T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA TİMOKİNON TAKVİYESİNİN TÜKENME EGZERSİZİNE BAĞLI OLUŞAN OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDAN DURUM ÜZERİNE ETKİLERİ

Sevde HARMANDARO EREN

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Hakkı GÖKBEL

KONYA – 2015

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA TİMOKİNON TAKVİYESİNİN TÜKENME EGZERSİZİNE BAĞLI OLUŞAN OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDAN DURUM ÜZERİNE ETKİLERİ

Sevde HARMANDARO EREN

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Hakkı GÖKBEL

"Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü 13202028"
Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 13202028 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA – 2015

ÖNSÖZ

Oksijen yaşamın temel bir bileşeni olmakla birlikte, organizmada solunum reaksiyonları sırasında oksijen kullanılmasının sonucu serbest radikal olarak adlandırılan reaktif ara ürünler üretilir. Akut aerobik egzersiz oksijen tüketimini artırır, bu durum oksidatif stresi her zaman tetiklemese de serbest radikal üretiminde artışa yol açar. Serbest radikaller makul miktarlarda olduklarında antioksidan enzimlerin upregülasyonunu uyarır ve egzersizden istenen adaptasyon yanıtının ortaya çıkmasında önemli avantaj sağlar. Aksine aşırı üretildiklerinde ortaya çıkan oksidatif stres, antioksidan rezervin azalmasına, membran lipitlerinin peroksidasyonuna ve DNA hasarına yol açabilir. Bu nedenle orta seviyede düzenli egzersiz insan sağlığı için yararlı olmasına rağmen, tüketici egzersizler oksidatif strese, inflamasyona ve kas hasarına neden olabilmektedir. Literatürde bu hasarın özellikle besin kaynaklı antioksidanların diyetteki içeriğini artırarak önlenebildiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Çeşitli araştırmalarda çörek otu (*Nigella sativa* L.) tohumunun uçucu yağının temel bileşeni olan timokinonun antikanser, antibakteriyel, antiülserojenik, hipoglisemik, antiinflamatuar ve analjezik etkilerinin yanı sıra güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Antioksidan takviyelerinin egzersizin neden olduğu oksidatif strese etkileri çok sayıdaki çalışmada incelenmiş ancak, timokinonun tükenme egzersizine bağlı oksidatif hasara etkisi araştırılmamıştır.

Bu çalışmada, timokinonun tükenme egzersizine bağlı oksidatif stres ve antioksidan savunmaya ve fiziksel dayanıklılığa etkileri değerlendirildi. Çalışmamızın amacı, akut tükenme egzersizi yaptırılan sıçanlarda timokinon takviyesinin vücut ağırlığı, egzersiz performansı, oksidatif stres ve çeşitli antioksidan enzimler ile bazı inflamasyon belirteçleri üzerine etkilerini araştırmaktır.

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Doktora eğitimim boyunca ve tez çalışmamın tüm aşamalarında değerli bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, her türlü yardım ve desteği sağlayan kıymetli

hocam Prof. Dr. Hakkı GÖKBEL'e;

Fizyoloji eğitimim sırasında yetişmemde emeği geçen tüm anabilim dalı hocalarıma;

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince yardım ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Nilsel OKUDAN ve Doç. Dr. Muaz BELVİRANLI hocalarıma;

Deney ve laboratuvar çalışmalarında deneyimlerini benimle paylaşan ve büyük desteklerini gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÖZ'e ve Öğr. Gör. Dr. Ayşe ÖZDEMİR'e;

Çalışmanın yürütüldüğü KONÜDAM Deneysel Hayvan Araştırma Merkezi personeline,

ve hayatımın her safhasında olduğu gibi tez çalışmam süresince de sabır ve fedakarlıkla hep yanımda olan, beni destekleyen ve heyecanıma ortak olan AİLEME...

en içten duygularımla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR vii
ÖZET viii
SUMMARY ix

1.GİRİŞ 1

1.1. Serbest Radikaller 1
1.1.1. Serbest Radikallerin Oluşumu 1
1.1.2. Reaktif Oksijen Türleri 3
1.1.3. Reaktif Azot Türleri 4
1.1.4. Reaktif Sülfür Türleri 5
1.1.5. Serbest Radikallerin Kaynakları 5
1.2. Serbest Radikallerin Olumsuz Etkileri ve Oksidatif Stres 8
1.2.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri 8
1.2.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri 9
1.2.3. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri 9
1.2.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri 10
1.3. Antioksidan Savunma Sistemi 10
1.3.1. Antioksidanların Etki Mekanizması 10
1.3.2. Enzimatik Antioksidanlar 12
1.3.3. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar 13
1.4. Egzersizde Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma 15
1.4.1. Egzersizde Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları 16
1.4.2. Egzersiz ve Endojen Antioksidan Sistem 18
1.4.3. Egzersizde Antioksidan Takviyesi 19
1.4.4. Egzersiz Esnasında Serbest Radikallerin Olumlu Etkileri 21
1.5. Timokinon 22
1.5.1. Timokinonun Antidiyabetik Etkisi 23
1.5.2. Timokinonun Antikarsinojenik Etkisi 24
1.5.3. Timokinonun Antiinflamatuar Etkisi 24
1.5.4. Timokinonun Kardiyovasküler Sisteme Etkisi 25
1.5.5. Timokinonun Antimikrobiyal ve Antiparazitik Etkisi 25
1.5.6. Timokinonun Toksik Özellikleri 26
1.5.7. Timokinonun Antioksidan Etkisi 26

1.6. Egzersizde *Nigella sativa* Takviyesi 27

2. GEREÇ VE YÖNTEM 29

2.1. Deney Hayvanları 29
2.1.2. Gruplar 29
2.2. Timokinon Takviyesi 30
2.3. Egzersiz Protokolü 30
2.3.1. Koşu Bandına Uyum Uygulaması 30
2.3.2. Tükenme Egzersizi Protokolü 30
2.4. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Toplanması 31
2.5. Biyokimyasal Analizler 32
2.5.1. Dokuların Homojenizasyonu 32
2.5.2. Serum Kreatin Kinaz ve Laktat Dehidrojenaz Ölçümü 32
2.5.3. Serum Tümör Nekroz Faktörü-Alfa ve İnterlökin-6 Ölçümü 32
2.5.4. Malondialdehit Ölçümü 32
2.5.5. Glutatyon Düzeyi Ölçümü 33
2.5.6. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi Ölçümü 34
2.5.7. Glutatyon Peroksidaz Enzim Aktivitesi Ölçümü 35
2.5.8. Protein Ölçümü 35
2.6. İstatistiksel Analiz 36

3. BULGULAR 37

3.1. Timokinon Takviyesinin Vücut Ağırlığına Etkileri 37
3.2. Timokinon Takviyesinin Tükenme Süresi Üzerine Etkisi 37
3.3. Timokinon Takviyesinin Tükenme Egzersizinde Serum CK ve LDH Aktiviteleri Üzerine Etkileri 38
3.4. Timokinon Takviyesinin Tükenme Egzersizinde Bazı Serum Sitokinleri Üzerine Etkileri 39
3.5. Timokinon Takviyesinin Tükenme Egzersizi Yaptırılan Sıçanların Plazma ve Kas Dokusundaki Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Belirteçleri Üzerine Etkileri 39

4. TARTIŞMA **43**

4.1. Timokinon Takviyesinin Vücut Ağırlığına Etkisi 43
4.2. Timokinon Takviyesinin Egzersizde Tükenme Süresi Üzerine Etkisi 43
4.3. Timokinon Takviyesinin Serum CK ve LDH Aktiviteleri Üzerine Etkileri 44
4.4. Timokinon Takviyesinin Tükenme Egzersizinde Bazı Serum Sitokinleri Üzerine Etkileri 46
4.5. Timokinon Takviyesinin Tükenme Egzersizinde Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Belirteçleri Üzerine Etkileri 48
4.5.1. MDA Düzeylerindeki Değişiklikler 48
4.5.2. SOD Aktivitesindeki Değişiklikler 52
4.5.3. GPX Aktivitesindeki Değişiklikler 53
4.5.4. GSH Düzeylerindeki Değişiklikler 54

5. SONUÇ ve ÖNERİLER **56**

6. KAYNAKLAR **57**

7. EKLER **68**

EK A. Etik Kurul Kararı 68

8. ÖZGEÇMİŞ **69**

SİMGELER ve KISALTMALAR

CAT: Katalaz

CK: Kreatin kinaz

GPX: Glutatyon peroksidaz

GR: Glutatyon redüktaz

GSH: Glutatyon

GSSG: Glutatyon disülfit

GST: Glutatyon-S-transferaz

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein

H_2O_2: Hidrojen peroksit

HIF-1α: Hipoksi ile tetiklenen faktör-1α

IL-6: İnterlökin-6

LDH: Laktat dehidrogenaz

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein

MDA: Malondialdehit

NADPH: Nikotin adenin dinükleotid fosfat hidrojen

NO: Nitrik oksit

$O_2^{-\bullet}$: Süperoksit anyon radikali

$OH^{\bullet}$: Hidroksil radikali

PGC-1α: Peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör-c koaktivatör 1α

RNS: Reaktif azot türleri

ROS: Reaktif oksijen türleri

RSS: Reaktif sülfür türleri

SOD: Süperoksit dismutaz

TBARS: Tiobarbitürik asit reaktif maddeler

TNF-α: Tümör nekroz faktörü-alfa

TQ: Timokinon

VO_{2max}: Maksimal oksijen tüketimi

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sıçanlarda Timokinon Takviyesinin Tükenme Egzersizine Bağlı Oluşan Oksidatif Stres ve Antioksidan Durum Üzerine Etkileri

Sevde Harmandaro Eren
Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2015

Bu çalışma, timokinon takviyesinin sıçanlarda tükenme egzersizine bağlı oksidatif hasar ve antioksidan savunmaya ve egzersiz performansına etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı.

Çalışmada Wistar soyundan 30 yetişkin erkek sıçan kullanıldı ve sıçanlar rastgele dört gruba ayrıldı: kontrol, timokinon, egzersiz, egzersiz+timokinon. Kontrol grubuna taşıyıcı (mısır yağı) verildi. Timokinon grubundaki sıçanlara 14 gün süreyle her gün oral olarak 50 mg/kg (mısır yağında çözdürülerek) timokinon takviyesi yapıldı. Egzersiz grubundaki sıçanlara bir defaya mahsus tükeninceye kadar koşu egzersizi yaptırıldı. Egzersiz+timokinon grubuna ise 14 günlük timokinon takviyesi sonrası tükeninceye kadar koşu egzersizi yaptırıldı. Egzersizden hemen sonra kan ve gastroknemius kas dokusu örnekleri alındı. Plazmada ve kas dokusunda malondialdehit, glutatyon, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, serumda interlökin-6, tümör nekroz faktörü-alfa, kreatin kinaz, laktat dehidrojenaz analizleri yapıldı.

Timokinon takviyesi sonrası timokinon grubundaki sıçanların vücut ağırlığında anlamlı değişiklik gözlenmedi. Timokinon takviyesi egzersizde tükenme süresini anlamlı şekilde artırdı. Plazma MDA düzeyi tükenme egzersizi ve/veya timokinon takviyesinden etkilenmedi. Bununla birlikte kas dokusu MDA düzeyi egzersiz+timokinon grubunda kontrol ve timokinon gruplarına göre düşük bulundu. Egzersiz+timokinon grubunda plazma ve kas dokusu GPX aktivitesi kontrol grubuna göre azaldı. Plazmada ve kas dokusunda GSH ve SOD aktiviteleri ile serum interlökin-6, TNF-α, kreatin kinaz, laktat dehidrojenaz düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu.

Çalışma sonucunda elde ettiğimiz bulgular, timokinon takviyesinin egzersiz esnasında fiziksel performansı artırarak tükenme süresini uzattığını ve kontrol grubuyla kıyaslandığında kas dokusunda MDA düzeyini azaltırken antioksidan savunmayı artırıcı yönde etkilemediğini göstermiştir. Bu bulguların ışığında timokinonun egzersize bağlı oksidatif strese etkisinin farklı egzersiz protokolleri ve biyobelirteçlerle daha detaylı araştırılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Egzersiz, oksidatif stres, timokinon

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Effects of Thymoquinone Supplementation on Exercise-Induced Oxidative Stress and Antioxidant Status in Rats

Sevde Harmandaro Eren
Physiology (Medicine)

PhD THESIS / KONYA-2015

This study was performed to investigate the effects of thymoquinone supplementation on exhaustive exercise-induced oxidative stress, antioxidant defense and exercise performance in rats.

Thirty adult Wistar male rats were used in the study and the rats were randomly divided into four groups: control, thymoquinone, exercise and exercise+thymoquinone. Rats in control group were given only corn oil (vehicle). On the other hand, 50 mg/kg of thymoquinone (dissolved in corn oil) was supplied orally to the rats in thymoquinone group each day for 14 days. The rats in exercise group were performed a single bout of running exercise until they were exhausted. The rats in exercise+thymoquinone group were runned until they were exhausted after thymoquinone supplementation for 14 days. At the end of the study, blood and gastrocnemius muscle tissue samples were collected from the rats immediately after the exercise. Creatine kinase, lactate dehydrogenase, TNF-alpha and interleukin-6 analysis were performed in serum. Malondialdehyde, glutathione, glutathione peroxidase and superoxide dismutase analysis were performed in the plasma and muscle tissue.

After thymoquinone supplementation, no significant change in the body weight of rats in the thymoquinone group was observed. Thymoquinone supplementation caused an increase in time to exhaustion during exercise. Plasma MDA levels were not affected by exhaustive exercise and/or thymoquinone supplementation. MDA levels in muscle tissue were found to be lower for exercise+thymoquinone group compared to the control and thymoquinone groups. GPX activities of the plasma and muscle tissues decreased in exercise+thymoquinone group compared to the control group. Also, there was no statistically significant difference for the level of GSH and SOD activities in plasma and muscle tissues and, interleukin-6, TNF-alpha, creatine kinase and lactate dehydrogenase in serum for all groups.

Results of this study showed that thymoquinone supplementation increases time to exhaustion by means of increasing physical performance during exercise and, compared to the control group, while thymoquinone supplementation causes to decrease MDA levels in muscle tissues, it has no increasing effect on antioxidant defense. In the light of these results, it is concluded that the effects of thymoquinone supplementation on exercise-induced oxidative stress need to be investigated in details by using different exercise protocols and biomarkers.

Keywords: Exercise; oxidative stress; thymoquinone

1. GİRİŞ

1.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip (Gutteridge 1995), kararsız, diğer moleküllerle reaksiyona girme eğilimleri son derece yüksek olan atom, molekül veya iyonlardır (Lü ve ark 2010, Carocho ve Ferreira 2013). Yaşam süreleri -milisaniye ile nanosaniyeler arasında değişecek şekilde- epey kısadır. Elektronlarını eşleştirmek amacıyla orijinal molekülden ayrılarak kararlı haldeki başka bir molekülden elektron koparır ve hücre hasarına neden olurlar (Finaud ve ark 2006). Eşlenmemiş elektronu olan ve serbest radikal niteliğindeki moleküller üst simge kısımlarına yazılan bir nokta ile ($X^{\bullet}$) gösterilir (Palmieri ve Sblendorio 2006).

1.1.1. Serbest Radikallerin Oluşumu

Serbest radikaller üç yolla oluşur (Palmieri ve Sblendorio 2006):

1. Kovalent bağ taşıyan bir molekülün homolitik yıkımı sonucu her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır.

$$(X: Y \rightarrow X^{\bullet} + Y^{\bullet})$$

2. Bir molekülden tek bir elektronun kaybı ile gerçekleşir. Bu tür heterolitik parçalanmada kovalent bağın elektronları ana molekülü oluşturan atomların sadece birinde kalır.

$$(X: Y \rightarrow X^{-} + Y^{+})$$

3. Bir moleküle tek bir elektronun transferi ile oluşur. Biyolojik sistemlerde bu tür elektron transferi, genellikle yüksek sıcaklık, UV ışını veya iyonize radyasyon gibi yüksek enerji gerektiren homolitik parçalanmaya oranla daha sık gerçekleşir (Palmieri ve Sblendorio 2006).

$$(A + e^{-} \rightarrow A^{-\bullet})$$

Biyolojik ortamlarda serbest radikaller genellikle oksijen, azot ve kükürt moleküllerinden oluşur ve reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS), reaktif sülfür türleri (RSS) olarak isimlendirilen molekül gruplarını meydana getirir (Lü ve ark 2010).

Oksijen, azot ve sülfürden oluşan başlıca reaktif türler Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Başlıca reaktif oksijen, azot (Halliwell 1996) ve sülfür türleri (Gruhlke ve Slusarenko 2012).

REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ	
Radikal Türler	***Radikal Olmayan Türler***
Süperoksit ($O_2^{-\bullet}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil ($OH^{\bullet}$)	Hipokloröz asit (HOCl)
Peroksil ($RO_2^{\bullet}$)	Ozon (O_3)
Alkoksil ($RO^{\bullet}$)	Singlet oksijen ($^1O_2$)
Hidroperoksil ($HO_2^{\bullet}$),	
REAKTİF AZOT TÜRLERİ	
Radikal Türler	***Radikal Olmayan Türler***
Nitrik oksit ($NO^{\bullet}$)	Nitrozil (NO^-)
Azot dioksit ($NO_2^{\bullet}$)	Nitröz asit (HNO_2)
	Nitroksit (NO)
	Dinitrojen tetroksit (N_2O_4)
	Dinitrojen trioksit (N_2O_3)
	Peroksinitrit ($ONOO^-$)
	Peroksinitröz asit (ONOOH)
	Nitronyum katyonu (Nitril) (NO_2)
	Alkil peroksinitratlar (ROONO)
REAKTİF SÜLFÜR TÜRLERİ	
Radikal Türler	***Radikal Olmayan Türler***
Tiyil ($RS^{\bullet}$)	Tiyol (RSH)
	Disülfit (RSSR)
	Sülfenik asit (RSOH)
	Tiyosülfinat (disülfit-S-monoksit) (RS(O)SR)
	Tiyosülfonat (disülfit-S-dioksit) ($RS(O)_2SR$)

1.1.2. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen atmosferde dioksijen ya da moleküler oksijen (O_2) olarak bilinen formda bulunur. Oksijen, karbon ve hidrojenden oluşan besinlerin oksidasyonunu sağlayarak yaşam için gerekli kimyasal ve ısı enerjisinin üretilmesinde görev alır. Moleküller oksijenle oksidasyona uğradığında, oksijen molekülü indirgenir ve bir kısmı serbest radikal olan ara ürünler meydana gelir (Gutteridge 1995). Oksijen, serbest radikal biyokimyasının başlıca moleküllerindendir ve iki adet eşlenmemiş elektrona sahip olması nedeniyle bir diradikal olarak değerlendirilir. Diradikal yapılı oksijen tepkimeye serbest radikallerle kolayca, radikal olmayan türlerle ise nispeten yavaş girer. Canlı sistemlerde fizyolojik koşullarda düşük düzeylerde üretilen ve endojen antioksidan sistemleri tarafından temizlenen en önemli serbest radikal sınıfını reaktif oksijen türleri oluşturur (Finaud ve ark 2006). Süperoksit, singlet oksijen, hidroksil, ozon, hipokloröz asit önemli reaktif oksijen türleri arasında yer alır (Gruhlke ve Slusarenko 2012).

Süperoksit radikali ($O_2^{-\bullet}$) moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur (Palmieri ve Sblendorio 2006). Serbest radikal olmasına rağmen yüksek ölçüde reaktif değildir. Lipit membranlardan geçemediğinden üretildiği yerde kalır (Laitonjam 2012). Sıvı solüsyonlarda hızla dismutasyona uğrar. Hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek oksijeni oluşturur ve ortadan kaldırılır (Gutteridge 1995).

$$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{-\bullet}$$

Singlet oksijen ($^1O_2$) eşlenmemiş elektronu olmadığı için aslında serbest radikal değil (Gutteridge 1995), radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür (Palmieri ve Sblendorio 2006). Oksijenin en dış orbitalindeki elektronlardan biri tersine döndüğünde reaktivitesi artar ve singlet oksijen meydana gelir. Delta ve sigma olmak üzere iki halde bulunur. Sigma olan formun enerjisi daha fazladır ve biyolojik sistemlerde hızlıca delta formuna dönüşür (Gutteridge 1995).

Hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$), demir veya bakır iyonu gibi geçiş metallerinin katalizörlüğünde hidrojen peroksit ile süperoksitin tepkimeye girmesi sonucu oluşur.

Biyomoleküllerle güçlü reaktivitesi nedeniyle biyolojik sistemlere diğer ROS'lardan daha fazla zarar verir (Laitonjam 2012).

$Fe^{+2}/Cu^{+} + H_2O_2 \rightarrow OH^{\bullet} + OH^{-} + Fe^{+3}/Cu^{+2}$ (Fenton reaksiyonu)

$H_2O_2 + {}^{\bullet}OH^{-} \xrightarrow{Fe/Cu} OH^{\bullet} + OH^{-} + O_2$ (Haber-Weiss reaksiyonu)

Hidrojen peroksit (H_2O_2) de serbest radikal değildir ancak biyolojik membranlara nüfuz etme yeteneğinin fazla olması bakımından önemlidir. Hipokloröz asit gibi daha reaktif ROS moleküllerinin üretiminde ara ürün olarak radikal oluşturucu rol oynar (Laitonjam 2012). En önemlisi geçiş metallerinin oksidasyonu ile en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikalinin meydana gelmesine neden olur (Gutteridge 1995). H_2O_2; katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler olmak üzere en az üç antioksidan enzim sistemi tarafından ortadan kaldırılır (Laitonjam 2012).

$H_2O_2 + e^{-} \rightarrow OH^{-} + OH^{\bullet}$

Soluk mavi renkli bir gaz olan ozon (O_3), stratosferde güneşin zararlı ışınlarına karşı koruyucu siper görevi yapar. Yer seviyesinde ise toksik ve istenmeyen bir oksidan kirleticidir. Kirli kentsel havada üretilen ozon, bilimsel ekipmanlarda ve bazı fotokopi makinalarında kullanılan yoğun bir ışık kaynağıdır. DNA, proteinler ve lipitlerin oksidasyonuna yol açar ve akciğerlere zarar verir (Gutteridge 1995).

Hipokloröz asit (HOCl) ise, aktif nötrofiller tarafından üretilen güçlü bir oksidandır. Fagositik hücrelerin sitoplazmasında bulunan ve hem içeren miyeloperoksidaz enzimi, H_2O_2 ve klor iyonlarından hipokloröz asit oluşumunu katalizler (Gutteridge 1995).

1.1.3. Reaktif Azot Türleri

Nitrik oksit ve azot dioksit radikalleri ve nitrozil, nitröz asit, nitroksit gibi radikal olmayan bileşikler reaktif azot türlerini oluşturur (Halliwell 1996).

Nitrik oksit (NO) nörotransmisyon, vazodilatasyon, bağışıklık, kan basıncı regülasyonu, trombosit agregasyonu, kardiyak kontraktilitenin düzenlenmesi gibi fizyolojik süreçlerde sinyal molekülü olmasının yanı sıra, reaktif bir radikaldir. Endotel hücresi, fagositik hücreler, beyindeki bazı hücre tipleri gibi birçok hücrede L-argininden nitrik oksit sentaz adı verilen bir dizi enzim etkisiyle sentezlenir (Moncada ve Higgs 1993). NO, eşlenmemiş elektrona sahip olması nedeniyle serbest radikal olsa da çoğu biyomolekülle zayıf tepkimeye girer. Alkil ve peroksil gibi radikallerle kolayca tepkimeye girerek daha az reaktif ürünler oluşturur ve membran lipit peroksidasyonunu önleyerek serbest radikal süpürücü etki gösterir. Aşırı miktarda üretildiğinde ise antioksidan etkisi inhibe olur ve oluşan peroksinitrit gibi ürünlerle oksidan etki gösterir (Laitonjam 2012).

$NO^{\bullet}$, süperoksit ile birlikte aşırı miktarda üretildiğinde süperoksitle hızla reaksiyona girerek yüksek toksik özellikteki peroksinitriti ($ONOO^-$) oluşturur (Halliwell 2012, Laitonjam 2012).

$$O_2^{-\bullet} + NO^{\bullet} \rightarrow ONOO^- \rightarrow ONOO^- + H^+ \rightarrow {}^{\bullet}OH$$

Peroksinitrit eşlenmemiş elektron içermediği için serbest radikal olmamakla birlikte, biyomoleküllerin oksidasyonuna sebep olan ve asidik ortamda metal katalizörlüğü olmadan hidroksil radikallerine dönüşebilen güçlü bir oksidandır (Gutteridge 1995). Çeşitli biyomoleküllerle tepkimeye girerek azot dioksit ($NO_2^{\bullet}$), nitrat (NO_3) peroksinitrözasit (ONOOH), nitrozo-peroksokarboksilat ($ONOOCO_2^-$) gibi toksik reaktif ürünler oluşturur (Laitonjam 2012).

1.1.4. Reaktif Sülfür Türleri

Reaktif sülfür türleri, ROS veya RNS'nin tiyoller ile tepkimeye girmesiyle meydana gelir. Tiyil radikali ve tiyol, disülfit, sülfenik asit, tiyosülfinat gibi radikal olmayan sülfür türleri bu gruba dahildir (Gruhlke ve Slusarenko 2012).

1.1.5. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikal kaynakları hücre içi ve hücre dışı radikal kaynakları olmak

üzere iki grupta incelenebilir. Serbest radikal oluşumuna yol açan hücresel bileşenler şunlardır:

Mitokondri: Normalde insan vücudunda solunumla alınan oksijenin büyük çoğunluğu mitokondride ATP sentezi sırasında su molekülüne indirgenmektedir. Bununla beraber elektron transport zincirinden elektron sızıntısı sonucu, oksijenin yaklaşık % 2-3'lük kısmı süperoksit anyon radikaline dönüştürülür (Marciniak ve ark 2009). Solunum zincirinde reaktif oksijen türlerinin başlıca üretim alanları kompleks I (Chen ve ark 2003, Chen ve Zweier 2014) ve kompleks III'tür (Chen ve Zweier 2014). Bu reaksiyonlarda redükte ubikinon, piruvat dehidrojenaz, oksidoredüktaz, 2-oksoglutaratat dehidrojenaz gibi enzimler ROS oluşumuna aracılık eder (Brand 2010).

Mitokondri fizyolojik ve patolojik etkileri olan ROS'un önemli bir kaynağı olsa da -en azından karaciğerde- endoplazmik retikulum ve peroksizomlar daha fazla miktarda ROS oluşturmaktadır (Brown ve Borutaite 2012).

Endoplazmik retikulum: Endoplazmik retikulum membranında bulunan sitokrom P450 sisteminin patofizyolojik koşullarda ROS ürettiği iyi bilinmektedir. Başlıca sitokrom P450 redüktaz (Pillai ve ark 2011), sitokrom b5 (Brown ve Borutaite 2012) ve tiyol oksidaz Ero 1p enzimleri (Gross 2006) ROS oluşumuna katkıda bulunur.

Peroksizomlar: Önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdırlar. Peroksizomlarda özellikle yağ asidi oksidasyonunda yağ asidi açil-CoA oksidazlar, ürat oksidaz ve daha az ölçüde D-aminoasit oksidaz gibi oksidazlar bol miktarda hidrojen peroksit üretimine neden olur (Mueller ve ark 2002).

Hücre membranı: Nötrofil gibi fagositik hücrelerin membran ve sitoplazmalarında NADPH (nikotin adenin dinükleotid fosfat hidrojen) oksidaz enzimi bulunur. NADPH oksidaz enzimi patojenlerin yıkımı sırasında ‘‘solunum patlaması’’ adı verilen oksijen tüketimindeki güçlü artış sebebiyle aktifleşir ve moleküler oksijeni süperoksit anyonuna dönüştürerek ROS miktarını önemli ölçüde artırır (Ostuni ve ark 2010). Ayrıca fagositik hücre membranlarının uyarılması ve

fosfolipaz A_2 aktivasyonu, nüklear membrandan ve plazma membranlarından araşidonik asitin salınımına yol açar. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleriyle katalizlenen araşidonik asidin oksidasyonu esnasında bol miktarda ROS oluşur (Cho ve ark 2011). İskemi reperfüzyon hasarının patogenezinde anahtar rol oynayan ksantin oksidaz da önemli bir ROS kaynağıdır. İskemi durumlarında hipoksik dokuda ATP yıkılarak hipoksantine dönüşür. Oksijen seviyesi reperfüzyon sırasında normale dönünce ksantin oksidazın oksijen, hipoksantin ve ksantin arasında katalizlediği reaksiyon ile fazla miktarda süperoksit radikali ve ardından hidrojen peroksit oluşur (Harrison 2002).

Sitozol: NO sentaz (Griffiths ve ark 2014), lipooksijenaz ve prostaglandin sentetazlar (Cho ve ark 2011) ROS aracılı hasara neden olur. Hücrede askorbik asit, tiyoller (glutatyon, sistein), adrenalin, flavin koenzimler gibi moleküllerin otooksidasyonu ile de serbest oksijen radikalleri oluşur (Palmieri ve Sblendorio 2006).

Aslında hücrenin farklı bölümlerinin ROS oluşumuna katkısı hücre tipine, ROS'un türüne, fizyolojik ve patolojik koşulların çeşidine bağlıdır (Brown ve Borutaite 2012). Hücrenin aynı bölümünde ROS'un hem üretilip hem de tüketilmesi net miktarı belirlemeyi zorlaştırır (Brown ve Borutaite 2012). Örneğin peroksizomlarda, hidrojen peroksidin suya ayrışmasını katalizleyen katalaz enziminin aktivitesi de yüksek olduğundan sitozole ne kadar hidrojen peroksit geçtiği bilinemez (Mueller ve ark 2002). Benzer şekilde süperoksit, yükü nedeniyle kayda değer ölçüde membranları çapraz geçemez; yani üretildiği organel içinde kalır. Ancak süperoksitin çoğu sonradan SOD tarafından hidrojen peroksite dönüştürülür. Mitokondriyal solunum zincirinde hem matriks hem de membranlar arası boşlukta süperoksit üretimi olsa da süperoksit SOD tarafından tüketilir ya da porlarla sitozol içine kaçış olabilir (Brown ve Borutaite 2012).

Organizmada serbest radikal oluşumuna yol açan dış etkenler ise çevre kirliliği, sigara ve radyasyonun yanı sıra, bazı ilaçlar, pestisitler, endüstriyel çözücüler ve ozondur (Lobo ve ark 2010).

1.2. Serbest Radikallerin Olumsuz Etkileri ve Oksidatif Stres

Sağlıklı bir organizmada ROS ve RNS formundaki prooksidanların üretimi antioksidan savunma sistemi tarafından etkin biçimde kontrol altında tutulur. Ancak atmosferik kirleticiler, sigara içmek, ultraviyole ışınları, radyasyon, toksik kimyasallar, aşırı beslenme ve diyabetteki ileri glikolizasyon son ürünleri gibi olumsuz fizikokimyasal, çevresel veya patolojik ajanlara maruz kalma sonucu, bu hassas dengenin prooksidanların lehine bozulması oksidatif stres oluşumuna neden olur (Devasagayam ve ark 2004). ROS aşırı miktarda üretildiğinde ortaya çıkan oksidatif stres, lipitler, membranlar, proteinler ve DNA gibi hücre yapılarında hasar oluşturur (Filaire ve Toumi 2012). Oksidatif stresin kalp-damar hastalıkları, Alzheimer hastalığı, diyabet, kanser dahil yüzden fazla hastalığın ve yaşlanmanın patogenezinde rol oynadığı iyi bilinmektedir (Devasagayam ve ark 2004).

1.2.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri

Hücre membranları önemli miktarlarda çoklu doymamış yağ asitleri ve kolesterol içermektedir (Yin ve Porter 2011). Bu lipitler serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı en hassas biyomoleküllerdir (Palmieri ve Sblendorio 2006). Moleküler oksijen, bu lipitlerle reaksiyona girdiğinde lipit peroksidasyonu olarak isimlendirilen olay gerçekleşir (Yin ve Porter 2011). Lipit peroksidasyonu doğrudan membran yapısına zarar verirken, dolaylı olarak reaktif aldehitlerin üretimiyle diğer hücre bileşenlerine zarar veren oldukça yıkıcı reaksiyonlar zinciridir (Palmieri ve Sblendorio 2006). Lipit peroksidasyonu temelde ROS tarafından yağ asitlerindeki hidrojen atomunun çıkarılması ve bunun sonucunda karbon merkezli bir lipit radikali oluşumuyla başlar. Lipit radikallerinin ($L^{\bullet}$) moleküler oksijenle etkileşmesi ile peroksil radikalleri ($LOO^{\bullet}$), organik bir substrattan peroksil radikali taşıyan zincire bir hidrojen atomunun transferi ile de lipit hidroperoksitler ($LOOH^{\bullet}$) oluşur (Yin ve Porter 2011). Lipit hidroperoksitlerinin yıkımı sonucu başlıca malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksialkenler gibi son derece reaktif aldehitler meydana gelir. Aldehitler membran proteinleri gibi hücrenin temel bileşenleriyle etkileşime girerek hücre fonksiyonlarını bozan, hasarı yayarak güçlendiren ikinci toksik habercilerdir. Hücre membranının akışkanlığını değiştirir ve inflamasyonu artırırlar (Esterbauer ve ark

1991). Egzersizde malondialdehit, oksidatif stres markeri olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Urso ve Clarkson 2003).

1.2.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallerin etkilerine karşı doymamış yağ asitlerine oranla daha az hassastır (Palmieri ve Sblendorio 2006). Proteinlerin oksidatif olarak yapısal değişikliğe uğraması; aminoasitlerin modifikasyonu, peptid bağlarında parçalanma ve proteinlerin çapraz bağlanmaları olmak üzere üç yolla gerçekleşir (Lobo ve ark 2010). Proteinlerin yapısındaki arjinin, metiyonin, sistein, triptofan, tirozin, fenilalanin ve histidin gibi amino asitler ROS ve RNS'nin etkilerine karşı en hassas biyomoleküllerdir (Stadtman 2004). Protein oksidasyonuna genellikle peroksil radikalinin neden olduğu düşünülmektedir. ROS'un protein yapısında oluşturduğu değişiklik sonucunda enzimlerin proteolize yatkınlığı artar (Lobo ve ark 2010). Davies ve Goldberg (1987), eritrositlerde enzim proteolizinin süperoksit ve hidrojen perokside maruz kaldıktan sonra 11 kat arttığını belirtmişlerdir. Protein oksidasyon ürünleri membran transportunu bozar, sinyal transdüksiyon mekanizması, enzim ve reseptör aktivitesini olumsuz etkiler (Lobo ve ark 2010). Protein ve amino asit oksidasyonu oksidatif hasarın genel belirteçleri olarak kullanılan protein karbonil düzeyinde artışa sebep olur (Valko ve ark 2006).

1.2.3. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Serbest radikaller bazların modifikasyonu, bazsız kısımlar oluşturma, delesyonlar, iplik kırıkları ve DNA-protein çapraz bağları oluşturma gibi farklı yollarla DNA hasarı meydana getirmektedir (Valko ve ark 2004). Bu hasarın çeşidi ROS'un türüne özgüdür. Singlet oksijen guanine spesifik bağlanarak hasar oluştururken (Diplock ve ark 1998), hidroksil radikali hem pürin ve pirimidin bazları hem de deoksiriboz şekerleriyle reaksiyona girerek oksidasyona yol açar (Halliwell 1994). Örneğin hidroksil radikalinin DNA bazlarından guaninin 8. karbonunu oksitlemesi ile 8-hidroksi deoksiguanozin oluşur. Üzerinde en geniş biçimde çalışılan DNA lezyonu olan bu mutajenik lezyon, karsinogenezin önemli biyobelirtecidir (Valko ve ark 2004). Sonuç olarak DNA'nın oksidatif hasarı mutajenez, karsinojenez ve yaşlanmaya yol açmaktadır (Dizdaroğlu ve ark 2002).

1.2.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Karbonhidratlarla reaksiyona giren hidroksil gibi serbest radikaller karbon atomlarının birinden bir hidrojen atomunu çıkararak karbon merkezli radikaller oluştururlar. ROS, hiyaluronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmalarına yol açar (Devasagayam ve ark 2004). Monosakkaritlerin otooksidasyonu ile meydana gelen okzaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabildikleri için antimitotik etki gösterebilirler. Poliansatüre yağ asitleri ve karbonhidrat oksidasyonunun bir ürünü olan glioksalın hücre bölünmesini inhibe ettiği bildirilmiştir (Akkuş 1995).

1.3. Antioksidan Savunma Sistemi

1.3.1. Antioksidanların Etki Mekanizması

Organizmada reaktif türlere bağlı oksidatif strese karşı koymak için önleyici, onarıcı, fiziksel ve antioksidan savunma olmak üzere dört ayrı savunma mekanizması mevcuttur (Valko ve ark 2007). Antioksidanlar; hedef molekülün uğradığı oksidatif hasarı geciktiren, engelleyen veya yok eden bileşiklerdir (Halliwell 2007). Hücreler serbest radikallerin olumsuz etkilerine karşı enzimatik ve enzimatik olmayan endojen antioksidanlar tarafından korunurlar (Marciniak ve ark 2009). En önemli enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalazdır. Ayrıca peroksiredoksin, glutaredoksin ve tiyoredoksin antioksidan enzim sistemleri de hücresel korumaya doğrudan veya dolaylı olarak katkı sağlar (Powers ve Jackson 2008). Enzimatik olmayan antioksidanlara tokoferoller (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), glutatyon, β-karoten, ubikinon, taurin, albumin, ürik asit, bilirubin ve flavonoidler örnek verilebilir (Finaud ve ark 2006, Marciniak ve ark 2009).

Antioksidanlar başlıca dört yolla serbest radikalleri etkisiz hale getirirler;

1) Önleyici etki: Antioksidan savunmanın ilk metodu temizleme (süpürme) ve önleme mekanizmasıdır. Temizleme, reaktif oksijen türlerinin daha az aktif olan moleküllere dönüştürülmesidir. Önleme ise, reaktivitesi az olan radikallerin daha zararlı formlara dönüşümünün engellenmesidir. Bu yolla hidrojen peroksitin daha

zararlı olan hidroksil radikaline dönüşümü önlenmektedir (Powers ve Lennon 1999). Önleyici antioksidanlar lipit peroksidasyonunun başlangıç aşamasında lipit hidroperoksitlere etki ederek serbest radikal oluşumunu engellerler (Pokorny 2007). Hidroperoksitlerin ve hidrojen peroksitin metallere bağlı ayrışımını baskılamak için bu moleküller sırayla alkol ve suya indirgenir. Glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz (GST) ve fosfolipit hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PHGPX) bu yolla etki eder (Lobo ve ark 2010).

2) Zincir kırıcı etki: Savunmanın ikinci hattı, zincir reaksiyonun başlamasını önlemek ve/veya ilerlemesini durdurmak amacıyla aktif radikalleri süpüren antioksidanlardan oluşur (Husain ve Kumar 2012). Bunlardan C vitamini, ürik asit, bilirubin, albumin ve tiyoller hidrofilik yapıda, E vitamini ve ubikuinoller lipofilik yapıdadır (Lobo ve ark 2010).

3) Onarıcı etki: Onarıcı etkiye sahip antioksidanlar doğal antioksidan savunmanın üçüncü hattını oluşturur ve hücre metabolizmasını bozan birikmiş hasarlı biyomolekülleri ortadan kaldırır. Oksidatif açıdan hasarlı nükleik asitler spesifik enzimler tarafından, proteinler proteolitik sistemlerle, oksitlenmiş membran lipitleri de lipazlar, peroksidazlar ve açil transferazlar tarafindan hücreden uzaklaştırılır (Palmieri 2006). DNA hasarını tamir ederek oksidatif hasarı engelleyen glikosilazlar ve nükleazlar da bu gruba dahildir (Lobo ve ark 2010).

4) Adaptasyon sağlayıcı etki: Adaptasyon olarak tanımlanan diğer önemli fonksiyon, serbest radikallere etki edecek reaksiyonların oluşturulması ve uygun antioksidanların doğru yere taşınması için gereken sinyal üretimidir (Husain ve Kumar 2012).

