler: CAPE; kronik yüzme egzersizi; kuersetin; oksidatif stres

7.SUMMARY

EFFECTS OF QUERCETIN AND CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER ON CHRONIC SWIMMING EXERCISE INDUCED MYOCARDIUM OXIDANT AND ANTIOXIDANT BALANCE IN RATS

Quercetin and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) are both natural biological active components. Quercetin is abundant in many fruits and vegetables, CAPE is commonly found in propolis extract. Elevated oxygen consumption during exercise results ROS generation. Changing the balance between prooxidants and antioxidants in the direction of prooxidants is named as oxidative stress. The beneficial effects of these components in the conflict of exercise induced oxidative stres are known but as we know there isn't any investigation that evaluates both effects of quercetin and CAPE in chronic swimming exercise model in myocard tissue redox status.

In this study we investigated the effects of quercetin and CAPE on oxidative stres parameters in wistar albino rats by chronic swimming exercise model (1h/day, 5days/week along 4 weeks). Rats were seperated into 2 groups as trained and untrained and then subgroups were generated as control, ethanol, quercetin and quercetin+ CAPE. After every exercise bout 10 µmol/kg i.p.serum physiologic (SF) for control groups, 1 ml/kg i.p. ethanol (40%) for ethanol groups, 150 µmol/kg i.p. quercetin for quercetin groups, 150 µmol/kg i.p. quercetin and 10 µmol/kg i.p. CAPE for quercetin+ CAPE groups were given.

At the end of this study, when we compare trained groups with untrained groups significantly increase in plasma superoxide dismutase (SOD) activity, malondialdehit (MDA) and thiol levels, any significant change in NO levels were observed. In myocard tissue there wasn't any significant increase in SOD, MDA and NO levels. When compared the untrained groups plasma SOD activity there have been a significant increase in quercetin+CAPE group. Also when trained rats compared in their own quercetin +CAPE decreased myocard tissue SOD activity significantly. There wasn't observed any significant effect of quercetin and quercetin+CAPE in plasma MDA and thiol levels.

Key Words: CAPE; chronic swimming exercise; quercetin; oxidative stres

8. KAYNAKLAR

Ahmadiasl N, Soufi FG, Alipour M, Bonyadi M, Sheikhzadeh F, Vatankhah A, Salehi I, Mesgari M. Effects of age increment and 36-week exercise training on antioxidant enzymes and apoptosis in rat heart tissue. J Sports Sci Med. 2007;6(2): 243–9.

Alexander SPH. Flavonoids as antagonists at A1 adenosine receptors. Phytother Res. 2006;20(11): 1009–12.

Anuradha CV, Balakrishnan SD. Effect of training on lipid peroxidation, thiol status and antioxidant enzymes in tissues of rats. Ind J Physiol Pharmacol. 1998;42(1):64–70.

Atmaca G. Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. Yonsei Med J. 2004;45(5): 776–88.

Aydin C, Ince E, Koparan S, Cangul IT, Naziroglu M, Ak F. Protective effects of long term dietary restriction on swimming exercise-induced oxidative stress in the liver, heart and kidney of rat. Cell Biochem Funct. 2007;25(2): 129–37.

Balcı SS, Pepe H. Effects of gender, endurance training and acute exhaustive exercise on oxidative stress in the heart and skeletal muscle of the rat. Chin J Physiol. 2012;55(4): 236–44.

Bankova V. Chemical diversity of propolis makes it a valuable source of new biologically active compounds. J ApiProd ApiMed Sci. 2009;1(2): 23–8.

Belviranlı M, Gökbel H, Okudan N, Başaralı K. Effects of grape seed extract supplementation on exercise-induced oxidative stress in rats. Br J Nutr. 2012;108(2): 249–56.

Bieger J, Cermak R, Blank R, de Boer, Vincent C J, Hollman, Peter C H, Kamphues J, Wolffram S. Tissue distribution of quercetin in pigs after long-term dietary supplementation. J Nutr. 2008;138(8): 1417–20.

Bloomer RJ, Goldfarb AH. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. Can J Appl Physiol. 2004;29(3): 245–63.