Bu etki mekanizmalarının yanı sıra sitrik asit gibi sinerjik etki gösterebilen bileşikler yalnız başına antioksidan etki göstermezken, zincir kırıcı antioksidanların etkinliğini artırır. İndirgeyici antioksidanlardan tiyol ve sülfitler hidroperoksitleri kararlı bileşiklere dönüştürür. Diğer antioksidan gruplarına metal prooksidanları kararlı ürünlere dönüştüren kuersetin ve tanin gibi metal bağlayıcı bileşikler örnek gösterilebilir (Pokorny 2007).

1.3.2. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksit anyonunun hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizleyen enzimdir. Sitozol ve mitokondride SOD'un farklı formları mevcuttur. Sitozolde ve plazmada bulunan SOD1 ve SOD3 (Cu, Zn SOD) bakır ve çinko iyonu içerirken mitokondride bulunan SOD2 (Mn SOD) manganez iyonu içerir (Marciniak ve ark 2009).

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

Katalaz (CAT): Memeli hücrelerinde çoğunlukla peroksizomlarda bulunan katalaz, H_2O_2'nin suya ve moleküler oksijene parçalanmasını katalizler.

$$2\ H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2\ H_2O + O_2$$

Katalaz, H_2O_2'nin indirgenmesi sayesinde diğer bazı toksik bileşikleri de detoksifiye etme fonksiyonuna sahiptir (Laitonjam 2012). Bu reaksiyonda fenol, alkol veya formik asit gibi substratlara gereksinim vardır (Finaud ve ark 2006):

$$H_2O_2 + R'H_2 \xrightarrow{CAT} R' + 2H_2O$$

Glutatyon peroksidaz (GPX): Hücrede sitozol ve mitokondride bulunur (Gomes ve ark 2012). H_2O_2 ve diğer organik hidroperoksitlerin yıkımını sağlayarak sırasıyla suya ve alkole indirger.

$$2GSH + H_2O_2 \xrightarrow{GPX} GSSG + 2H_2O$$

$$2GSH + ROOH \xrightarrow{GPX} GSSG + ROH + H_2O$$

GPX, düşük konsantrasyonlardaki H_2O_2 için katalaz enzimine kıyasla daha büyük affiniteye sahiptir. Bu yüzden hücredeki H_2O_2'nin miktarı düşük olduğunda

GPX daha fazla aktiftir (Powers ve Lennon 1999). GPX katalitik merkezinde selenosistein içerir. Peroksitlerin yıkımı sırasında glutatyon substrat olarak kullanılarak okside glutatyona (GSSG) dönüştürülür (Marciniak ve ark 2009). GPX peroksitleri suya veya alkole ayrıştırırken eş zamanlı olarak glutatyon okside olur (Flora 2009).

Peroksiredoksinler: Peroksiredoksinler hidroperoksitleri suya indirgeyen tiyol peroksidazları sınıfıdır. Memelilerde altı farklı peroksiredoksin çeşidi bulunur. Peroksiredoksin-1, 2 ve 6 sitoplazmada, peroksiredoksin-3 mitokondriyal matrikste, peroksiredoksin-4 endoplazmik retikulumda, peroksiredoksin-5 mitokondri, peroksizomlar ve sitozolde bulunur (Poynton ve Hampton 2014). Peroksiredoksinler hidrojen peroksitin muhtemelen en önemli temizleyicileridir (Halliwell 2012).

Diğer bir tiyol antioksidan sistem, tiyoredoksin sistemidir. Tiyoredoksin sisteminin temel görevi, hücreleri oksidatif stresin zararlı etkilerinden koruma amacıyla indirgeyici ortam sağlamaktır. Tiyoredoksinler gelişme, çoğalma, migrasyon, apoptoz, inflamasyon ve metabolizma dahil olmak üzere farklı hücresel süreçleri düzenleyen redoksa duyarlı moleküllerle doğrudan etkileşime girer (Lee ve ark 2013). Tiyoredoksin düzeyleri hücrede glutatyona oranla 100 ila 1000 kat daha azdır. Tiyoredoksinler, nükleer faktör-kappa B ve aktivatör protein gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ve düzenlenmesinde glutatyon ile birlikte rol alır (Valko ve ark 2006). Glutaredoksinler tiyoredoksinlere benzer şekilde oksidatif stres durumunda protein ve protein olmayan tiyollerin tamir ve korumasında rol alır (Powers ve Jackson 2008).

1.3.3. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

E vitamini (Tokoferol): E vitamini, tokoferol ve tokotrienoller olmak üzere sekiz farklı formda bulunan, yağda çözünen bir vitamindir. En yüksek biyolojik aktiviteye sahip olanı alfa-tokoferol formudur (Herrera ve Barbas 2001). Alfa-tokoferol, lipit peroksidasyonu sırasında üretilen lipit radikalleri ile reaksiyona girerek membranları oksidasyondan korur (Traber ve Atkinson 2007). Bu yönüyle en güçlü zincir kırıcı lipofilik antioksidan olarak kabul edilir (Lobo ve ark 2010).

C vitamini (Askorbik asit): C vitamini suda çözünür ve antioksidan özellikte bir vitamindir. İnsanlarda L-glukonolakton oksidaz enzimi eksikliğinden dolayı sentezlenemez, diyetle alınması gerekir (Naidu 2003). Hidroksil, süperoksit anyonu, ozon, singlet oksijen, alkoksil, peroksil ve hipokloröz asit gibi ROS'ları ve azot dioksit, peroksinitrit, nitroksit gibi RNS'leri süpürme özelliğine sahiptir (Carr ve Frei 1999). Ayrıca alfa-tokoferol, ürat ve β-karoten gibi antioksidanların ilgili radikallerinden rejenere edilerek yeniden kullanılabilmelerini sağlar (Halliwell 1996). Böylelikle alfa-tokoferol radikalini yeniden radikal olmayan haline dönüştürerek koantioksidan görevi görür ve bu radikalin peroksidasyon reaksiyonu oluşturmasını engeller (Neuzil ve ark 1997).

Karotenoidler: Karotenoidler bitkiler ve mikroorganizmalarda bulunan pigmentlerdir (Flora 2009). Yüksek konsantrasyonlarda lipitleri peroksidatif hasardan koruyabilirler. En aktif karotenoid olan β-karoten, antioksidan etkisini singlet oksijen, hidroksil, peroksil ve süperoksit gibi serbest radikalleri süpürerek sağlar. Ancak karotenoidlerin antioksidan aktiviteleri, parsiyel oksijen basıncı ve karotenoid konsantrasyonuna bağlıdır. Düşük oksijen basıncında antioksidan özellik gösterirken, yüksek oksijen basıncında bu etkiyi kaybederek prooksidan etki gösterirler. Benzer şekilde yüksek karotenoid miktarları da prooksidan etkiye neden olur (Valko ve ark 2006).

Flavonoidler: Flavonoidlerin antioksidan özellikleri fenol halka yapılarına bağlı olan hidroksil grubundan kaynaklanır. Flavonoidler süperoksit, hipoklorit gibi bazı ROS'lar üzerine direkt etki gösterir. Nitrozatif stresi azaltma, oksidazları inhibe etme, metal bağlama, alfa-tokoferol radikallerini indirgeme, ürik asit ve düşük molekül ağırlıklı moleküllerin düzeylerini artırma ve antioksidan enzimleri aktive etme gibi mekanizmalarla radikal hasarını önlerler (Prochazkova ve ark 2011).

Glutatyon (GSH): Glutatyon hücrede en fazla bulunan protein olmayan tiyol bileşiğidir (Banerjee ve ark 2003). Glutamat, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptid yapısındadır ve tüm canlı hücrelerde sentezlenir. ROS ile doğrudan reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumanın yanı sıra, aminoasit transportu, koenzim işlevi, proteinlerin tiyol kısımlarının korunması, deoksiribonükleotid oluşumunda rol alma gibi fonksiyonlara sahiptir (Anderson 1998). Glutatyonun

indirgenmiş formu GSH, okside formu glutatyon disülfittir (GSSG) (Valko ve ark 2007). Şiddetli oksidatif stres hücrenin GSSG'yi GSH'ya indirgeme yeteneğini bloke eder ve böylelikle GSSG'nin sitozolde birikmesine neden olur. Redoks dengenin bozulmasını önlemek için GSSG aktif olarak hücreden dışarı taşınır veya karma disülfit oluşturmak üzere bir protein sülfhidril ile tepkimeye girer. Böylece şiddetli oksidatif stres, hücresel GSH'nın tükenmesine neden olur (Lu 1999).

Koenzim Q10: Tüm hücre ve membranlarda bulunan koenzim Q10, hücresel metabolizmada ve özellikle solunum zincirinde önemli rol oynar. Koenzim Q10'un hem doğrudan lipit peroksil radikali oluşumunu önlediği hem de alfa-tokoferol radikalinden E vitamininin rejenerasyonunu sağlayarak antioksidan görev yaptığı bilinmektedir (Turunen ve ark 2004).

Ürik asit: Ürik asit, süperoksit (Kamogawa ve Sueishi 2014, Sueishi ve ark 2014) ve alkoksil radikallerinin (Sueishi ve ark 2014) güçlü temizleyicisidir. İnsanlarda pürin nükleotit metabolizmasının son ürünüdür. Hemoglobinin peroksitler ile reaksiyonu sonucu oluşan okso-hem oksidanların aşırı üretimini önler (Kand'ár ve ark 2006). Diğer taraftan, demir iyonları ile stabil kompleksler oluşturarak Fe^{+3}'in katalizlediği C vitamini oksidasyonunu ve lipit peroksidasyonunu inhibe eder. Böylece C vitaminini koruyucu etki gösterir (Sevanian ve ark 1991).

1.4. Egzersizde Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma

İskelet kasları hem istirahatte hem de kasılma sırasında reaktif türleri üretir (Powers ve Jackson 2008). Egzersizde kasılan iskelet kaslarına oksijen geçişinin istirahat değerlerine oranla yaklaşık 100 kat artması (Radak ve ark 2013) reaktif türlerin oluşumunda da artışa yol açar (Castrogiovanni ve Imbesi 2012). Sedanterlerde her vücut hücresi günde yaklaşık 10.000 ila 20.000 serbest radikal iyonuna maruzken, iyi antrenmanlı sporcularda bu değer ortalama % 50 daha fazladır (Valko ve ark 2004). Kasılma esnasında kas hücrelerinde süperoksit ve hidrojen peroksit oluşturulduğuna dair kesin kanıtlar vardır. Az sayıdaki veri hidroksil radikallerinin de üretildiğini göstermektedir (Powers ve Jackson 2008). Egzersiz kaynaklı serbest radikallerin miktarının belirlenmesi büyük ölçüde lipit peroksidasyonunun ölçülmesine dayanır (Banerjee ve ark 2003).

Zorlu egzersiz oksijen tüketimini artırır ve hücre içi prooksidan-antioksidan homeostazının bozulmasına yol açar. Akut egzersiz başlıca süperoksit radikali üretimi yoluyla oksidatif strese neden olmaktadır (Gomez Cabrera ve ark 2008). Tükenme egzersizi esnasında artan ROS'a karşı SOD, CAT, GPX ve glutatyon redüktaz (GR) enzimlerinin antioksidan enzim sisteminin ilk savunma hattını oluşturduğu iyi bilinmektedir (Huang ve ark 2009, Lin ve ark 2006). Bununla birlikte, tek oturumluk egzersiz ile düzenli egzersizin etkilerinin farklı olduğunu vurgulamak gerekir. Düzenli fiziksel aktivitede yüksek oksidan düzeylere uyum sağlanır ve bu durum çok sayıda yararlı etkiyi beraberinde getirir. Tek oturumluk egzersizde ise vücutta sağlanan adaptasyon sınırlıdır (Peternelj ve Coombes 2011). Akut egzersizde ROS artışına karşı antioksidan korumanın artması gerekir. Ayrıca çalışan kasların enerji ihtiyacının artması da, kan akımının, yakıt transportunun ve mitokondriyal oksidatif kapasitenin artmasını gerektirir. Tek oturumluk akut egzersizde kan akımını artırmak için vazodilatasyonun artırılması, enzimlerin allosterik/kovalent aktivasyonu gibi intrensek mekanizmalar yoluyla meydana getirilen akut ayarlamalar, egzersize bağlı metabolik ve oksidatif strese karşı koymak için yeterli olmayabilir (Ji 2008).

1.4.1. Egzersizde Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları

Egzersiz esnasında reaktif oksijen türlerinin başlıca kaynağı mitokondride bulunan elektron transport zinciridir (Ji 1999). Bununla birlikte iskelet kasında ROS'un kaynağı sadece mitokondri elektron kaçağı değildir; mekanik ve metabolik uyaranlara tepki olarak birden fazla hücresel bölümde reaktif türler üretilir (Jackson 2008). Plazma membranı, transvers tübüller ve sarkoplazmik retikulumla ilişkili NADPH oksidazlar, ROS üretiminin mitokondri dışı kaynaklarındandır ve süperoksit oluşumuna aracılık eder (Powers ve Jackson 2008). Membrana bağlı fosfolipidlerden fosfolipaz A_2 aktivasyonunun NADPH oksidazları uyardığı (Zhao ve ark 2012), kas mitokondrisi (Nethery ve ark 2000) ve sitozolünde (Gong ve ark 2006) ROS oluşumuna yol açarak hücre dışı aralığa serbestlendiği (Zuo ve ark 2004) bildirilmiştir. Sarkoplazmik retikulum veya t-tübül sistemleri tarafından lokal olarak üretilen süperoksit, sarkoplazmik retikulumdaki riyanodin reseptör aktivitesi ve kalsiyum taşımasının düzenlenmesinde, mitokondri veya hücre dışı oksidazlar aracılığı ile üretilen ROS'dan çok daha fazla etkilidir (Powers ve Jackson 2008).

Egzersiz sırasında serbest radikal üretimindeki artışın diğer bir nedeni iskemi-reperfüzyon mekanizmasıdır (Finaud ve ark 2006). Zorlu egzersiz sırasında başlıca aktif iskelet kasları ve deriye giden kan miktarı artarken, diğer dokulara giden kan akımının azalması nedeniyle bu dokular kısmen iskemiye maruz kalır, vücudun çeşitli organlarında geçici hipoksi ortaya çıkabilir (Vollaard ve ark 2005). Ayrıca maksimal oksijen tüketiminin (VO_{2max}) üzerindeki zorlu egzersiz sırasında oksijen desteği enerji talebini karşılayamadığı için, kas lifleri de nispeten hipoksiye maruz kalabilir (Packer 1997). Bu durumda ATP katabolize olarak hipoksantine, ksantin dehidrojenaz ise ksantin oksidaza dönüşür. Reperfüzyon sırasında oksijen yeniden sağlandığında ksantin oksidazın katalize ettiği bir dizi reaksiyon sonucu süperoksit ve hidrojen peroksit başta olmak üzere bol miktarda serbest radikal üretilir (Sachdev ve Davies 2008). Egzersiz esnasında reaktif oksijen türlerinin oluşumunu tetikleyen diğer mekanizmalar; hemoglobin ve miyoglobinin oksidasyonu (Finaud ve ark 2006), katekolaminlerin otooksidasyonu, NADPH oksidaz yapısı, nötrofiller ve inflamasyon yanıtı şeklinde sıralanabilir (Gomes ve ark 2012).

Egzersiz, yoğunluğuna göre aerobik ve anaerobik olarak, kas kontraksiyonuna göre izometrik, konsantrik ve eksantrik olarak, sıklığına göre akut ve kronik olarak sınıflandırılır (Gomes ve ark 2012). Egzersizin oksidatif stres üzerine etkileri antrenmanın yükü, özelliği (aerobik, anaerobik) ve seviyesine bağlı olarak değişir (Filaire ve Toumi 2012).

Aerobik egzersizlerde oksijen alımındaki artış serbest radikal üretimini artırır (Finaud ve ark 2006). Jogging, koşma, yüzme, kürek çekme ve bisiklet gibi aerobik dayanıklılık egzersizlerinde süre uzundur ve maksimal aerobik kapasitenin yaklaşık % 50-75'i kullanılır (Gomes ve ark 2012). Bununla birlikte, % 50 VO_{2max}'ın altındaki (düşük şiddette) egzersizlerde antioksidan kapasite aşılamadığından serbest radikallerin neden olduğu hasar görülmez (Lovlin ve ark 1987).

Anaerobik egzersiz enerjinin oksijen kullanılmadan anaerobik metabolizmadan karşılandığı kısa süreli maksimal efor ile karakterizedir ve kanda yüksek oranda laktik asit birikimi olur (McArdle ve ark 2010). Anaerobik egzersiz, sprint, sıçrama ve eksantrik veya konsantrik direnç egzersizleri dahil pek çok fiziksel aktiviteyi kapsar. Anaerobik egzersizde ksantin ve NADPH oksidaz üretimi,

prostanoid metabolizması, iskemi-reperfüzyon ve fagositik solunum aktivitesi gibi birçok yolakla serbest radikaller üretilir (Bloomer ve Goldfarb 2004, Fisher-Wellman ve Bloomer 2009). Anaerobik egzersizde diğer bir radikal kaynağı eksantrik egzersiz gibi travmatize egzersizlerde oluşan inflamasyon ve hücresel hasardır (Filaire ve Toumi 2012). Eksantrik direnç egzersizlerinde aşırı travma sonucu demir içeren proteinlerin bozulması ve kas lifi hasarı sonucu kalsiyum homeostazındaki dengesizlik serbest radikal üretimini artırır (Bloomer ve Goldfarb 2004). Özellikle tüketici, eksantrik, ya da uzun süreli egzersizde nötrofil ve diğer fagositik hücreler, meydana gelen doku hasarına immün yanıtın bir parçası olarak serbest radikal üretimi gerçekleştirebilir (Sachdev ve Davies 2008). Tek oturumluk zorlu egzersiz nötrofillerde apoptoza ve mitokondri membran potansiyelinin azalmasına neden olur. Düzenli egzersiz ise nötrofil apoptozunu geciktirerek oksidatif hasara direnci artırır (Syu ve ark 2011).

1.4.2. Egzersiz ve Endojen Antioksidan Sistem

Kas lifleri reaktif türlerin düzenlenmesinde kompleks bir birim olarak çalışan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar içerir. Liflerde yer alan bu antioksidanlar hem hücre dışı ve vasküler boşlukta, hem de çeşitli organeller (örneğin, mitokondri) ve sitoplazma boyunca dağılmıştır. Antioksidanlar oksidan üretiminin arttığı zorlu ve uzun süreli egzersiz dönemlerinde kas liflerini oksidatif hasardan korur (Powers ve Jackson 2008). Gelişmiş antioksidan koruma sadece kaslarda değil karaciğer ve beyin gibi çok önemli sistemik organlarda da gerçekleşir (Radak ve ark 2008).

Antioksidan kapasitenin egzersiz sırasında ve egzersizden hemen sonra geçici olarak azaldığı (Tozzi-Ciancarelli ve ark 2002, Di Massimo ve ark 2004, Watson ve ark 2005, Steinberg ve ark 2006) ve iyileşme döneminde genellikle belirli bir süre sonra bazal seviyenin üstünde arttığı (Vider ve ark 2001, Fatouros ve ark 2004, Watson ve ark 2005, Steinberg ve ark 2006, Michailidis ve ark 2007) gösterilmiştir. Egzersizden hemen sonra sadece bir örnek alarak antioksidan kapasitede herhangi bir değişiklik olmadığını bildiren çalışmalar (Alessio ve ark 1997, Ashton ve ark 1998, Vincent ve ark 2004) olduğu gibi, egzersizden hemen sonra ve egzersizden 20 dakika sonrası herhangi bir değişiklik bildirmeyen bir araştırma (Waring ve ark 2003) da

bulunmaktadır. Organizmada antioksidan kapasite ile spesifik enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında egzersize benzer şekilde yanıt verdikleri gösterilmiştir. Reaktif türlerin üretimindeki artışa cevaben antioksidan savunma geçici olarak zayıflasa da toparlanma döneminde düzelebilir. Ancak araştırmacılar dört temel enzimin (SOD, CAT, GPX, GR) her biri için çelişkili bulgular kaydetmiştir. Sonuçlardaki çeşitlilik, büyük olasılıkla çalışmalar arasında önemli ölçüde değişiklik gösteren egzersiz süresi, yoğunluğu ve örnekleme zamanındaki farklılıklara bağlıdır (Fisher-Wellman ve Bloomer 2009).