Boots AW, Haenen GR, Bast A. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. Europ J Pharmacol 2008;585(2-3): 325–37.

Brewer MS. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2011;10(4): 221–47.

Buonocore G, Perrone S, Tataranno ML. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. Semin Fetal Neonatal Med. 2010;15(4): 186–90.

Cao G, Giovanoni M, Prior RL. Antioxidant capacity in different tissues of young and old rats. Proc Soc Exp Biol Med. 1996;211(4): 359–65.

Carvalho JF, Masuda M. O. and Pompeu FAMS. Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate thereshold. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2005;140(4):409-13.

Chander V, Singh D, Chopra K. Catechin, a natural antioxidant protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. Pharmacol Res. 2003;48(5): 503–9.

Chaudhary A, Pechan T, Willett KL. Differential protein expression of peroxiredoxin I and II by benzo(a)pyrene and quercetin treatment in 22Rv1 and PrEC prostate cell lines. Toxicol Appl Pharmacol. 2007;220(2): 197–210.

Chen M, Chang W, Lin C, Liu C, Wang T, Chu C, Shih S, Chen Y. Caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis of human pancreatic cancer cells involving caspase and mitochondrial dysfunction. Pancreatology. 2008;8(6): 566–76.

Choi EJ, Lee BH, Lee K, Chee K. Long-term combined administration of quercetin and daidzein inhibits quercetin-induced suppression of glutathione antioxidant defenses. Food Chem. Toxicol. 2005;43(5): 793–8.

Cicala C, Morello S, Iorio C, Capasso R, Borrelli F, Mascolo N. Vascular effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on isolated rat thoracic aorta. Life Sci. 2003;73(1): 73–80.

Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? Am J Clin Nutr. 2000;72(2): 637-46.

Comalada M, Camuesco D, Sierra S, Ballester I, Xaus J, Gálvez J, Zarzuelo A. In vivo quercitrin anti-inflammatory effect involves release of quercetin, which inhibits inflammation through down-regulation of the NF-kappaB pathway. Eur J Immunol. 2005;35(2): 584–92.

Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. Clin Chem. 1990;36: 1440–3.

Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. Pharmacol Res. 2005;51(2): 117–23.

Crane E. Bees and beekeeping, Heinemann Newnes 1990.

Cureton KJ, Tomporowski PD, Singhal A, Pasley JD, Bigelman KA, Lambourne K, Trilk JL, McCully KK, Arnaud MJ, Zhao Q. Dietary quercetin supplementation is not ergogenic in untrained men. J Appl Physiol. 2009;107(4): 1095–104.

Cureton KJ, Warren GL, Millard-Stafford ML, Wingo JE, Trilk J, Buyckx M. Caffeinated sports drink: ergogenic effects and possible mechanisms. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 2007;17(1): 35–55.

da Cunha-Fernanda M, Duma D, Assreuy J, Buzzi FC, Niero R, Campos MM, Calixto JB. Caffeic acid derivatives: in vitro and in vivo anti-inflammatory properties. Free Radic Res. 2004;38(11): 1241–53.

da Rocha RF, de Oliveira, Marcos Roberto, de Bittencourt Pasquali, Matheus Augusto, Andrades MÉ, Oliveira, Max William Soares, Behr GA, Moreira, José Cláudio Fonseca. Vascular redox imbalance in rats submitted to chronic exercise. Cell Biochem Funct. 2010;28(3): 190–6.

Dağlıoğlu Ö. Elit Yüzücülerde ve Sedanterlerde Aerobik ve Anaerobik Egzersizin Oksidatif Stres Üzerine Etkisi ve Pon1 Gen Polimorfizminin Araştırılması. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı, İstanbul, Doktora Tezi 2009.

Dalle-Donne I, Scaloni A, Giustarini D, Cavarra E, Tell G, Lungarella G, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Proteins as biomarkers of oxidative/nitrosative stress in diseases: the contribution of redox proteomics. Mass Spectrom Rev. 2005;24(1): 55–99.