1.4.3. Egzersizde Antioksidan Takviyesi

Antioksidanların sağlık durumunu iyileştirme, yaşlanma hızını azaltma, egzersiz performansını geliştirme dahil çok sayıda faydalar sağladığı kabul edilmektedir. Egzersiz esnasında reaktif türlerin üretiminin olumsuz etkileri olduğu ve bu etkilerin düzeltilmesi için antioksidan takviyesi kullanılması gerektiği yaygın bir görüş haline gelmiştir (Hernandez ve ark 2012). Güncel olarak, yeterince test edilmemiş ve bu yüzden etkinliği ve uzun dönem güvenirliliği hakkında bilimsel kanıtları eksik olan çok sayıda vitamin, mineral ve ekstreler antioksidan takviyesi olarak sunulmaktadır. Yapılan çalışmalarda kullanılan takviyeler genellikle E vitamini, C vitamini, beta karoten, koenzim Q10, alfa lipoik asit, N-asetilsistein, allopurinol, kuersetin, resveratrol ve çeşitli diğer polifenik bileşikleri içerir, bu antioksidanların kombinasyonları da kullanılmaktadır (Peternelj ve Coombes 2011). Bazı çalışmalar (Hernandez ve ark 2012) antioksidan takviyesinin egzersiz performansı ve toparlanma hızını büyük ölçüde artıracağı yaygın görüşünü desteklememekte, aksine antioksidan takviyesinin egzersiz sırasında ve egzersiz sonrası kas fonksiyonunu etkilemediği belirtilmektedir. Buna karşılık bazı araştırmalarda (Vina ve ark 2000) antiksidan takviyesinin yorgunluğu önlemeye dair ve performans üzerine olumlu etkileri gösterilmiş ve egzersiz esnasında serbest radikallerin neden olduğu doku hasarının beta karoten, C vitamini, E vitamini, glutatyon ya da N-asetilsistein gibi antioksidanların takviyesiyle azaltılabileceği bildirilmiştir. Kas lifleri aslında egzersizde oksidanların etkilerinden bazı yollarla korunur ve hücreler oksidanlara istirahatte, uyarıldıkları duruma göre daha hassastır (Hernandez ve ark 2012). Farelerde tek bir kas lifi üzerinde yapılan deneyler, uyarılmış kas liflerinde 10 μM hidrojen peroksit uygulanmasının yorgunluk

gelişimini etkilemezken (Place ve ark 2009), istirahat halindeki liflerin 100 pM hidrojen peroksit gibi düşük konsantrasyonlarda bile kontraksiyon ve Ca^{+2} kullanımının etkilendiğini göstermiştir (Andrade ve ark 2001). Egzersiz sırasında reaktif türler ve antioksidanların sınırlı etkileri muhtemelen ROS ve RNS'deki artışlar beklenmedik düzeyde olduğunda ortaya çıkar ve potansiyel olarak zararlıdır (Hernandez ve ark 2012).

Reaktif oksijen ve azot türleri, kas liflerine özgü bazı mekanizmalarla yorgunluk gelişimini hızlandırabilir: membran uyarılabilirliğini azaltarak, sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} salınımını bozarak, sarkoplazmik retikulum Ca^{+2}-ATPaz (SERCA) inhibisyonuyla ve miyofibriler fonksiyona zarar vererek. N-asetilsistein gibi antioksidanlar, bu ileri sürülen etkilerden birini önleyerek yorgunluğa karşı direnci artırabilmektedir (Hernandez ve ark 2012). N-asetilsistein takviyesinin insanlarda bisiklet egzersizi sırasında tükenme süresini uzattığı ve yapılan kas biyopsi analizlerinde Na^{+}-K^{+}ATPaz'ın fonksiyonunu koruyarak egzersiz performansını geliştirdiği gösterilmiştir (McKenna ve ark 2006).

Mega dozlarda antioksidan takviyesi sağlığa zararlı olabilir. Örneğin hücresel antioksidan sistemi güçlendirmek, kas hasarına neden olan egzersizlerde inflamasyon yanıtını azaltabilir ve böylece kas rejenerasyon yeteneğini sınırlayabilir (Tiidus 1998). Ayrıca bazı araştırmacılar antioksidan takviyesinin egzersiz sırasında hücresel ve ekstraselüler antioksidan enzim aktivitesini allosterik olarak azalttığını bildirmişlerdir (Goldfarb ve ark 1994, Reddy ve ark 1998). Bu bulgular, antioksidan takviyesinin redoks dengesini değiştirdiğini ve endojen antioksidan enzim aktivitesini artırmanın gerekmediğini de gösterebilir (Powers ve ark 2004). Egzersiz sırasında redoks dengesindeki geçici prooksidan kayma, antrenman, ısı şok proteinleri ve endojen antioksidanlar da dahil olmak üzere gen transkriptleri için sinyal transdüksiyonunu düzenler (Sen 2001, Powers ve ark 2004). Böylece, hücrenin yüksek düzeylerde antioksidan takviyesine maruz kalması, egzersizle uyarılan bazı hücresel adaptasyonları (Powers ve ark 2004), vazodilatasyon, insülin sinyalleme gibi ROS aracılığı ile gerçekleşen fizyolojik süreçleri ve antrenmanın olumlu etkilerini köreltebilir (Peternelj ve Coombes 2011).

1.4.4. Egzersiz Esnasında Serbest Radikallerin Olumlu Etkileri

Normal şartlarda hücrede düşük ve orta konsantrasyonlardaki ROS yararlı fizyolojik etkilere sahiptir. Hücreyi enfeksiyon ajanlarına karşı koruma, mitoz hücre bölünmesini tetikleme, ikinci haberciler olarak etki edip sinyal molekülü görevi yapma bu etkiler arasında sayılabilir (Filaire ve Toumi 2012). ROS oksidatif fosforilasyonda, sitokrom P450 tarafından ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda ve kusurlu hücrelerin apoptozunda, mikroorganizmalar ile kanser hücrelerinin makrofajlar ve sitotoksik lenfositler tarafından yok edilmesinde de görev alır (Devasagayam ve ark 2004).

Reaktif oksijen türlerinin iskelet kası metabolizması ve kas homeostazında da yararlı roller üstlendiği bilinmektedir (Musaro ve ark 2010). Egzersiz esnasında artan ROS kas kasılmasında, antioksidan koruma ve oksidatif hasarı tamirde önemli bir modülatördür (Radak ve ark 2013). Düşük fizyolojik düzeylerdeki ROS, kasların normal tonusu ve kontraktilitesini sürdürmede katkı sağlarken, ROS'un aşırı üretimi kas atrofisi (Musaro ve ark 2010), kas güçsüzlüğü ve yorgunluğa neden olarak kasılma fonksiyonunu bozar (Powers ve Jackson 2008). Egzersiz iskelet kasında hücre içi sinyal molekülleri olarak çalışan reaktif türleri artırır (Jackson 2005, Powers ve ark 2011). Orta şiddette egzersiz redoksa duyarlı sinyal transdüksiyon yolaklarını düzenleyerek antioksidan ve antiinflamatuar etkiler gösterir (Ji ve Zhang 2014). Örneğin orta şiddette egzersizin sıçan iskelet kasında, mitojen aktive eden protein kinazların aktivasyonunu tetikleyerek nükleer faktör-kappa B yolağını aktif hale getirdiği bildirilmiştir. Bu durum ROS'a karşı hücresel savunmayı sağlayan GPX, SOD gibi önemli enzimlerin ekspresyonunu sağlar. Antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırdığı için orta şiddetteki egzersiz antioksidan olarak tanımlanmaktadır. Şiddetli egzersizde oksidatif stresle birlikte hücre hasarı geliştiği için antioksidan takviyesi yapılmalıdır (Gomez Cabrera ve ark 2008).

Egzersiz esnasında üretilen reaktif türler iskelet kasında önemli adaptasyonlara neden olarak yararlı roller üstlenir. Bunlardan biri anjiyojenezdir (Gomes ve ark 2012). Anjiyojenez aktif endotel hücrelerinin var olan bir kapillerden dallanarak yeni damarlar oluşturmasıyla gerçekleşir (Bloor 2005). Akut egzersizde insan iskelet kas dokusunda hipoksi ile tetiklenen faktör (HIF) düzeylerinin arttığı

gösterilmiştir (Gustafsson ve ark 1999, Lundby ve ark 2006). Hipoksi ile tetiklenen faktör-1α (HIF-1α) vasküler endotel büyüme faktörü salınımının uyarılmasına ve dolayısıyla anjiyojeneze bir etkendir. Dayanıklılık egzersizi esnasında anjiyojenez önemli ölçüde ROS'un HIF-1α'yı aktifleştirmesi ile meydana gelir (Radak ve ark 2013).

Diğer bir önemli adaptasyon mitokondriyal biyojenezdir (Gomes ve ark 2012). Yani mitokondri sayısı ve boyutu artar (Lee ve Wei 2005). Bu adaptasyonun mekanizması tam olarak anlaşılamasa da, güncel çalışmalar bu süreçte ROS'un rol oynadığını bildirmektedir (Gomes ve ark 2012). Mitokondriyal biyojenez aynı zamanda, mitokondri elektron taşıma zincirinden egzersiz indüklü ROS oluşumunu azaltır. Orta şiddetteki egzersiz, peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör-c koaktivatör 1α (PGC-1α)'yı uyarır (Ji ve Zhang 2014). PGC-1α çok sayıda mitokondriyi uyararak aynı miktarda ATP'nin daha düşük solunum kapasiteyle üretilmesini ve dolayısıyla daha az ROS oluşturulmasını sağlar. Ayrıca PGC-1a, GPX, CAT, Cu, Zn-SOD gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini artırır (Radak ve ark 2013).

1.5. Timokinon

Timokinon (2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon), Ranunculaceae (Düğünçiçeğigiller) familyasından çörek otu ya da siyah kimyon olarak bilinen *Nigella sativa* tohumlarından elde edilen esansiyel ve sabit yağın aktif bileşenidir. *Nigella sativa* bitkisi % 36-38 oranında sabit yağ, protein, alkaloid, saponin ve % 0,4-2,5 oranında esansiyel yağ içerir. *Nigella sativa* esansiyel yağında p-cymene, karvakrol, t-anetol, 4-terpineol ve seskuiterpen longifolin bulunmakla birlikte ana bileşen % 30-48 oranında bulunan timokinondur (Burits ve Bucar 2000). Tohum, biyolojik etkinliğini büyük oranda timokinon ile göstermektedir (Ali ve Blunden 2003).

Nigella sativa tohumları Orta Doğu, Kuzey Afrika ve Hindistan'da astım, öksürük, bronşit, baş ağrısı, romatizma, ateş, grip, egzema ve diüretik tedavisinde yüzyıllardır geleneksel olarak kullanılmaktadır (Burits ve Bucar 2000). Serbest radikaller çoğu hastalığın temelini oluşturur. Bu yüzden *Nigella sativa*'nın halk

sağlığında yaygın olarak kullanılma nedeni, sahip olduğu antioksidan özelliği ile açıklanabilir (Ali ve Blunden 2003). *Nigella sativa*'nın özellikle serbest radikal temizleyici rol oynayarak oksidatif stresi düzeltici, çeşitli kanser türlerinin tedavisinde apoptoz indüksiyonunu sağlayıcı (Salim 2010), kan şekerini düşürücü ve diyabet komplikasyonlarını önleyici (Paarakh 2010), dislipidemide ve respiratuar hastalıklarda iyileştirici ve immün sistemi güçlendirici etkileri gösterilmiştir (Butt ve Sultan 2010). Benzer şekilde *Nigella sativa*'dan izole edilen timokinonun antioksidan, antiinflamatuar ve antikanser özellikleri 1960 yılında yapılan ilk ekstraksiyonundan bu yana in vivo ve in vitro olarak incelenmiştir (Woo ve ark 2012).

1.5.1. Timokinonun Antidiyabetik Etkisi

Diyabetin kontrolünde kullanılan ve çeşitli komplikasyonlara yol açan ilaçlar yerine, deney hayvanlarında hipoglisemik etkiye sahip olduğu gösterilen ve diyabet tedavisinde tavsiye edilen bitkilerden biri *Nigella sativa*'dır (Mansi 2005). *Nigella sativa*'nın diyabet tedavisinde etki mekanizmasının tanımlanması, iyi belgelenmiş antihiperglisemik özelliğini ve çeşitli kültürlerin bu bitkiyi geleneksel tıpta kullanma nedenini büyük ölçüde izah eder (Benhaddou ve ark 2010). *Nigella sativa* ekstresi iskelet kas hücreleri, hepatositler ve adipositlerde glikoz homeostazında görev yapan üç ana yol; insülin sinyal yolu, AMPK yolu ve PPAR-gama yolunu aktive ederek insülin benzeri etki sağlamaktadır. *Nigella sativa* etanol ekstresinin hücre kültüründe 18 saat süren takviyesi sonrası C2C12 iskelet kası hücrelerinde ve 3T3-L1 adipositlerde glikoz alımında önemli insülin benzeri stimülasyon sağladığı bildirilmiştir (Benhaddou ve ark 2010). Araştırmacılar tarafından hiperglisemi tedavisinde birçok hipotez öne sürülmüştür (Butt ve Sultan 2010). Bunlardan birinde, streptozotosin ile diyabet oluşturulan nöropatili sıçanlarda *Nigella sativa* ve/veya timokinon takviyesi, serum glikoz düzeylerindeki artışı keskin şekilde azaltmış ve beta hücrelerinde immünoreaktif insülin düzeyi ile birlikte düşük serum insülin konsantrasyonlarını önemli ölçüde artırmıştır. Takviye sonrası siyatik sinirde aksonların yapısal özelliklerinde kayda değer gelişme gözlenirken miyelin yıkımı önemli ölçüde azalmış ve *Nigella sativa* ve timokinon kullanımının periferik nöropati üzerinde potansiyel bir tedavi olarak faydalı olduğu belirtilmiştir (Kanter 2008). *Nigella sativa* yağı ve timokinonun diyabetik sıçanlardaki nöropati ve kalp ve

beyindeki oksidatif strese etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada (Hamdy ve Taha 2009) ise timokinon, antioksidan özelliği sayesinde serum kreatin kinaz-MB (CK-MB) ve beyin monoamin düzeylerinde diyabet etkisiyle oluşan değişiklikleri düzeltmiştir. Diyabetik sıçanlara *Nigella sativa* yağı ve timokinon verilmesi diyabetik gruba kıyasla açlık kan şekerinde düşüşe neden olmaktadır (Hamdy ve Taha 2009). Sıçanlara on iki hafta süreyle 50 mg/kg/gün timokinon verilmesi, hipoglisemik etki oluşturmuş ve böbrekte morfolojik ve fonksiyonel iyileşmeyi sağlayarak diyabetik nefropatiyi baskılamıştır. Timokinonun hipoglisemik etkisi pankreas adacıklarındaki beta hücrelerini kısmen iyileştirmesi sayesinde insülin salgılanmasındaki artıştan kaynaklanabilir (Kanter 2009). Timokinonun antidiyabetik etkisi için diğer olası nedenler ise antioksidan özelliği (Kanter 2008) ve hepatik glukoneogenezi azaltması (Fararh ve ark 2005) olabilir.

1.5.2. Timokinonun Antikarsinojenik Etkisi

Çeşitli kanser hücreleri ve hayvan modellerinde timokinonun antikanser etkisi in vivo ve in vitro araştırmalarla ayrıntılı şekilde incelenmiştir (Abukhader 2013). Timokinon kanserde antiproliferatif etki, apoptozu uyarma, hücre döngüsünü durdurma ile ROS oluşumu, metastaz ve anjiyojenezi baskılama gibi etki mekanizmaları yoluyla tedavi sağlar. Bunların yanı sıra, kaspazların aktivasyonu ve p53, p73, PTEN, STAT3, PPAR-γ yi içeren moleküler yolakları düzenlemesi de antikanser aktiviteye aracılık eder (Woo ve ark 2012). Hepatosellüler karsinom (Sayed-Ahmed ve ark 2010), primer efüzyon lenfoması (Hussain ve ark 2011), kolorektoral kanser (Jrah-Harzallah ve ark 2013), üçlü negatif meme kanseri (Sutton ve ark 2014) timokinonun etkili görüldüğü kanser türlerinden bazılarıdır. Timokinon ve geleneksel kemoterapi ilaçlarının kombinasyonu daha büyük terapötik etki oluşturmakta, ilaç toksisitesini azaltmaktadır (Woo ve ark 2012).

1.5.3. Timokinonun Antiinflamatuar Etkisi

Ensefalomiyelit, diyabet, astım ve kanser dahil çeşitli hastalık modellerinde timokinonun antioksidan ve antiinflamatuar etkisi bildirilmiştir (Woo ve ark 2012). Timokinon inflamasyon sitokinlerinin salınımını azaltır (Kapan ve ark 2012). Oral alımı sonrası IL-6, IL-10, IL-1β, PGE_2, IFN-γ ve TNF-α proinflamatuar sitokin

düzeylerini düşürdüğü ve antiinflamatuar sitokin olan IL-10 düzeylerini artırdığı gösterilmiştir (Umar ve ark 2012). Ayrıca, siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimini bloke ederek, tromboksan B2 ve lökotrien B4 üretimini azaltarak inflamasyona etki etmektedir (Houghton ve ark 1995).

1.5.4. Timokinonun Kardiyovasküler Sisteme Etkisi

Timokinon mezenterik arterde anjiotensin sistemi normale dönüştürerek ve oksidatif stresi inhibe ederek yaşlanma ile ilişkili endotelyal fonksiyonu düzenler (Idris-Khodja ve Schini-Kerth 2012). Timokinon antiperoksidatif, hipolipidemik ve antiaterojenik özelliklerinden dolayı koroner kalp hastalıkları dahil aterosklerotik komplikasyonlar, hiperlipidemi/dislipidemi ve serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasardan korunmada kullanılabilir (Ahmad ve Beg 2013). Sekiz hafta süreyle diyete % 1 kolesterol eklenerek beslenen sıçanlarda timokinon takviyesinin plazma total kolesterol ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düzeyini anlamlı şekilde azalttığı belirtilmiştir (İsmail ve ark 2010).

1.5.5. Timokinonun Antimikrobiyal ve Antiparazitik Etkisi

Nigella sativa'nın antimikrobiyal etkinliği tohumun farklı ekstreleri kullanılarak ortaya konmuş, inhibisyonun özellikle içeriğindeki timokinon ve melaninden kaynaklandığı iddia edilmiştir (Bakathir ve Abbas 2011). Aljabre ve arkadaşları (2005) *Nigella sativa* tohumunun eter ekstresi ve aktif bileşeni timokinonun antifungal aktivitesini, mantar enfeksiyonuna neden olan sekiz ayrı tür için test etmiş, mantar büyümesinin önemli ölçüde önlendiğini gözlemiştir. Bu sonuçlar *Nigella sativa*'nın halk sağlığında fungal deri enfeksiyonlarının tedavisindeki kullanımını desteklemekte ve mantar enfeksiyonu ilaçlarına alternatif olabileceğini göstermektedir (Aljabre ve ark 2005). Çörek otu tohumlarının in vitro olarak *Shistozoma mansoni* parazitinin tüm gelişim aşamalarında güçlü parazit öldürücü etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Mohamed ve ark 2005). Timokinonun özellikle bazı gram pozitif bakterilere karşı olmak üzere in vitro ortamda antibakteriyal etkinliği kanıtlanmıştır (Chaieb ve ark 2011). *Paenibacillus larvae* (Flesar ve ark 2010), *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* (Chaieb ve ark 2011) timokinonun etkili olduğu bakteri türleri arasında yer alır.

1.5.6. Timokinonun Toksik Özellikleri

Timokinonun dişi ve erkek Wistar sıçanlarda intraperitoneal enjeksiyonla ve oral yoldan alımı için maksimum tolere edilen dozları tespit edilmiştir. Timokinonun maksimum tolere edilen dozunun oral yoldan alımı için dişi ve erkek Wistar sıçanlarda 250 mg/kg iken, intraperitoneal enjeksiyon için dişilerde 15 mg/kg, erkek sıçanlarda 22.5 mg/kg olduğu gösterilmiştir (Abukhader 2012). Farelerde timokinonun oral alımının akut ve subkronik toksisitesinin değerlendirildiği bir çalışmada (Badary ve ark 1998), akut toksisitenin incelendiği grupta ortalama öldürücü dozun (LD50) 2.4 g/kg olduğu bulunmuştur. Subkronik toksisite grubunda ise 90 gün boyunca 30, 60 ve 90 mg/kg/gün uygulanmış, çalışma sonunda bütün hayvanların yaşadığı, vücut ağırlığında, sıvı ve gıda alımında herhangi bir fark olmadığı, sadece açlık plazma glikoz düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük olduğu görülmüştür (Badary ve ark 1998).