Davis JM, Murphy EA, Carmichael MD, Davis B. Quercetin increases brain and muscle mitochondrial biogenesis and exercise tolerance. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2009; 296(4): 1071-7.

de Boer- Vincent CJ, Dihal AA, van der Woude, Hester, Arts, Ilja C W, Wolffram S, Alink GM, Rietjens, Ivonne M C M, Keijer J, Hollman, Peter C H. Tissue distribution of quercetin in rats and pigs. J Nutr. 2005;135(7): 1718–25.

Deaton CM, Marlin DJ. Exercise-associated oxidative stress. Clinical Techniques in Equine Practice 2003;2(3): 278–91.

Demirayak DI. Egzersiz yapan sıçanlarda oksidatif stres ve paraoksonaz enzimi. Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı. Denizli, Yüksek Lisans Tezi 2007.

Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Meth Enzymol. 1990;186: 421–31.

Edwards RL, Lyon T, Litwin SE, Rabovsky A, Symons JD, Jalili T. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. J Nutr. 2007;137(11): 2405–11.

Elosua R, Molina L, Fito M, Arquer A, Sanchez-Quesada JL, Covas MI, Ordoñez-Llanos J, Marrugat J. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. Atherosclerosis. 2003;167(2): 327–34.

Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress. Sports Med. 2006;36(4): 327–58.

Fitzpatrick LR, Wang J, Le T. Caffeic acid phenethyl ester, an inhibitor of nuclear factor-kappaB, attenuates bacterial peptidoglycan polysaccharide-induced colitis in rats. J Pharmacol Exp Ther. 2001;299(3): 915–20.

Flora-Swaran J. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. Oxid Med Cell Longev. 2009;2(4): 191–206.

Frasier CR, Sloan RC, Bostian PA, Gonzon MD, Kurowicki J, Lopresto SJ, Anderson EJ, Brown DA. Short-term exercise preserves myocardial glutathione and decreases arrhythmias after thiol oxidation and ischemia in isolated rat hearts. J Appl Physiol. 2011;111(6): 1751–9.

Gilbert DL, Colton CA. Reactive oxygen species in biological systems. An interdisciplinary approach. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 1999.

Gomez-Cabrera M, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. Free Radic Biol Med. 2008;44(2): 126–31.

Gonenc S, Acikgoz O, Semin I, Ozgonul H. The effect of moderate swimming exercise on antioxidant enzymes and lipid peroxidation levels in children. Indian J Physiol Pharmacol. 2000;44(3): 340–4.

Gul M, Demircan B, Taysi S, Oztasan N, Gumustekin K, Siktar E, Polat MF, Akar S, Akcay F, Dane S. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology 2006;143(2): 239–45.

Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem. 1995;41(12): 1819–28.

Haleagrahara N, Radhakrishnan A, Lee N, Kumar P. Flavonoid quercetin protects against swimming stress-induced changes in oxidative biomarkers in the hypothalamus of rats. Eur J Pharmacol. 2009;621(1-3): 46–52.

Halliwell B. Free radicals and metal ions in health and disease. Proc Nutr Soc. 1987;46(1): 13–26.

Halliwell B. How to characterize an antioxidant: an update. Biochem Soc Symp. 1995;61: 73–101.

Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys. 1990;280(1): 1–8.

Halliwell B ve Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. 4th ed. Oxford, New York: Oxford University Press, 2007.

Hammouda AR, Khalil MM, Salem A. Lipid peroxidation products in pleural fluid for separation of transudates and exudates. Clin Chem. 1995;41(9): 1314–5.

Harnly JM, Doherty RF, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Bhagwat S, Gebhardt S. Flavonoid content of U.S. fruits, vegetables, and nuts. J Agric Food Chem. 2006;54(26): 9966–77.

Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca JF, Flamm GW, Williams GM, Lines TC. A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. Food and Chemic.Toxicol. 2007;45(11): 2179–205.

Hayes K, Sprague S, Guo M, Davis W, Friedman A, Kumar A, Jimenez DF, Ding Y. Forced, not voluntary, exercise effectively induces neuroprotection in stroke. Acta Neuropathol. 2008;115(3): 289–96.

Hoene M, Franken H, Fritsche L, Lehmann R, Pohl AK, Häring HU, Zell A, Schleicher ED, Weigert C. Activation of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signalling pathway in the liver of mice is related to plasma glucose levels after acute exercise. Diabetologia. 2010;53(6): 1131–41.

Hu ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. Meth Enzymol. 1994; 233: 380–5.

Ikizler M, Erkasap N, Dernek S, Kural T, Kaygisiz Z. Dietary polyphenol quercetin protects rat hearts during reperfusion: enhanced antioxidant capacity with chronic treatment. Anadolu Kardiyol Derg. 2007;7(4): 404–10.

Ilhan N, Kamanli A, Ozmerdivenli R, Ilhan N. Variable effects of exercise intensity on reduced glutathione, thiobarbituric acid reactive substance levels, and glucose concentration. Arch Med Res 2004;35(4): 294–300.

Inal M, Akyüz F, Turgut A, Getsfrid WM. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. Med Sci Sports Exerc. 2001;33(4): 564–7.

Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. Med Sci Sports Exerc. 1993;25(2): 225–31.

Ji LL ve Hollander J. Antioxidant defence: Effects of aging and exercise, free radicals in exercise and aging (Radak Z, Eds). Human Kinetics. USA, Human Kinetics; 2000.

Jin F, Nieman DC, Shanely RA, Knab AM, Austin MD, Sha W. The variable plasma quercetin response to 12-week quercetin supplementation in humans. Eur J Clin Nutr. 2010;64(7): 692–7.

Jones AM, Carter H. The effect of endurance training on parameters of aerobic fitness. Sports Med. 2000;29(6): 373–86.

Kakarla P, Vadluri G, Sathyavelu Reddy K, Leeuwenburgh C. Vulnerability of the mid aged rat myocardium to the age-induced oxidative stress: Influence of exercise training on antioxidant defense system. Free Radic Res. 2005;39(11): 1211–7.

Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. APMIS. 2007;115(2): 81–103.

Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. Crit Rev Toxicol. 1993;23(1):21–48.

Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. HacettepeTıp Dergisi 2002;33(2): 110–8.

Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, Aydinç M, Karaman A, Gültek A, Akyol O, Gürsoy MH, Aydin E. Caffeic acid phenethyl ester prevents intestinal reperfusion injury in rats. J Pediatr Surg. 1999;34(10): 1458–62.

Kühnau J. The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. World Rev Nutr Diet. 1976;24: 117–91.

Leeuwenburgh C, Heinecke JW. Oxidative stress and antioxidants in exercise. Curr Med Chem. 2001;8(7): 829–38.

Lima MC, Marks G, Silva IS, Silva BAK, Cônsolo LZZ, Nogueira GB. Evaluation of oxidative stress in mice subjected to aerobic exercise. Acta Cir Bras. 2012;27(8):544–51.

Lima FD, Stamm DN, Della-Pace ID, Dobrachinski F, de Carvalho NR, Royes LFF. Swimming Training Induces Liver Mitochondrial Adaptations to Oxidative Stress in Rats Submitted to Repeated Exhaustive Swimming Bouts. Plos One. 2013;8(2):556-68.

Liu J, Yeo HC, Overvik-Douki E, Hagen T, Doniger SJ, Chyu DW, Brooks GA, Ames BN, Chu DW. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. J Appl Physiol. 2000;89(1): 21–8.

Liu S, Hou W, Yao P, Zhang B, Sun S, Nüssler AK, Liu L. Quercetin protects against ethanol-induced oxidative damage in rat primary hepatocytes. Toxicol In Vitro. 2010;24(2): 516–22.

Lowry OH, Rosenbrough, N. J., Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193(1): 265–5.

MacRae- Holden SH, Mefferd KM. Dietary antioxidant supplementation combined with quercetin improves cycling time trial performance. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 2006;16(4): 405–19.

Márquez N, Sancho R, Macho A, Calzado MA, Fiebich BL, Muñoz E. Caffeic acid phenethyl ester inhibits T-cell activation by targeting both nuclear factor of activated T-cells and NF-kappaB transcription factors. J Pharmacol Exp Ther. 2004;308(3): 993–1001.