1.5.7. Timokinonun Antioksidan Etkisi

Nigella sativa tohumunda bulunan bileşenlerin antioksidan etkiye ne ölçüde katkıda bulunduğu analiz edildiğinde hidroksil radikalini temizleme yeteneği açısından en güçlü antioksidan etkinin sırasıyla esansiyel yağı, timokinon, karvakrol, t-anethol, 4-terpineol olduğu tespit edilmiştir (Burits ve Bucar 2000). Çeşitli mekanizmalarla antioksidan özellik gösteren timokinonun süperoksit radikali ve hidroksil radikali dahil reaktif türleri temizlediği ve lipit peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir (Badary ve ark 2003). Timokinon süperoksit radikaline karşı SOD kadar etkili, güçlü bir radikal süpürücüsüdür (Nagi ve Mansour 2000, Badary ve ark 2003). Süperoksit radikali gibi serbest radikalleri temizlemenin yanı sıra, CAT, GPX ve GST gibi çeşitli antioksidan enzimlerin aktivitesini de korur (Woo ve ark 2012). Bir hafta süreyle oral yolla 100 mg/kg timokinon takviyesi sıçanlarda total antioksidan seviyeleri anlamlı şekilde artırmıştır (El-Saleh ve ark 2004). Timokinon hiperkolesterolemik sıçanlarda karaciğerde antioksidan genlerin ekspresyonunu ve plazma ve karaciğer antioksidan kapasitesini etkin biçimde artırır (İsmail ve ark 2010). Gastrik lezyon, karaciğer fibrozu, kardiyotoksisite ve hiperhomosisteinemi patolojisinin serbest radikaller ve oksidatif stres etkisiyle ortaya çıktığına dair güçlü kanıtlar vardır. Bu bağlamda hiperhomosisteinemiye karşı ağızdan alınan *Nigella*

sativa yağı veya timokinon plazma trigliserit düzeyi, lipit peroksidasyonu, kolesterol ve antioksidan durum aktivitesini iyileştirerek koruma sağlamaktadır (El-Saleh ve ark 2004). Timokinon, serbest radikal oluşumu ile ilişkili olduğu bilinen iskemi-reperfüzyona bağlı hasarı, lipit peroksidasyonunu inhibe ederek ya da antioksidan enzim aktivitelerine etki ederek engelleyebilir (El-Abhar ve ark 2003, Abd el-Ghany ve ark 2009, Hosseinzadeh ve ark 2012). Benzer etkileri diyabetik sıçanlarda da gösterilmiştir (Hamdy ve Taha 2009).

Timokinon, serbest radikal oluşturan çeşitli bileşenlerin meydana getirdiği oksidatif hasara karşı organları korumada etkili bir ajandır. Morfin indüklü oksidatif hasar sonucu beyinde biriken MDA ve NO miktarı timokinon ile azaltılabilir (Abdel-Zaher ve ark 2013). Timokinon siklofosfamite bağlı akciğer hasarını lipit peroksidasyon ve inflamasyon reaksiyonları ile ilişkili biyobelirteçleri azaltarak iyileştirir (Suddek ve ark 2013). Timokinonun doksorubisin toksisitesine karşı koruyucu etkisi süperoksit radikal süpürücü ve anti-lipit peroksidasyon rolü ile açıklanmıştır (Nagi ve Mansour 2000). Timokinon; vankomisin (Başarslan ve ark 2012), sisplatin (Ulu ve ark 2012), gentamisin (Sayed-Ahmed ve Nagi 2007) ve kadmiyum (Zafeer ve ark 2012) toksisitesini oksidatif stresi azaltarak ya da antioksidan enzim aktivitesi sayesinde önler.

1.6. Egzersizde *Nigella sativa* Takviyesi

Nigella sativa takviyesinin kronik egzersizdeki antiinflamatuar etkisi Gholamnezhad ve arkadaşlarının (2014) çalışmasında iki ayrı egzersiz protokolü ile araştırılmıştır. Çalışmada sıçanlara sekiz haftalık antrenman süresince günlük 200 mg/kg *Nigella sativa* ekstesi içme suyuna eklenerek verilmiştir. Araştırmacılar *Nigella sativa* takviyesinin orta seviyedeki antrenman yaptırılan sıçanlarda serum IL-6 ve TNF-α düzeyini artırdığını, yoğun antrenmanlı grupta ise IL-6'yı değiştirmeyip TNF-α'yı azalttığını göstermiştir. Ayrıca dolaşımdaki IL-4, IL-10, IFN-γ seviyeleri birlikte değerlendirildiğinde timokinon içeriğine sahip *Nigella sativa*'nın sıçanlarda kronik egzersiz sırasında proinflamatuar ve antiinflamatuar sitokin profilini değiştirebileceği ve Th1/Th2 lenfositlerini dengeleyici bir faktör olabileceği iddia edilmiştir.

Bir başka araştırmada (Farzaneh ve ark 2014) sedanter kilolu kadınlarda plazma lipit profili ve VO_{2max} üzerine *Nigella sativa* desteğinin ve aerobik egzersizin etkileri değerlendirilmiştir. Katılımcılar sekiz hafta süreyle 500±10 mg *Nigella sativa*'nın öğütülmüş tohumunu içeren kapsülleri (günde iki gram *Nigella sativa* olacak şekilde) almış ve haftada üç kez koşu egzersizi gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre *Nigella sativa*'nın egzersiz ile birlikte uygulanması HDL kolesterol ve VO_{2max}'da artış sağlarken, vücut kütle indeksinde, trigliserit, LDL kolesterol ve total kolesterol seviyelerinde azalmaya yol açmıştır (Farzaneh ve ark 2014).

Al-Asoom ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada (2014a), sıçanlara sekiz hafta boyunca günde iki saat koşu bandı egzersizi yaptırılmış ve antrenman süresince oral olarak 800 mg/kg *Nigella sativa* verilmiştir. Çalışmanın sonuçları *Nigella sativa* takviyesiyle birlikte kronik egzersizin kalpte fizyolojik büyümeyi sağladığını göstermiştir. Ayrıca *Nigella sativa*, daha düşük kalp hızı, daha yüksek QRS amplitüdü ile spesifik ventriküler potansiyelde artışa neden olmuştur. Bu şekilde kronik egzersizle birlikte uygulanan *Nigella sativa*'nın kalp yetmezliği ile ilgili yeni bir terapötik strateji olarak değerlendirilebileceği belirtilmiştir. Aynı araştırmacıların diğer bir çalışmasında (Al-Asoom ve ark 2014b) *Nigella sativa* takviyesi ile egzersizin eşzamanlı uygulanmasının kalpte fizyolojik büyümeyi sağladığı, insülin benzeri büyüme faktörü-1'i ve total antioksidan kapasiteyi artırdığı, serum tiroksin seviyesini düşürdüğü ve bu nedenle sadece egzersizle tetiklenen fizyolojik kardiyak hipertrofiye kıyasla daha üstün avantaja sahip olduğu belirtilmiştir (Al-Asoom ve ark 2014b).

Yukarıda sunulduğu gibi *Nigella sativa* desteğinin egzersizdeki fizyolojik rollerini değerlendiren araştırmalar bulunmakla birlikte, egzersize bağlı oluşan oksidatif hasara etkisini veya temel bileşeni olan timokinon takviyesinin akut ve kronik egzersizdeki etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Bu doktora tezinin amacı, sıçanlara 14 gün boyunca uygulanan timokinonun tükenme egzersizi koşullarında egzersiz performansı, oksidatif durum, antioksidan enzim ve sitokin düzeyleri üzerine etkilerini belirlemektir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Necmettin Erbakan Üniversitesi Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (KONÜDAM) Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 29/03/2013 tarih ve 2013/055 sayılı karar ile etik kurul onayı alındı (Bkz. Ek-A). Hayvanların temini, egzersiz programlarının uygulanması ve örnek alma aynı merkezde gerçekleştirildi. Çalışmanın tüm aşamalarında etik ilkelere riayet edildi.

2.1. Deney Hayvanları

Çalışma başlangıç ağırlıkları ortalama 437,9±47,7 g olan 30 adet erişkin Wistar Albino cinsi erkek sıçanla yapıldı. Sıçanlar ortalama 20±2 °C sıcaklık ve % 50±5 nisbi neme sahip, saatte 15 defa taze hava değişimi yapılan iklim kontrollü odalarda, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsünde (07:00/19:00) tutuldu. Sıçanlar taban alanı 1820 cm^2 olan ana gövdesi polikarbon, tel kısmı paslanmaz çelik malzemeden yapılmış kafeslerde, her kafeste dört hayvan olacak şekilde barındırıldı. Sıçanlara standart sıçan yemi (BİLYEM A.Ş., Ankara) ve çeşme suyu ad-libitum olarak verildi. Her gün düzenli olarak yem ve su kontrolleri yapıldı. Çalışma süresince vücut ağırlıkları takip edildi.

2.1.2. Gruplar

Toplam otuz sıçan rastgele seçilmek suretiyle dört gruba ayrıldı. Çalışma başlangıcında grupların dağılımı şu şekildedir:

- Kontrol (C) (n:6): Sıçanlara 14 gün boyunca her gün oral olarak 0,5 ml/kg taşıyıcı madde (mısır yağı) verildi ve başka herhangi bir uygulama yapılmadı.
- Timokinon (TQ) (n:8): Sıçanlara 14 gün süreyle her gün 50 mg/kg timokinon 0,5 ml mısır yağı içerisinde çözülerek oral gavaj yoluyla verildi.
- Egzersiz (E) (n:8): Sıçanlara 14 gün süreyle oral olarak 0,5 ml/kg taşıyıcı madde (mısır yağı) verildi ve çalışmanın son günü bir defaya mahsus olmak üzere tükenme egzersizi protokolü uygulandı.

- Timokinon + Egzersiz grubu (ETQ) (n:8): Sıçanlara 14 gün süreyle her gün 50 mg/kg timokinon 0,5 ml mısır yağı içerisinde çözülerek oral gavaj yoluyla verildi ve çalışmanın son günü bir defaya mahsus tükenme egzersizi protokolü uygulandı.

2.2. Timokinon Takviyesi

Timokinon % 99 saf toz haliyle Sigma-Aldrich'den temin edildi. Yapılan literatür taraması sonucu timokinonun mısır yağında çözdürüldüğü çalışmalar (El-Sayed 2011, Gilhotra ve Dhingra 2011, Sankaranarayanan ve Pari 2011) dikkate alındı. Timokinon mısır yağında 100 mg/ml konsantrasyonunda çözdürülerek timokinon gruplarındaki sıçanlara 50 mg/kg dozunda (Mansour ve ark 2002, Kanter 2011, Oğuz ve ark 2012) oral gavaj yoluyla 14 gün süreyle her gün sabah 09.30-10.30 arasında verildi.

2.3. Egzersiz Protokolü

Egzersiz gruplarında yer alan sıçanlara, kemirgenler için özel olarak tasarlanmış altı kulvarlı kemirici koşu bandında koşu egzersizi yaptırıldı (MAY-TME 0804 Animal Treadmill, Commat, Türkiye). Egzersiz esnasında koşu bandının fanı çalıştırılarak koşu bandında hava sirkülasyonu sağlandı. Egzersiz aralarında koşu bandının kayışı idrar ve dışkı artıklarından temizlendi.

2.3.1. Koşu Bandına Uyum Uygulaması

Tükenme egzersizi uygulanacak gruplar egzersizden önceki üç gün boyunca, 15 dakika süreyle 15-30 m/dk (0,9-1,8 km/saat) hızda (Lin ve ark 2006, Belviranlı ve ark 2012) koşturularak koşu bandına adapte olmaları sağlandı.

2.3.2. Tükenme Egzersizi Protokolü

Sıçanlar 5 dakika ısınma egzersizinden sonra, 30 m/dk (1,8 km/saat) hız ve 10° yokuş yukarı eğimde (Liu ve ark 2005, Lin ve ark 2006, Huang ve ark 2008, Huang ve ark 2009) tükeninceye kadar koşturuldu. Sıçanlarda bu hızın VO_{2max}'ın

yaklaşık % 70-75'ine karşılık geldiği belirtilmiştir (Lin ve ark 2006). Tükenme kriteri olarak sıçanların sırt üstü çevrildiklerinde doğrulma reflekslerinin kaybolması (Gül ve ark 2006) ve manuel teşvike rağmen elektrik şoku verilebilen ızgara üzerinden kaçamayıp bant üzerine geri dönememeleri esas alındı. Her hayvanın tükenme süresi kaydedildi. Diurnal etkileri en aza indirmek için tüm uygulamalar günün aynı saatinde (09.00-12.00) yapıldı.

2.4. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Toplanması

Çalışma boyunca TQ grubundan 1 sıçan ve ETQ grubundan 1 sıçan gavaj uygulamasına bağlı olarak öldü, 28 sıçan çalışmayı tamamladı. Bulguların elde edildiği gruplarda nihai olarak C:6, TQ:7, E:8, ETQ:7 sıçan mevcuttu.

Sıçanlar tükenme egzersizinin hemen sonrasında anesteziye alındı. Tüm gruplara intraperitoneal 50 mg/kg ketamin HCl ve 10 mg/kg ksilazin HCl kombinasyonu verilerek anestezi sağlandı. Anestezi ile uyutulan sıçanlar intrakardiyak kan alımını takiben servikal dislokasyonla sakrifiye edildi. Serum ve plazma elde etmek için anestezi altında kardiyak ponksiyon yoluyla yaklaşık 8-10 ml kan alındı. Plazma analizleri için EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri kanın pıhtılaşmasını önlemek için 3-5 kez altüst edildi. Soğutmalı santrifüjde (Nüve NF 1200R) 3000 rpm hızında 10 dakika boyunca santrifüj edilip plazmaları ayrıldı. Serum analizleri için antikoagülan içermeyen tüplere alınan kan örnekleri +4 ^{o}C'de 30 dakika bekletildi ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumlarının ayrılması sağlandı. Bütün örnekler ilgili parametrelerin ölçümleri yapılıncaya kadar -80 °C'de (Sanyo MDF-U5386S) muhafaza edildi.

Kan alınan sıçanların ölümleri gerçekleştikten sonra gastroknemius kas dokuları toplandı. Doku örnekleri soğuk (4 °C) distile suyla yıkanıp kan ve doku artıkları uzaklaştırıldı ve kurutma kağıdından geçirilerek 1,5 ml hacmindeki kapaklı ependorflara konuldu. Her dokudan iki örnek, analiz zamanına kadar -80 °C'de saklandı.

2.5. Biyokimyasal Analizler

Analiz zamanına kadar -80 °C'de bekletilen serum, plazma ve dokular sırasıyla -20 °C ve +4 °C'ye alındı ve çözülmeleri sağlandı. Yirmi dört plazma örneğinde çalışılabildi ve biyokimyasal analize başlandı.

2.5.1. Dokuların Homojenizasyonu

Dokular homojenizasyon öncesi hassas terazide darası alınmış tüplerde tartıldı. Toplam ağırlık doku ağırlığının yaklaşık 10 katı olacak şekilde fosfat tamponu ile dilüe edildikten sonra homojenizatör (Wise Mix HG-15; Daihan Scientific, Seoul, Korea) ile soğuk zincirde homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar (% 10) +4 °C'de 3200 rpm'de 30 dakika süre ile santrifüj edilerek supernatant I oluşturuldu. Supernatant I'in 1ml'si MDA, SOD, GSH, GPX analizleri için ayrıldı. Kalan sıvıdan 1 ml alındı, üzerine 1 ml 3/5 oranında hazırlanan kloroform/etanol karışımı ilave edilerek vortekslendi. Bu karışım +4 °C'de 3200 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Üstte oluşan etanol fazından protein tayini yapıldı.

2.5.2. Serum Kreatin Kinaz ve Laktat Dehidrojenaz Ölçümü

Serum kreatin kinaz (CK) ve serum laktat dehidrojenaz (LDH) aktiviteleri direk kolorimetrik yöntemle BT-3000 Plus marka otoanalizör cihazı ve ADS marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü ve sonuçlar U/L olarak tayin edildi.

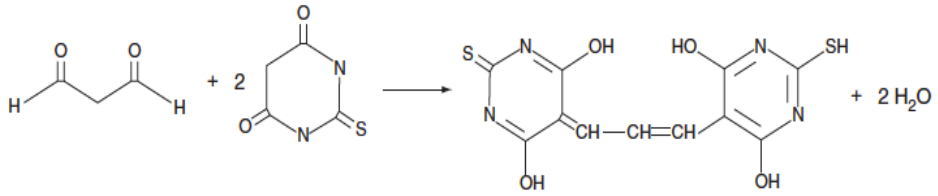
2.5.3. Serum Tümör Nekroz Faktörü-Alfa ve İnterlökin-6 Ölçümü

Serum tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α) (eBioscience BMS622) ve serum interlökin-6 (IL-6) (eBioscience BMS625) düzeyleri ticari kit kullanılarak belirlendi. Kit prospektüslerine uygun olarak standart ve numunelerin absorbansı ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü ve sonuçlar pg/ml olarak ifade edildi.

2.5.4. Malondialdehit Ölçümü

Plazma ve kas dokusu malondialdehit düzeyleri ticari kit kullanılarak

(Cayman Chem, 10009055) tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) ölçümü ile spektrofotometrik kolorimetrik yöntemle tayin edildi. Kullanılan TBARS ölçüm kiti plazma, serum, idrar, doku homojenatları ve hücre lizatlarında lipit peroksidasyonunu test etmekte kullanılan basit, tekrarlanabilir ve standart bir araçtır. Yüksek sıcaklık (90-100 ^{o}C) ve asidik koşullar altında MDA ve tiyobarbutirik asitin (TBA) reaksiyonu ile oluşan MDA-TBA bileşimi (Şekil 2.2.) kolorimetrik olarak 530 ya da 540 nm dalga boyunda, florometrik olarak ise 530 nm eksitasyon, 550 nm emisyon dalga boyunda ölçülür (Cayman Chem, 10009055). Bu araştırmada MDA düzeyi mikroplate okuyucuda kolorimetrik olarak 530 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar kan örneklerinde µM/L, doku örneklerinde ise µM/g doku olarak ifade edildi.



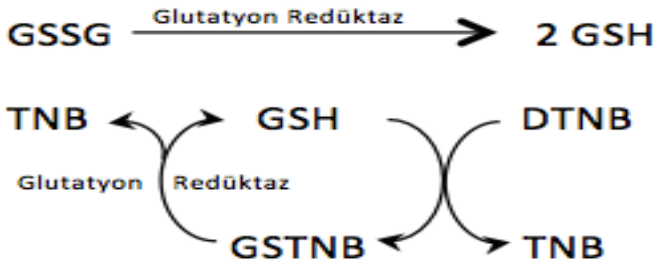
MDA TBA MDA-TBA Bileşimi

Şekil 2.1. MDA-TBA Bileşimi (Cayman TBARS kit katalog no: 10009055).

2.5.5. Glutatyon Düzeyi Ölçümü

Plazma ve kas dokusu glutatyon seviyesi ticari kit kullanılarak (Cayman Chem, 703002) spektrofotometrik kolorimetrik yöntemle tayin edildi. Bu kit, GSH düzeylerinin belirlenmesinde glutatyon redüktaz varlığında gerçekleşen enzimatik döngü metodunu (Şekil 2.3.) kullanır. GSH'nın sülfidril grubu Ellman reaktifi DTNB (5,5'-Ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit) ile tepkimeye girer ve sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB) oluşur. Beraberinde GSH ile TNB arasında GSTNB gibi karışık disülfitler oluşur ve bu sülfitler GSH'ya dönüştürülmek için glutatyon redüktaz tarafından indirgenirken daha fazla TNB açığa çıkar. TNB oluşum hızı örnekteki GSH derişimi ve bu döngüsel reaksiyon ile doğrudan ilişkilidir. Böylece TNB absorbansının 405-414 nm'de ölçümü ile örnekteki net GSH miktarı belirlenir.