Misra DS, Maiti R, Ghosh D. Protection of swimming-induced oxidative stress in some vital organs by the treatment of composite extract of withania somnifera, ocimum sanctum and zingiber officinalis in male rat. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2009;6(4): 534–43.

Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, Haga S, Ji LL, Ohno H. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. Eur J Appl Physiol. 2001;84: 1–6.

Morand C, Crespy V, Manach C, Besson C, Demigné C, Rémésy C. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. Am J Physiol. 1998;275: 212-9.

Moskaug JØ, Carlsen H, Myhrstad M, Blomhoff R. Molecular imaging of the biological effects of quercetin and quercetin-rich foods. Mech Ageing Dev. 2004;125(4): 315–24.

Motoyama K, Koyama H, Moriwaki M, Emura K, Okuyama S, Sato E, Inoue M, Shioi A, Nishizawa Y. Atheroprotective and plaque-stabilizing effects of enzymatically modified isoquercitrin in atherogenic apoE-deficient mice. Nutrition. 2009;25(4): 421–7.

Natarajan K, Singh S, Burke TR, Grunberger D, Aggarwal BB. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B. Proc Natl Acad Sci USA. 1996;93(17): 9090–5.

Nawar WW. Lipids. In "Food Chemistry". O.R. Fennema. New York: Marcel Dekker, 1996.

Nieman DC, Henson DA, Davis JM, Dumke CL, Gross SJ, Jenkins DP, Murphy EA, Carmichael MD, Quindry JC, McAnulty SR, McAnulty LS, Utter AC, Mayer EP. Quercetin ingestion does not alter cytokine changes in athletes competing in the Western States Endurance Run. J Interferon Cytokine Res. 2007;27(12): 1003–11.

Nikolaidis MG, Kyparos A, Hadziioannou M, Panou N, Samaras L, Jamurtas AZ, Kouretas D. Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. Appl Physiol Nutr Metab. 2007;32(2): 197–205.

Nohl H, Kozlov AV, Gille L, Staniek K. Cell respiration and formation of reactive oxygen species: facts and artefacts. Biochem Soc Trans. 2003;31(Pt 6): 1308–11.

Ohno H, Yamashita H, Ookawara T, Saitoh D, Wakabayashi K, Taniguchi N. Training effects on concentrations of immunoreactive superoxide dismutase iso-enzymes in human plasma. Acta Physiol Scand. 1992;146(2):291–2.

Okutan H, Ozcelik N, Yilmaz HR, Uz E. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat heart. Clin Biochem. 2005;38(2): 191–6.

Ookawara T, Haga S, Ha S, Oh-Ishi S, Toshinai K, Kizaki T, Ji LL, Suzuki K, Ohno H. Effects of Endurance Training on Three Superoxide Dismutase Isoenzymes in Human Plasma. Free Radic Res. 2003;37(7): 713–9.

Ozguner F, Oktem F, Ayata A, Koyu A, Yilmaz HR. A novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester prevents long-term mobile phone exposure-induced renal impairment in rat. Prognostic value of malondialdehyde, N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and nitric oxide determination. Mol Cell Biochem. 2005;277(1-2): 73–80.

Parlakpinar H, Sahna E, Acet A, Mizrak B, Polat A. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia-reperfusion-induced apoptotic cell death. Toxicology. 2005;209(1): 1–14.

Pawlikowska-Pawlega B, Gruszecki WI, Misiak LE, Gawron A. The study of the quercetin action on human erythrocyte membranes. Biochem Pharmacol. 2003;66(4): 605–12.

Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. Physiol. Rev. 2008;88(4): 1243–1276.

Prajda N, Weber G. Malignant transformation-linked imbalance: decreased xanthine oxidase activity in hepatomas. FEBS Lett. 1975;59(2): 245–9.

Prakash M, Shetty MS, Tilak P, Anwar N. Total Thiols: biomedical ımportance and their alteration ın various disorders. Online J Health Allied Scs. 2009;8(2):2.

Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. In Free Radic. Biol. Med. 2008;44(2): 153–159.

Ramírez-Vélez R, Bustamante J, Czerniczyniec A, Aguilar de Plata, Ana C, Lores-Arnaiz S. Effect of exercise training on Enos expression, NO production and oxygen metabolism in human placenta. In PLoS ONE. 2013;8(11): 802-25.

Reid MB. Invited Review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. J Appl Physiol. 2001;90(2): 724–31.

Ristow M, Zarse K, Oberbach A, Klöting N, Birringer M, Kiehntopf M, Stumvoll M, Kahn CR, Blüher M. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. Proc Natl Acad Sci. U.S.A. 2009;106(21): 8665–70.

Robaszkiewicz A, Balcerczyk A, Bartosz G. Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells. Cell Biol Int. 2007;31(10): 1245–50.

Rosety-Rodriguez M, Rosety I, Fornieles-Gonzalez G, Diaz-Ordonez AJ, Camacho A, Rosety MA, Pardo A, Rosety M, Alvero R, Ordonez FJ. A 6-week training program increased muscle antioxidant system in elderly diabetic fatty rats. Med Sci Monit. 2012;18(9): 346-50.

Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. Fitoterapia. 2002;73: 21-9.

Sanhueza J, Valdes J, Campos R, Garrido A, Valenzuela A. Changes in the xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase ratio in the rat kidney subjected to ischemia-reperfusion stress: preventive effect of some flavonoids. Res Commun Chem Pathol Pharmacol. 1992;78(2): 211–8.

Seifi-Skishahr F, Siahkohian M, Nakhostin-Roohi B. Influence of aerobic exercise at high and moderate intensities on lipid peroxidation in untrained men. J Sports Med Phys Fitness. 2008;48(4): 515–21.

Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. J Appl Physiol. 1995;79(3): 675–86.

Shacter E. Protein oxidative damage. Meth Enzymol. 2000;319: 428–36.

Shanely RA, Knab AM, Nieman DC, JIN F, McAnulty SR, Landram MJ. Quercetin supplementation does not alter antioxidant status in humans. Free Radic Res. 2010;44(2): 224–31.

Su ZZ, Grunberger D, Fisher PB. Suppression of adenovirus type 5 E1A-mediated transformation and expression of the transformed phenotype by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). Mol Carcinog 1991;4(3): 231–42.

Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem. 1988;34(3): 497–500.

Suzuki K ve ark. Superoxide dismutases in exercise and disease. In: Sen CK, Packer L, Hanninen O, editors. Handbook of Oxidants and Antioxidants and Exercise. Amsterdam: Elsevier; 2000.

Tauber AI, Fay JR, Marletta MA. Flavonoid inhibition of the human neutrophil NADPH-oxidase. Biochem Pharmacol. 1984;33(8): 1367–9.

Tauler P, Ferrer MD, Romaguera D, Sureda A, Aguiló A, Tur J, Pons A. Antioxidant response and oxidative damage induced by a swimming session: Influence of gender. Journal of Sports Sciences 2008;26(12): 1303–11.

Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicology 2003;189(1-2): 41–54.

Yardim-Akaydin S, Ozkan Y, Ozkan E, Torun M, Simşek B. The role of plasma thiol compounds and antioxidant vitamins in patients with cardiovascular diseases. Clin Chim Acta. 2003;338(1-2): 99–105.

Zembron-Lacny A, Naczk M, Gajewski M, Ostapiuk-Karolczuk J, Dziewiecka H, Kasperska A, Szyszka K. Changes of muscle-derived cytokines in relation to thiol redox status and reactive oxygen and nitrogen species. Physiol Res. 2010;59(6): 945–51.

Zimmerman BJ, Granger DN. Mechanisms of reperfusion injury. Am J Med Sci. 1994;307(4): 284–292.

Zinellu A, Sotgia S, Caria MA, Tangianu F, Casu G, Deiana L, Carru C. Effect of acute exercise on low molecular weight thiols in plasma. Scand J Med Sci Sports. 2007;17(4): 452–6.

11. ÖZGEÇMİŞ

1982'de Antalya'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Alanya'da tamamladı. 1999 yılında İstanbul Üniversitesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon bölümünü kazandı. 2003 yılında lisans eğitimini tamamladıktan sonra 7 yıl özel sektörde fizyoterapist olarak çalıştı. 2010'da Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne fizyoterapist olarak atandı. Konya Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.