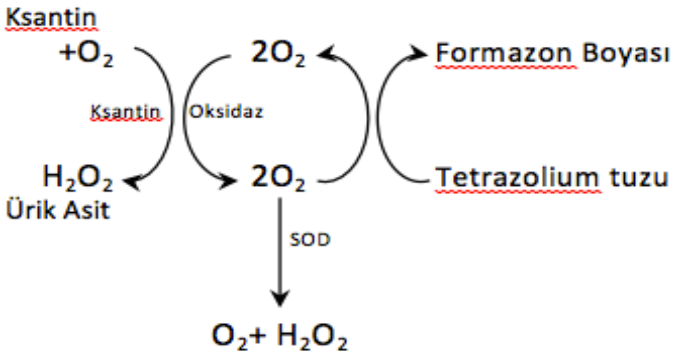
Bu tez çalışmasında mikroplate okuyucuda 410 nm'de standart ve numunelerin absorbansı okundu ve standartlara karşı numunelerin konsantrasyonları kaydedildi. Sonuçlar kan örneklerinde µM/L, doku örneklerinde ise µM/g protein olarak ifade edildi.



Şekil 2.2. GSH Döngüsü (Cayman GSH kit katalog no: 703002).

2.5.6. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

Plazma ve kas dokusu süperoksit dismutaz aktiviteleri ticari kit (Cayman Chem, 706002) kullanılarak spektrofotometrik kolorimetrik yöntemle tayin edildi. Bu kit ksantin oksidaz ve hipoksantin tarafından üretilen süperoksit radikalinin ölçümü için tetrazolium tuzunu kullanır.



Şekil 2.3. SOD Ölçüm Prensibi (Cayman SOD kit katalog no: 706002).

Süperoksit dismutazın bir ünitesi süperoksit radikalinin % 50 dismutasyonunu ortaya koymak için gerekli enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. Kullanılan bu test her üç SOD tipini de (Cu/Zn, Mn ve FeSOD) tayin eder. Test, plazma, serum, eritrosit lizatları, doku homojenatları ve hücre lizatlarında SOD aktivitesini ölçen basit, tekrarlanabilir ve hızlı bir araçtır. Üretici direktiflerine uygun

olarak bu tez çalışmasında mikroplate okuyucuda 450 nm'de standart ve numunelerin absorbansı okundu ve standartlara karşı numunelerin konsantrasyonları kaydedildi. Sonuçlar kan örneklerinde U/mL, doku örneklerinde ise U/g protein olarak ifade edildi.

2.5.7. Glutatyon Peroksidaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

Plazma ve kas dokusu glutatyon peroksidaz aktiviteleri ölçümünde ticari kit (Cayman Chem, 703102) kullanıldı. Bu kit glutatyon peroksidaz aktivitesini glutatyon redüktaz enzimi tarafından katalizlenen bir reaksiyon yoluyla dolaylı olarak ölçer. Hidroperoksitin GPX tarafından indirgenmesi ile GSSG üretilir, daha sonra GSSG, GR ve NADPH yardımı ile GSH haline geri dönüştürülür. NADPH'nın NADP'ye oksidasyonu sırasında solüsyonun 340 nm dalga boyundaki absorbsiyonunda azalma ortaya çıkar. Bu azalma örnekteki GPX enzim aktivitesiyle doğru orantılıdır. GPX aktivitesi ELISA okuyucuda 340 nm dalga boyunda beş kez ölçüldü ve nmol/dk/mg protein olarak ifade edildi.

$$R\text{-}O\text{-}O\text{-}H + 2GSH \xrightarrow{GPX} R\text{-}O\text{-}H + GSSG + H_20$$

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^+$$

2.5.8. Protein Ölçümü

Dokularda protein tayini Lowry yöntemi kullanılarak yapıldı (Lowry (1951). Bu yöntem alkali çözelti ortamında bakır-protein kompleksinin Folin-Ciocalteu-Phenol reaktifini indirgemesi ve koyu mavi bir renk oluşturması prensibine dayanır. Oluşan rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Protein ölçümü için değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış olan protein standart solüsyonlarından faydalanıldı ve deney protokolüne uygulandı. Bekleme süresinin sonunda 750 nm dalga boyunda köre karşı absorbans değerleri okundu. Numunelerin protein içerikleri standart grafiği yardımıyla mg/mL cinsinden hesaplandı.

2.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistik analizi bilgisayarda SPSS 19.00 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Bulgular ortalama±standart sapma (SS) ve medyan (min-max) şeklinde verildi. Bütün verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile, grup varyanslarının homojen olup olmadığı Levene testi ile test edildi. Normal dağılıma uymayan parametrelere logaritmik ve karekök transformasyon uygulandı. Vücut ağırlığı değişikliklerinin grup içi karşılaştırması bağımlı örneklem t testi ile, gruplar arası karşılaştırması one-way ANOVA testi ile yapıldı. Tükenme egzersizi sonrasında tükenme sürelerinin ortalamaları bağımsız örneklem t testi ile karşılaştırıldı. Oksidatif stres ve antioksidan belirteçlerinin egzersiz ve timokinon ile ilişkisini değerlendirmek için normal dağılıma uygun olan ve/veya transformasyon yapılarak normallik sağlanan verilerde one-way ANOVA ve ardından gruplar arasında anlamlı fark bulunması durumunda Tukey testi yapıldı. Normal dağılıma uygun olmayan ve/veya transformasyon ile dağılımı normalleşmeyen verilerde Kruskal Wallis testi ve gruplar arasında anlamlı fark bulunması durumunda Mann-Whitney-U testi kullanıldı. P değerinin 0,05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Timokinon Takviyesinin Vücut Ağırlığına Etkileri

Çalışma başlangıcı ve sonunda grupların vücut ağırlıklarına ilişkin değerler Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Timokinon takviyesinin vücut ağırlığına etkisi (ort±SS).

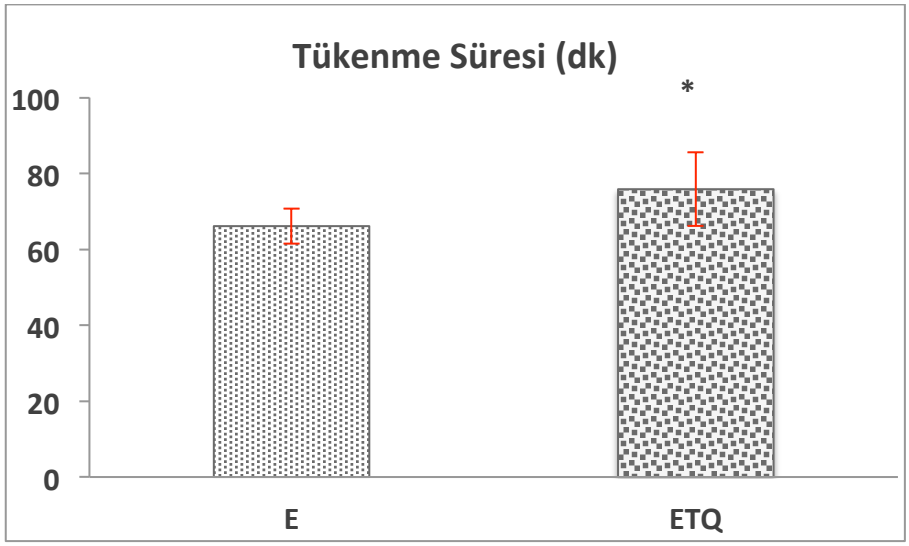
	C (n=6)	TQ (n=7)	E (n=8)	ETQ (n=7)
Çalışma başlangıcı(g)	423,5±42,3	433,1±51,1	444,4±40,2	434,2±58,6
Çalışma sonu (g)	418,5±52,0	418,6±54,1	428,0±39,7*	405,7±62,0*

(*: Çalışma başlangıcına göre farklı $p<0,05$). C:Kontrol, TQ: Timokinon, E: Egzersiz, ETQ: Egzersiz+timokinon.

Çalışmanın başlangıcında sıçanların vücut ağırlıkları bakımından gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Çalışma sonunda E ve ETQ gruplarının vücut ağırlığı ölçümlerinde başlangıç ağırlıklarına kıyasla azalma gözlendi ($p<0,05$). Bununla birlikte vücut ağırlığı değişimi bakımından yapılan gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

3.2. Timokinon Takviyesinin Tükenme Süresi Üzerine Etkisi

Tükenme egzersizi uygulanan gruplardaki sıçanların tükenme süreleri Şekil 3.1'de sunulmuştur. İki hafta süreyle her gün timokinon takviyesi alan egzersiz grubunda (ETQ) tükenme süreleri (75,8±9,7 dk) egzersiz grubuna (E) (66,1±4,6 dk) kıyasla yüksek bulundu ($p<0,05$).



Şekil 3.1. Timokinon takviyesinin tükenme süresine etkisi, p=0,025.
E: Egzersiz, ETQ: Egzersiz+timokinon.

3.3. Timokinon Takviyesinin Tükenme Egzersizinde Serum CK ve LDH Aktiviteleri Üzerine Etkileri

İki hafta boyunca yapılan timokinon takviyesi sonrası akut tükenme egzersizi yaptırılan sıçanların serum CK ve LDH aktiviteleri Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Grupların serum CK ve LDH aktiviteleri (ort±SS).

	C (n=6)	TQ (n=7)	E (n=8)	ETQ (n=7)
CK (U/L)	767,7±293,8	1069,4±355,9	1137,9±591,8	1303,9±473,1
LDH (U/L)	1004,0±351,0	1075,4±364,4	851,6±331,7	1008,1±325,2

C:Kontrol, TQ: Timokinon, E: Egzersiz, ETQ: Egzersiz+timokinon. Serum CK ve LDH aktivitelerinin gruplar arası karşılaştırılmasında ANOVA testi kullanıldı.

Serum CK ve LDH aktiviteleri bakımından gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı (p>0,05).

3.4. Timokinon Takviyesinin Tükenme Egzersizinde Bazı Serum Sitokinleri Üzerine Etkileri

Timokinon verilen ve verilmeyen sıçanlarda akut tükenme egzersizi sonrasında serum IL-6 ve TNF-α sitokin düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Çizelge 3.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Grupların serum IL-6 ve TNF-α düzeyleri (ort±SS).

	C (n=6)	TQ (n=7)	E (n=8)	ETQ (n=7)
IL-6 (pg/ml)	123,1±4,0	121,0±5,6	120,9±3,6	121,3±5,6
TNF-α (pg/ml)	137,3±8,7	135,1±8,0	136,5±7,7	136,3±7,9

C:Kontrol, TQ: Timokinon, E: Egzersiz, ETQ: Egzersiz+timokinon. Serum IL-6 ve TNF-α düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmasında one way ANOVA testi kullanıldı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TQ, E ve ETQ gruplarının serum IL-6 ve TNF-α düzeylerindeki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

3.5. Timokinon Takviyesinin Tükenme Egzersizi Yaptırılan Sıçanların Plazma ve Kas Dokusundaki Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Belirteçleri Üzerine Etkileri

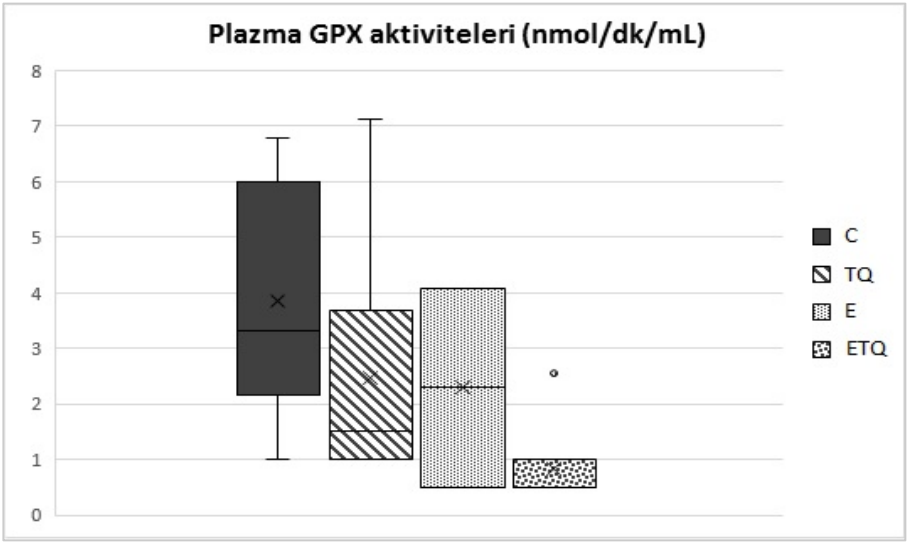
İki hafta boyunca uygulanan timokinon takviyesinin akut tükenme egzersizi sonrası sıçanların plazmasında (Çizelge 3.4.) ve iskelet kas dokusunda (Çizelge 3.5.) bulunan oksidatif stres (MDA) ve antioksidan savunma (GSH, GPX, SOD) belirteçlerine etkileri aşağıda gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Grupların plazma MDA, GSH, GPX ve SOD verileri.

	C (n=6)	TQ (n=6)	E (n=6)	ETQ (n=6)
MDA (µM/L)	0,9±0,2	1,1±0,3	0,5±0,2	1,2±1,0
GSH (µM/L)	59,5±14,5	69,6±17,3	65,5±18,9	59,5±8,1
GPX (nmol/dk/mL)	3,3 (1,0-6,8)	1,5 (1,0-7,1)	2,3 (0,5-4,1)	0,5 (0,5-2,6)[a,b]
SOD (U/mL)	0,6 (0,1-1,2)	1,6 (0,3-4,8)	2,4 (0,1-3,9)	3,0 (2,1-3,2)

([a]:C'ye göre farklı [b]:TQ'a göre farklı, $p<0,05$). C:Kontrol, TQ: Timokinon, E: Egzersiz, ETQ: Egzersiz+timokinon. Plazma MDA, GSH, SOD verileri ortalama±standart sapma; plazma GPX ve SOD aktiviteleri medyan (min-max) olarak gösterilmiştir. Plazma MDA verilerine logaritmik transformasyon yapıldıktan sonra, gruplar arası karşılaştırmalarda one-way ANOVA testi kullanıldı. Plazma GSH ve SOD verileri için ANOVA testi kullanıldı. Transformasyonlar ile dağılımı normalleşmeyen plazma GPX aktivitesinin gruplar arası karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ve ardından Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

Plazma MDA, GSH ve SOD verileri bakımından gruplar arasında anlamlı fark yoktu. ETQ grubunun plazma GPX aktivitesi C ve TQ gruplarına göre düşük bulundu ($p<0,05$).

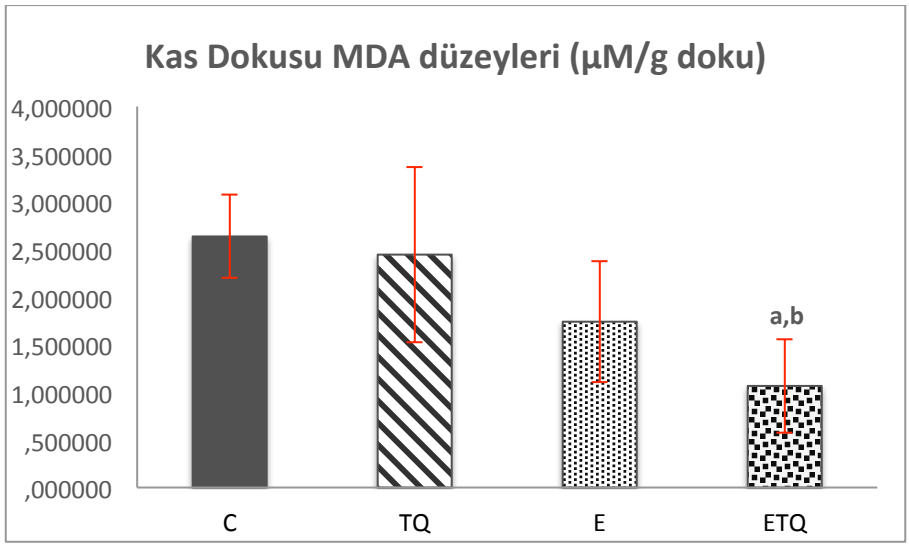


Şekil 3.2. Grupların plazma GPX medyan değerleri. C:Kontrol, TQ: Timokinon, E: Egzersiz, ETQ: Egzersiz+timokinon.

Çizelge 3.5. Grupların kas dokusu MDA, GSH, GPX ve SOD verileri.

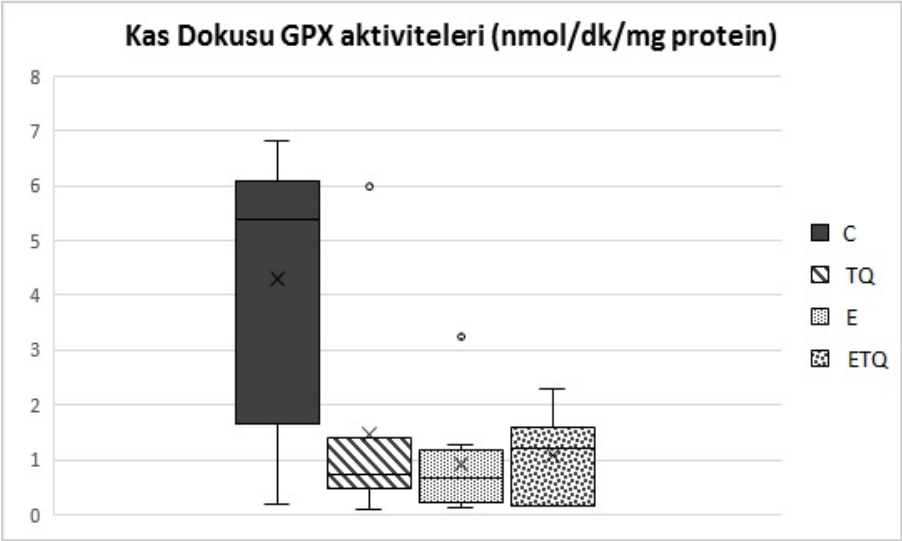
	C (n=6)	TQ (n=7)	E (n=8)	ETQ (n=7)
MDA (µM/g doku)	2,6±0,4	2,4±0,9	1,7±0,6	1,1±0,5[a,b]
GSH (µM/mg protein)	5,6±2,1	7,3±1,9	5,9±1,6	8,2±1,9
GPX (nmol/dk/mg protein)	5,4 (0,2-6,8)	0,7 (0,1-6,0)	0,7 (0,1-3,2)[a]	1,2 (0,2-2,3)[a]
SOD (U/mg protein)	0,9 (0,6-1,0)	0,7 (0,4-1,0)	0,5 (0,4-1,0)	0,7 (0,5-1,2)

([a]:C'ye göre farklı [b]:TQ'a göre farklı, p<0,05). C:Kontrol, TQ: Timokinon, E: Egzersiz, ETQ: Egzersiz+timokinon. Kas dokusu MDA ve GSH verileri ortalama±standart sapma; kas dokusu GPX ve SOD aktiviteleri medyan (min-max) olarak gösterilmiştir. Kas dokusu GPX verilerine karekök transformasyon, SOD verilerine logaritmik transformasyon uygulandı. Kas dokusu MDA, GSH, GPX ve SOD verilerinin analizinde ANOVA testi, post-hoc karşılaştırmalarda Tukey testi kullanıldı.



Şekil 3.3. Grupların kas dokusu MDA düzeyleri (ort±SS) ([a]:C'ye göre farklı [b]:TQ'a göre farklı, p<0,05). C:Kontrol, TQ: Timokinon, E: Egzersiz, ETQ: Egzersiz+timokinon.

ETQ grubunda kas dokusu MDA düzeyi C ve TQ gruplarına göre düşük bulundu (p<0,05). Kas dokusu GSH düzeyi ve SOD aktivitesi bakımından gruplar arasında anlamlı fark yoktu. E ve ETQ gruplarında kas dokusu GPX aktivitesi C grubuna kıyasla düşüktü.



Şekil 3.4. Grupların kas dokusu GPX medyan değerleri. C:Kontrol, TQ: Timokinon, E: Egzersiz, ETQ: Egzersiz+timokinon.

4. TARTIŞMA

4.1. Timokinon Takviyesinin Vücut Ağırlığına Etkisi

Çalışmamızda tek başına timokinon takviyesi kontrol grubuna kıyasla vücut ağırlık değişimini anlamlı şekilde etkilemedi. Çalışmanın sonunda tükenme egzersizi yaptırılan E ve ETQ gruplarının vücut ağırlıklarında başlangıç değerlerine kıyasla azalma gözlendi. Ancak yapılan gruplar arası karşılaştırmada ağırlık değişikliği bakımından anlamlı farklılık bulunmadı. E ve ETQ gruplarının vücut ağırlıklarındaki azalmanın tükenme egzersizinden kaynaklanmış olduğunu düşünmekteyiz.

Suddek ve arkadaşları (2013) sıçanlara 14 gün boyunca oral yolla 100 mg/kg timokinon takviyesi yaptıkları çalışmada timokinon takviyesinin çalışma başlangıç değerlerine kıyasla vücut ağırlığında artışa neden olduğunu, ancak bu artışın kontrol grubundaki sıçanların ağırlık artışına benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca oksidatif hasar oluşturdukları deney grubunda vücut ağırlıkları azalmakla (% 9,5) birlikte, oksidatif hasar+timokinon grubunun ağırlık azalması (% 10,3) ile kıyaslandığında anlamlı fark bulunmadığı belirtilmiştir. Wistar cinsi sağlıklı sıçanlara 14 gün süreyle verilen 10 mg/kg timokinon takviyesi vücut ağırlık artışını etkilememiştir (Hamdy ve Taha 2009). Diğer bir çalışmada (Tubesha ve ark 2013) sıçanlara timokinon içeriği zengin nanoemülsiyon verilmesi besin alımı üzerine anlamlı etki etmemiş, iki hafta sonunda takviye alan ve almayan erkek sıçan gruplarındaki ağırlık artışları benzerlik göstermiş, dişi sıçanlarda ise vücut ağırlığında değişiklik gözlenmemiştir. Çalışmamızda uyguladığımız timokinon takviyesinin tek başına sıçanlarda vücut ağırlık değişimine anlamlı etkisinin olmaması bu çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir.

4.2. Timokinon Takviyesinin Egzersizde Tükenme Süresi Üzerine Etkisi

Egzersiz sonrası tükenme süresinin on dört gün süreyle timokinon takviyesi yapılan sıçanlarda 75,8±9,7 dakika, tükenme egzersizi grubunda ise 66,1±4,6 dakika olduğu gözlendi. Bu iki grup karşılaştırıldığında timokinon takviyesi yapılan grupta tükenme süresinin % 14,7 daha fazla olduğu tespit edilmiştir. ETQ grubunda tükenme süresinin anlamlı şekilde artması, uyguladığımız timokinonun sıçanların

fiziksel dayanıklılığını olumlu etkilediğini göstermektedir.

Orta ve yüksek yoğunlukta koşu egzersizi yaptırılan sıçanlarda antioksidan takviyesinin aerobik kapasiteyi artırdığı iddia edilmiştir (Vadan ve ark 2012). Buna karşılık besin takviyelerinin antioksidan ve antiinflamatuar özellikleri sayesinde egzersizdeki kas hasarı ve oksidatif strese karşı koruma sağladığı literatürde gösterilse de, egzersiz performansını iyileştirme olasılığı belirsizliğini korumaktadır. Örneğin polifenollerin dayanıklılık performansını geliştirdiği hayvan çalışmalarında in vitro ve in vivo olarak gösterilirken, çoğu insan çalışması bu hipotezi desteklemez ve kuersetin, kateşin ya da resveratrol gibi nutrasötiklerin egzersiz performansı ve VO_{2max}'a etkisini göstermede başarısızdır (Malaguti ve ark 2013).

Literatürde timokinonun tükenme süresi ve egzersiz performansı üzerine etkisini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Ancak sınırlı sayıdaki araştırmada (Al-Asoom ve ark 2014a, 2014b, Farzaneh ve ark 2014) çörek otu bitkisinin egzersiz esnasında VO_{2max} üzerine, bazı kardiyavasküler parametrelere ve plazma lipit profili üzerine olumlu etkileri olduğu ortaya konulmuştur. Farzaneh ve arkadaşları (2014) sekiz hafta boyunca aerobik egzersiz antrenmanına tabi tutulan sedanter kilolu kadınlarda *Nigella sativa* takviyesinin VO_{2max} düzeylerinde artış sağladığını kaydetmişlerdir. Sıçanlarda kronik egzersizle birlikte verilen sekiz haftalık *Nigella sativa* desteği sonrası, kalpte fizyolojik büyüme bulguları ile daha düşük kalp hızı, daha yüksek QRS amplitüdü ve spesifik ventriküler potansiyelde artış gözlemlenmiştir (Al-Asoom ve ark 2014a). Benzer egzersiz protokolündeki diğer bir araştırmada (Al-Asoom ve ark 2014b) *Nigella sativa*'nın kalpte fizyolojik büyümeyi sağladığı, insülin benzeri büyüme faktörü-1'i ve total antioksidan kapasiteyi artırdığı ve serum tiroksin seviyesini azalttığı ifade edilmiştir. Çalışmamızda timokinon takviyesi tükenme süresini anlamlı düzeyde artırmış ve sıçanların fiziksel performansını pozitif yönde etkilemiştir. Elde edilen bu bulgu, timokinon ve egzersiz ile ilgili bilinenlere katkı sağlayabilir.

4.3. Timokinon Takviyesinin Serum CK ve LDH Aktiviteleri Üzerine Etkileri

Uzun süreli ve şiddetli egzersizi takiben metabolik ve mekanik faktörlerin sonucu olarak kas dokusu hasar görebilir. Lokal doku hasarı Z bandındaki

parçalanma ve sarkomerik dejenerasyonla kendini belli eder ve bunu ATP bağımlı ubikutin protozom yoluyla protein yıkımı izler. Egzersiz aerobik olduğu zaman, kas membran geçirgenliğinde herhangi bir değişiklik olmaz. Zorlu egzersizde ise membran geçirgenliği değişir (Brancaccio ve ark 2010) ve kas dejenere olduğunda kas hücreleri parçalanarak içerikleri kan dolaşımına bırakılır (Anand ve ark 2012). Kreatin kinaz ve laktat dehidrojenaz kas hasarının serumdaki en yararlı belirteçlerindendir (Brancaccio ve ark 2010). Normalde vücuttaki kreatin kinazın çoğu kaslarda bulunduğundan, kandaki kreatin kinaz artışı kas hasarı meydana geldiğini gösterir (Anand ve ark 2012). Laktat dehidrojenaz, NADH'nın NAD'a dönüşümü ile eş zamanlı olarak pirüvatı laktata dönüştüren enzimdir ve benzer şekilde LDH izoenzimlerindeki spesifik artış, travmatik olmayan akut kas dokusu hasarının teşhisine yardımcı olabilir (Brancaccio ve ark 2010).

Akut tüketici egzersiz sonrası sıçanlarda serum ve plazmada CK ve LDH enzim aktivitelerinin arttığı bildirilmektedir (Huang ve ark 2008, Huang ve ark 2009, Wang ve ark 2013). Malaguti ve arkadaşları (2009) sıçanlarda % 7 eğimde ve en fazla 24 m/dk hızda uygulanan tüketici koşu egzersizinin plazma CK ve LDH aktivitelerini artırdığını göstermişlerdir. Anand ve arkadaşları (2012) sıçanların kuyruk kısımlarına vücut ağırlıklarının % 7,5'i kadar yük takılarak üç hafta boyunca her gün uygulanan tüketici yüzme egzersizinin serum CK aktivitelerini artırdığını bildirmiştir. Bu bulguların aksine, Bortolon ve arkadaşları (2012) sıçanlara koşu bandında başlangıç hızı 0,3 km/s olan ve 3 dakika arayla hızın 0,3 km/s artırılarak yaklaşık % 70 VO_{2max}'da uygulanan tek oturumluk tüketici koşu egzersizinden ne hemen sonra ne de 2 veya 24 saat sonrasında alınan kan örneklerinde serum CK aktivitesinde anlamlı değişiklik olmadığını gözlemlemişlerdir. Bu çalışmayla uyumlu olarak bizim çalışmamızda da egzersizden hemen sonra alınan kan örneklerinde egzersiz grubunda serum CK aktivitesi kontrol grubundan farklı değildi. Ayrıca serum LDH aktivitesinde de gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Kas hasarının muhtemelen kasılma süresi ve yoğunluğu ile orantılı ve kas ağrısı şiddeti ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Serum CK aktivitesinin egzersiz bitiminden 24 saat sonra pik seviyeye ulaştığı ve 48-72 saat yüksek düzeyde kalabildiği bildirilmiştir (Brancaccio ve ark 2008). Buna göre uygulanan egzersiz protokolü, kan örneklerinin alınma zamanı gibi faktörlerin sonuçları etkileyebileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda timokinon takviyesi serum CK ve LDH aktivitelerini etkilemedi. El-Khouly ve arkadaşlarının (2012) çalışmalarında bleomisine bağlı pulmoner fibrozda verilen timokinonun LDH düzeylerini azalttığı bildirilmiştir. Nagi ve arkadaşları (2011) siklofosfamitin serum CK ve LDH seviyesinin artmasına yol açtığını, timokinon takviyesinin ise bu artışı iyileştirdiğini rapor etmişlerdir. Bu bulguların aksine siklofosfamite bağlı akciğer hasarında timokinon desteği serum LDH düzeyini anlamlı etkilememiştir (Suddek ve ark 2013).

4.4. Timokinon Takviyesinin Tükenme Egzersizinde Bazı Serum Sitokinleri Üzerine Etkileri

Egzersiz esnasında oksijen tüketiminin artmasıyla birlikte aktive olmuş fagositik hücrelerin varlığı ayrıca bunların hasarın başladığı alana birikmelerinin sonucu olarak serbest radikal üretimi artar. Bu nedenle egzersiz sırasında ortaya çıkan inflamasyon ve oksidatif stres kasın metabolizması ve kas hasarıyla ilişkilidir (Brancaccio ve ark 2010). Egzersizde ATP'nin azalması ve ROS üretimine ilave olarak yorgunluk da inflamasyon reaksiyonlarını tetikler. Kasılma sırasında iskelet kas lifleri bu reaksiyonlara karşı sistemik antiinflamatuar ortam oluşturmak üzere hem sitokinleri hem de bazı peptidleri üretip salgılar. Kas hücrelerinde üretilen ve çeşitli parakrin ve endokrin etkileri olan bu sitokinler miyokinler olarak tanımlanmaktadır (Brandt ve Pedersen 2010, Finsterer 2012). İskelet kasında ilk tanımlanan ve üzerinde en fazla çalışılan miyokin IL-6'dır. İskelet kası IL-6'nın yanı sıra, TNF-α, IL-8, IL-10 (Febbraio ve Pedersen 2002), IL-15, beyin kaynaklı nörotropik faktör (BDNF), lökemi inhibitör faktör (LIF), fibroblast büyüme faktörü-21 (Izumiya ve ark 2008), follistatin benzeri-1 (Ouchi ve ark 2008) gibi miyokinler salgılamakta, ancak egzersiz sırasında dolaşımda en fazla artış IL-6'da görülmektedir (Brandt ve Pedersen 2010). IL-6 monosit ve makrofajlarda proinflamatuar, kas hücrelerinde başlıca antiinflamatuar sitokin olarak görev yapar. TNF-α ise apoptoz, inflamasyon, hücre proliferasyonunu ve hücre farklılaşmasını etkileyebilen ve ağırlıklı olarak makrofajlar tarafından üretilen bir proinflamatuar sitokindir (Finsterer 2012). Sitokin seviyesinin artması en fazla eksantrik egzersizden sonra gözlense de, konsantrik egzersiz de sitokin üretimini etkiler (Pedersen 2000).

Donatto ve arkadaşları (2010) tüketici yüzme egzersizini takiben plazma IL-6 düzeyinin arttığını ve serum TNF-α düzeylerinin azaldığını bulmuşlardır. Bortolon ve arkadaşları (2012) tek oturumluk şiddetli egzersizi takiben hemen sonra, 2 saat sonra ve 24 saat sonra plazmada inflamasyon biyobelirteçlerini incelediklerinde, TNF-α düzeyinde zamana bağlı olarak anlamlı değişiklik görülmemiş, plazma IL-6 düzeyinde ise yalnızca egzersizden 2 saat sonra anlamlı artış olduğunu belirtmişlerdir. Borges ve arkadaşları (2015) sıçanlarda koşu bandında uygulanan tükenme egzersizi öncesi, hemen sonrası ve iki saat sonrası yapılan ölçümlerde plazma TNF-α ve soleus kası IL-6 ve TNF-α değerleri açısından fark olmadığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda serum IL-6 ve TNF-α seviyeleri akut tükenme egzersizinden etkilenmemiştir. Bu durum uygulanan egzersiz protokolü (egzersizin tipi, süresi ve yoğunluğu) veya kan örneklerinin alınma zamanı gibi nedenlere bağlı olabilir. Egzersiz sonrası plazma IL-6 artış düzeyini belirleyen en önemli faktörün egzersizin süresi olduğu belirtilmiştir (Fischer 2006). Ayrıca efor şiddeti, mekanik olarak çalışan kasın kütlesi ve dayanıklılık kapasitesi de IL-6 artışını etkileyen faktörler arasında yer alır (Febbraio ve Pedersen 2002).

Bilgilerimize göre bu hayvan çalışması timokinon takviyesinin akut tükenme egzersizindeki antioksidan durum ve serum sitokin profili üzerine etkilerinin incelendiği ilk araştırmadır. Çalışmamızda timokinon takviyesinin serum IL-6 ve TNF-α üzerine anlamlı etkisi olmamıştır. Literatürde yalnızca tek bir çalışmada (Gholamnezhad ve ark 2014) timokinon içeriğine sahip *Nigella sativa* takviyesinin kronik egzersizdeki inflamasyona etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonunda egzersizden hemen sonra alınan kan örneklerinde, orta seviyedeki antrenmanın serum IL-6 ve TNF-α düzeylerini etkilemediği, yoğun antrenmanın ise her iki sitokin düzeyini de artırdığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar *Nigella sativa* takviyesinin orta seviyedeki antrenman yaptırılan sıçanlarda serumda hem IL-6 hem de TNF-α sitokin düzeyini artırdığını, yoğun antrenmanlı gruba uygulanan takviyenin IL-6 düzeyini değiştirmeyip TNF-α düzeyini azalttığını bulmuşlardır. Suddek ve arkadaşları (2013) siklofosfamite bağlı akciğer hasarına timokinonun etkisini araştırdıkları çalışmada, timokinonun serum TNF-α aktivitesini anlamlı ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Benzer etki Nagi ve arkadaşlarının çalışmalarında (2011) siklofosfamite bağlı kardiyotoksisite durumunda da gözlenmiştir. İskemi-reperfüzyonun neden olduğu oksidatif hasarda ise on gün boyunca 5 mg/kg timokinon takviyesinin karaciğer

TNF-α düzeyini anlamlı düzeyde etkilemediği, 20 ve 50 mg/kg olarak verilen timokinon TNF-α düzeyini azalttığı belirtilmiştir (Abd el-Ghany ve ark 2009).

4.5. Timokinon Takviyesinin Tükenme Egzersizinde Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Belirteçleri Üzerine Etkileri

4.5.1. MDA Düzeylerindeki Değişiklikler

Çalışmamızın sonuçlarında plazma MDA düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı. Kas dokusu MDA düzeyi tek başına timokinon takviyesi ya da tek başına tükenme egzersizinden etkilenmedi.

İnsanlarda ve deney hayvanlarında akut tükenme egzersizinin oksidatif stres oluşturup oluşturmadığı ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır, ancak sonuçlar çelişkilidir. Çeşitli çalışmalarda sıçanlarda akut tükenme egzersizinin plazma (Deminice ve Jordao 2012) ve iskelet kası (Huang ve ark 2009), kalp (Lin ve ark 2006), akciğer (Huang ve ark 2008), böbrek (Bucioli ve ark 2012), karaciğer (Lima ve ark 2013) gibi dokularda oksidatif hasar belirteçlerini artırdığı gösterilmiştir. Kuyruklarına vücut ağırlıklarının % 3'ü kadar yük bağlanarak yüzdürülen sıçanlarda tüketici yüzme egzersizinin karaciğerde lipit peroksidasyonunu artırdığı kaydedilmiştir (Korivi ve ark 2012). Benzeri deneysel protokol ile gerçekleştirilen Yu ve arkadaşlarının çalışmasında (2012) iskelet kası MDA seviyesinin arttığı bildirilmiştir. Yaşlı sıçanlarda +10° eğim ve 30 m/dk hızdaki tüketici koşu egzersizi kalp, iskelet kası, karaciğer, akciğer, böbrek dokusu ve plazmada MDA düzeylerini artırmıştır (Huang ve ark 2008). Tek oturumluk tüketici yüzme egzersizi sıçan böbrek dokusunda MDA düzeyinde artışa neden olmaktadır (Bucioli ve ark 2011) Bir diğer çalışmada (Öztaşan ve ark 2004) hızı 1.2 km/s'ten 2.1 km/s'e kadar kademeli olarak artırılan +10° eğimdeki koşu bandında uygulanan akut tüketici koşu egzersizinin eritrosit MDA düzeyinde artışa yol açtığı belirtilmiştir.

Bu gözlemlerin aksine, bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak bazı çalışmalarda tek oturumluk tükenme egzersizinin lipit peroksidasyonunu etkilemediği (Gül ve ark 2006, Balcı ve ark 2012) ya da özellikle antrenmanlı sıçanlarda bazı dokularda

muhtemelen antioksidan sistemlerin kapasitesini artırarak MDA seviyesini azalttığı gösterilmiştir (Balcı ve ark 2012). Sıçanlarda tüketici koşu egzersizinden önce, hemen sonra ve iki saat sonra yapılan ölçümlerde soleus kasında TBARS değerleri açısından fark bulunmamıştır (Borges ve ark 2015). Kon ve arkadaşları (2007) Sprague-Dawley sıçanlarda akut tüketici koşu egzersizinin kas dokusu (gastroknemius ve soleus) MDA düzeyini değiştirmezken, karaciğerde artırdığını bildirmiştir. Liu ve arkadaşları da (2000) sıçanlarda 1,6 km/saat hızda tükeninceye kadar yaptırılan akut koşu egzersizinin karaciğerde lipit peroksidasyonunu artırdığını ancak kas (soleus ve rectus femoris), beyin ve kalp dokularında değiştirmediğini gösterdiler. Gül ve arkadaşları (2002) diyabetik sıçanlarda akut tükenme egzersizi ile TBARS düzeyinin karaciğerde anlamlı ölçüde artarken kas (kırmızı gastroknemius ve vastus lateralis) ve böbrek dokularında etkilenmediği sonucunu bulmuşlardır. Sıçanlarda sekiz haftalık koşu egzersizi sonrası ne antrenmanlı ne de antrenmansız grupta kalp dokusu MDA düzeyleri akut tükenme egzersizinden etkilenmemiştir (Gül ve arkadaşları 2006). Organlar arasındaki farklılık organın oksijen tüketimi, antioksidan düzeyi, oksidanlara ve antioksidan enzim aktivasyonuna duyarlılığı ve diğer tamir mekanizmaları gibi faktörlerden kaynaklanabilir (Liu ve ark 2000).

Egzersizin tipi, yoğunluğu ve süresi dokularda oluşan oksidatif hasarın büyüklüğünü etkiler (Fisher-Wellman and Bloomer 2009). Akut ve kronik egzersiz, organ ve dokuların tipine ve bu dokuların endojen antioksidan seviyelerine göre oksidatif stres açısından farklı cevaplar ortaya koyar (Liu ve ark 2000). Örneğin tek oturumluk egzersiz aslında antioksidan sistemlerin tamponlama aktivitesi sayesinde kalp dokusunda önemli oksidatif strese neden olmayabilir. Ancak çok uzun egzersiz oturumları tekrar edilerek organizmaya yüklendiğinde (kronik egzersiz) oksidatif stres kümülatif etki ile kendini gösterir (Liu ve ark 2000). Liu ve arkadaşları (2000) akut tükenme egzersizi ile kalp ve kas dokusunda MDA'nın değişmeyip kronik egzersiz sonucu artış göstermesini bu durumla açıklamışlardır. Ayrıca oksidatif belirteç ve antioksidanların akut egzersiz veya antrenmana yanıtları ile ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmesi; düşük veya yüksek antrenman şiddeti, koşu veya yüzme egzersizi, dişi veya erkek denek, sıçan veya fare kullanılması gibi çalışma modellerindeki farklılıklardan kaynaklanabilir. Aynı zamanda oksidatif stres parametreleri ile bunların belirlenmesinde kullanılan metodolojilerin farklılığı da

sonuçlar üzerinde etkilidir (Gül ve ark 2006).

Akut egzersizle lipit peroksidasyon belirteçlerinin değişmediği (Kretzschmar ve ark 1991, Leaf ve ark 1997, Falone ve ark 2010) veya azaldığı (Groussard ve ark 2003) şeklindeki bulgular insan çalışmalarında da gösterilmiştir. Tek oturumluk anaerobik egzersizin plazma TBARS düzeylerini % 23,7 düşürdüğü (Groussard ve ark 2003) ve antrenmansız bireylerde akut egzersizin plazmada lipit peroksit düzeyini (Kretzschmar ve ark 1991) ve serum MDA değerlerini değiştirmediği (Falone ve ark 2010) bildirilmiştir. Nakhostin-Roohi ve ark (2013) antrenmansız sağlıklı genç erkeklerde % 75 VO_{2max}'da uygulanan akut tükenme egzersizinden önce, hemen sonra, iki saat ve yirmi dört saat sonra serum MDA düzeyinin önemli düzeyde değişmediğini tespit etmişlerdir. Berzosa ve arkadaşlarının çalışmasında da (2011) bisiklet ergometresinde yaptırılan akut maksimal ve submaksimal egzersiz testlerinde tükenme egzersizi plazma MDA ve 4-hidroksialken düzeylerini etkilememiştir. Bir diğer araştırmada (Alessio ve ark 2000) akut izometrik ve akut aerobik tükenme egzersizlerinde egzersizden önce, hemen sonra ve bir saat sonra plazma MDA düzeyinin değişmediği, lipit hidroperoksit düzeyinin ise izometrik egzersizde artarken aerobik egzersizden etkilenmediği kaydedilmiştir. Quindry ve ark (2003) ne submaksimal egzersiz ne de maksimal yoğunluktaki egzersiz sonrası plazma MDA ve lipit hidroperoksit değerlerinde anlamlı değişiklik olmadığını gösterdiler. Leaf ve arkadaşlarının çalışmasında (1997) akut maksimal egzersiz sonrası serum MDA düzeylerinin değişmemesi, MDA'nın salgılanma, yıkım ve tüm vücuda dağıtılma gibi mekanizmalar tarafından plazmadan temizlenmesi ile açıklanmıştır. Ayrıca tükenme egzersizi nedeniyle oluşan oksidatif stresin egzersizin süresine bağlı olduğu ve kısa süreli tüketici koşu egzersizinin lipit hidroperoksit düzeyinde önemli değişikliğe yol açmadığı da iddia edilmektedir (Revan ve ark 2010).

Bizim sonuçlarımıza göre tek başına timokinon takviyesi plazma ve kas dokusunda kontrol grubuna kıyasla MDA düzeyini değiştirmedi. Bulgularımızla uyumlu olarak, timokinonun oksidatif stres durumlarındaki etkisini araştıran diğer çalışmalarda tek başına (istirahatte) timokinon takviyesinin kontrol grubuna kıyasla çeşitli dokularda MDA düzeyini değiştirmediği (Hamdy ve Taha 2009, Sayed-Ahmed ve ark 2010, Başarslan ve ark 2012, Ulu ve ark 2012, Aycan ve ark 2015)

gösterilmiştir. Ayrıca timokinon verilerek tükenme egzersizi yaptırılan sıçanlarda, kas dokusu MDA seviyeleri C ve TQ grubuna göre düşüktü, ancak egzersiz grubu ile kıyaslandığında anlamlı değişiklik yoktu. Bu sonuçlara göre uyguladığımız timokinon takviyesinin tükenme egzersizinde MDA üzerine anlamlı bir etkisi olmamıştır.

Çalışmamızda ETQ grubunda hem plazma hem kas dokusunda GPX aktivitesi azalırken SOD aktivitesi ve GSH düzeyi değişmedi. Bu durum dokuyu egzersiz nedeniyle oluşabilecek oksidatif strese daha duyarlı hale getirebilmektedir (Gül ve ark 2006). Bununla birlikte ETQ grubunda kas dokusunda tükenme egzersizi nedeniyle MDA düzeyinin artmadığını hatta düştüğünü gözlemledik. Gül ve arkadaşları (2006) antioksidan enzim aktivitelerindeki azalmanın kalp dokusunu egzersiz nedeniyle oluşabilecek oksidatif strese daha duyarlı hale getirebileceği halde egzersizin MDA düzeyini artırmadığını ve bu durumun muhtemelen kalp dokusunda diğer enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların (tiyoredoksin, E vitamini gibi) egzersiz nedeniyle oluşabilecek oksidatif strese karşı kısmen koruma sağladığı şeklinde yorumlamışlardır. Biz de ETQ grubunda GSH, SOD ve GPX antioksidan enzim aktivitelerinde artış görülmediği için, kas dokusu MDA düzeyinin düşmesine diğer enzimatik ve enzimatik olmayan endojen antioksidanların neden olabileceğini düşünüyoruz. Genel olarak egzersiz ve antioksidan takviye çalışmalarında denek sayısı, takviyenin form ve dozu, süresi ve zamanlaması, ayrıca uygulanan egzersiz protokolü ve oksidatif stresi değerlendirmek için kullanılan yöntem gibi çoğu metodolojik konu da sonuçları etkileyebilir (Peternelj ve Coombes 2011).

Çeşitli antioksidan takviyelerinin akut egzersize bağlı oksidatif strese etkileri pek çok çalışmada (Bucioli ve ark 2012, Martinez-Compos ve ark 2012, Zheng ve ark 2012) araştırılmıştır. Timokinonun tükenme egzersizindeki oksidatif strese etkisi tanımlanmasa da, kimyasal maddeler (Abdel-Zaher ve ark 2013), diyabet (Hamdy ve Taha 2009), iskemi-reperfüzyon hasarı (Hosseinzadeh ve ark 2012) ve kanser türlerindeki (Sayed-Ahmed ve ark 2010, Woo ve ark 2012, Jrah-Harzallah ve ark 2013) oksidatif hasar durumlarında antioksidan rolü değerlendirilmiştir. Dietilnitrozamin ile tetiklenen karaciğer kanseri başlangıcında timokinon takviyesinin oksidatif strese etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (Sayed-Ahmed ve ark 2010) sıçanlara yedi gün süreyle uygulanan günde 4 mg/kg timokinon

takviyesinin karaciğer dokusunda artmış MDA düzeyini engellediği rapor edilmiştir. Benzer şekilde sıçanlarda kolon kanseri oluşturmak için 1,2 dimetilhidrazin uygulaması öncesinde verilen timokinon desteğinin, MDA düzeylerindeki artışı normal değerlerine doğru düzelttiği öne sürülmüştür (Jrah-Harzallah ve ark 2013). Ulu ve arkadaşları (2012) sıçanlarda sisplatinin böbrek dokusunda MDA seviyesinin artmasına yol açtığını, timokinon takviyesinin ise bu artışı iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Benzer etki sıçanlarda vankomisine bağlı böbrek hasarında (Başarslan ve ark 2012) ve karaciğer dokusu (Abd el-Ghany ve ark 2009) ile iskelet kasında (Hosseinzadeh ve ark 2012) iskemi-reperfüzyonun neden olduğu oksidatif stres çalışmalarında da gösterilmiştir.

4.5.2. SOD Aktivitesindeki Değişiklikler

Tükenme egzersizi oksijen tüketimini veya ksantin oksidaz enzimi aktivitesini artırarak süperoksit üretimini tetikler. Tükenme egzersizi sonrası SOD, süperoksitin hidrojen peroksite dönüşerek ortadan kaldırılmasında önemli rol oynar. Aşırı süperoksite karşı koymak için SOD kullanımında artış olur; bu yüzden net SOD aktivitesi azalabilir (Korivi ve ark 2012). Anand ve arkadaşlarının (2012) çalışmasında sıçanların kuyruk kısımlarına vücut ağırlıklarının % 7,5'i kadar yük takılarak üç hafta boyunca her gün tüketici yüzme egzersiz yaptırılmış, üç hafta sonunda egzersiz grubunda sedanterlere kıyasla karaciğer SOD aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Korivi ve arkadaşları da (2012) akut tüketici yüzme egzersizinin sıçan karaciğerinde SOD aktivitesinin azalmasına yol açtığını bildirmiştir. % 10 yokuş yukarı eğimde hızın kademeli olarak artırıldığı bir diğer çalışmada (Öztaşan ve ark 2004), koşu bandında uygulanan akut tüketici egzersiz eritrosit SOD aktivitesinin azalmasına sebep olmuştur. Bu bulgu tek oturumluk tüketici egzersiz sonrası kalp dokusu (Gül ve ark 2006, Okudan ve ark 2012), iskelet kası (Huang ve ark 2008) ve plazmada da (Belviranlı ve ark 2012) gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda plazmada ve iskelet kas dokusunda SOD aktivitesi açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Benzer şekilde Balcı ve arkadaşları (2012) sıçan kalp dokusu ve gastroknemius dokusunda SOD aktivitesinin tek oturumluk tükenme egzersizinden etkilenmediğini bildirmiştir. Borges ve arkadaşları (2015) da sıçanlarda koşu bandında uygulanan akut tükenme egzersizden önce, hemen sonra ve

iki saat sonra yapılan ölçümlerde iskelet kası SOD aktivitesi açısından farklılık olmadığını gösterdiler. Huang ve arkadaşlarının (2009) çalışmasında genç Sprague-Dawley sıçanlarda +10° eğim ve 30 m/dk hızda uygulanan akut tüketici koşu egzersizi, karaciğerde ve böbrek dokusunda SOD enzim aktivitelerini değiştirmemiştir. Tükenme egzersizinin sıçanlarda hipokampüs, prefrontal korteks ve striatumda SOD aktivitelerini değiştirmediği bulunmuştur (Açıkgöz ve ark 2006). Bununla birlikte akut tükenme egzersizi ile iskelet kas dokusunda (Huang ve ark 2009) ve kalp dokusunda (Lin ve ark 2006), böbrek dokusunda (Huang ve ark 2008) SOD aktivitelerinin yükseldiğini bildiren çalışmalar da vardır. Tükenme egzersizine cevap olarak antioksidan enzimlerde artış veya azalma gösteren çalışmalarda, bu durumun sebebinin muhtemelen bu enzimlerin oksidatif stresle ilişkili olası zararlı etkilere karşı koyarak kompanse etmesi olduğu bildirilmiştir (Lin ve ark 2006, Huang ve ark 2008, Korivi ve ark 2012, Zheng ve ark 2012).

4.5.3. GPX Aktivitesindeki Değişiklikler

GPX, hidrojen peroksiti suya dönüştürme yeteneğine sahiptir (Finaud ve ark 2006). Korivi ve arkadaşları (2012) kuyruk kısımlarına vücut ağırlıklarının % 3'ü kadar yük bağlanarak uygulanan tüketici egzersiz protokolünün sıçanlarda karaciğer GPX aktivitesinde anlamlı azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Gül ve arkadaşları da (2006) dayanıklılık antrenmanının tükenme egzersizindeki antioksidan duruma etkisini inceledikleri araştırmada, hem antrenmanlı hem de antrenmansız grupta akut koşu egzersizinin kalp dokusu GPX aktivitesini azalttığını bulmuşlardır. Diğer bir çalışmada (Belviranlı ve ark 2012), Sprague-Dawley sıçanlarda 30 m/dk hızdaki akut koşu egzersizinin plazmada GPX enzim aktivitelerini azalttığı gözlemlenmiştir. Araştırmacılar antioksidan enzim aktivitesinde azalmanın egzersiz esnasındaki ROS üretimindeki artış nedeniyle olduğunu ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde orta yaşlı sıçanlarda uzun süreli kalori kısıtlaması sonrası uygulanan akut tüketici yüzme egzersizinin beyin dokusu GPX aktivitesini düşürdüğü bildirilmiştir (Aydın ve ark 2009). Yaşlı sıçanlarda tüketici koşu egzersizi karaciğer ve böbrek dokusunda GPX aktivitesini azaltmaktadır (Huang ve ark 2008). Bizim çalışmamızda da egzersiz grubunda iskelet kas dokusundaki GPX aktivitesi kontrol grubuna kıyasla düşük bulundu. Ayrıca plazma GPX aktivitesi tek başına akut egzersizden etkilenmedi. İskelet kas dokusundaki GPX enzim aktivitesindeki azalma,

uyguladığımız tüketici egzersiz protokolüne bağlı gelişen oksidatif hasarla ilişkili muhtemel etkilere karşı koymak için GPX'in kullanılmasına bağlı olabilir. Bazı çalışmalarda ise (Gül ve ark 2002, Huang ve ark 2008, Malaguti ve ark 2009, Borges ve ark 2015) sıçanlarda iskelet kas dokusu GPX aktivitesinin tükenme egzersizinden etkilenmediği iddia edilmiştir. Bu etki Sprague-Dawley cinsi 18 aylık yaşlı sıçanlarda kalp ve akciğer dokusunda (Huang ve ark 2008), 14 haftalık genç sıçanlarda karaciğerde ve böbrek dokusunda da (Huang ve ark 2009) gösterilmiştir. Bu sonuçların aksine tüketici egzersizden sonra eritrositlerde (Öztaşan ve ark 2004), kalp kasında (Zheng ve ark 2012) ve iskelet kasında (Huang ve ark 2009) GPX aktivitesinde artış gözlendiği ortaya konmuştur. Antioksidan durumun egzersizin tipine ve organa bağlı olarak büyüklük ve yön açısından farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Liu ve ark 2000).

Çalışmamızda timokinon verilen egzersiz grubunda tükenme süresi anlamlı şekilde arttı. Ayrıca ETQ grubunda hem plazma hem de kas dokusunda GPX aktivitesi düşük bulundu. Tükenme süresinin uzun olmasının daha yüksek düzeyde O_2 tüketimine ve sonuçta daha fazla ROS üretimine maruz kalma nedeniyle dokuda antioksidan seviyenin azalmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Aydın ve ark 2009, Gül ve ark 2002). Bizim çalışmamızda da ETQ grubunun plazma ve kas dokusu GPX aktivitesinin düşmesinin nedeni, tükenme süresinin uzamasına bağlı olarak daha fazla ROS'a maruz kalma ve antioksidan savunma parametrelerinin bu durumdan etkilenmesi olabilir.

4.5.4. GSH Düzeylerindeki Değişiklikler

GSH egzersiz sırasında dokuları oksidatif hasardan koruma konusunda çeşitli fonksiyonlara sahiptir (Banerjee ve ark 2003). Bunlardan ilki, GPX'in katalizlediği reaksiyon yoluyla organik peroksitleri ve hidrojen peroksiti indirgemektir. İkinci olarak singlet oksijen ile hidroksil radikallerini süpürür ve hem doğrudan hem de dolaylı olarak semidehidroaskorbat radikalini indirgeyip tokoferol radikallerini azaltır; GSH böylece lipit peroksidasyonunu engeller (Ji 1999). Hücre içi GSH tüketimi antrenman durumunun yanı sıra egzersizin türü, süresi ve yoğunluğuna bağlıdır (Bachur ve ark 2007). Egzersizi takiben kas dokusundan plazmaya GSH çıkışı azalır, plazma GSH düzeyinin azalması iskelet kasında GSH kullanımının

arttığını gösterir (Kretzschmar ve Müller 1993). Gül ve arkadaşları (2002) diyabetik sıçanlarda akut tükenme egzersizinin karaciğer ve kas dokusunda (kırmızı gastroknemius ve vastus lateralis) total GSH düzeyini etkilemediğini bildirmiştir. Diğer bir çalışmada (Liu ve ark 2000), 1,6 km/saat hızda tükeninceye kadar akut koşu egzersizi yaptırılan sıçanlarda GSH düzeyi rectus femoris kas dokusunda azalmış, soleus kas dokusunda değişmemiştir. Balcı ve ark (2012) sıçan kalp dokusu ve gastroknemius dokusu GSH düzeyinin tek oturumluk tükenme egzersizinden etkilenmediğini bildirmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda plazmada ve kas dokusu GSH düzeyleri egzersizden etkilenmemiştir. Ayrıca timokinon takviyesinin de plazma ve kas dokusu GSH düzeyi üzerine anlamlı etkisi olmamıştır. Literatürde çeşitli egzersiz protokolleri uygulanan sıçanlarda tek oturumluk tükenme egzersizinin böbrek dokusunda (Huang ve ark 2008, Bucioli ve ark 2011, Bucioli ve ark 2012), eritrositlerde (Öztaşan ve ark 2004, Liu ve ark 2005), kalp, iskelet kası, karaciğer ve akciğer dokusunda (Huang ve ark 2008) GSH düzeyini değiştirmediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, tükenme egzersizi ile GSH düzeyinin kalp dokusunda (Okudan ve ark 2012) arttığını veya gastroknemius kas dokusunda (Bachur ve ark 2007) azaldığını bildiren çalışmalar da mevcuttur. Karaciğer dokusunda tüketici egzersizden sonra GSH düzeylerinin arttığı da (Lima ve arkadaşları 2013), azaldığı da (Korivi ve ark 2012) gösterilmiştir.

Çeşitli oksidatif stres çalışmalarında timokinon takviyesinin GSH düzeyleri ile SOD ve GPX aktivitelerine etkileri gösterilmiştir. Oğuz ve arkadaşlarının (2012) çalışmasında kolestatik oksidatif stres ve karaciğer hasarında SOD ve GPX aktivitelerinin azaldığı, timokinon takviyesinin ise bu azalmayı tersine çevirdiği rapor edilmiştir. Dietilnitrozamin toksisitesinde yedi gün süreyle verilen günde 4 mg/kg timokinonun karaciğer dokusu GSH düzeyi ile GPX ve SOD aktivitesinde gözlenen azalmayı iyileştirdiği gösterilmiştir (Sayed-Ahmed ve ark 2010). Abd el-Ghany ve arkadaşları (2009) iskemi-reperfüzyonun tetiklediği oksidatif hasarda karaciğer dokusu GSH düzeyinde meydana gelen azalmanın timokinon kullanımıyla doza bağımlı olarak düzeldiğini göstermiştir. Nagi ve arkadaşları (2011) siklofosfamite bağlı kardiyak hasarda azalmış olan GSH düzeyi ile GPX ve SOD aktivitelerini timokinonun artırdığını bildirmişlerdir. Bu bulgular, çeşitli oksidatif stres durumlarında timokinon takviyesinin antioksidan savunmayı artırarak destekleyebileceğini göstermektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması, tükenme egzersizi yaptırılan sıçanlarda timokinon takviyesinin vücut ağırlığı, egzersiz performansı ile çeşitli oksidatif stres, antioksidan savunma ve inflamasyon belirteçleri üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla yapıldı. Elde ettiğimiz sonuçlara göre;

1. Çalışma sonunda tükenme egzersizi yaptırılan sıçanların vücut ağırlıklarında başlangıç değerlerine göre azalma gözlenmiş, ancak yapılan gruplar arası karşılaştırmada ağırlık değişikliği bakımından anlamlı farklılık bulunmamıştır.

2. Timokinon takviyesinin egzersiz esnasında tükenme süresini artırması timokinonun fiziksel performansı olumlu şekilde etkilediğini göstermektedir. Çalışmamızda kas yorgunluğunun biyokimyasal belirteçlerinden olan laktat, ürik asit düzeyi gibi parametreler araştırılmamıştır. Bu konu hakkında literatürde bilgi bulamadığımızdan timokinonun egzersiz performansı üzerine etkisinin başka bazı biyokimyasal belirteçlerde incelenerek ve moleküler düzeyde çalışmalarla desteklenerek araştırılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

3. Uygulamış olduğumuz on dört günlük timokinon takviyesinin serum kreatin kinaz ve laktat dehidrojenaz aktiviteleri ile serum interlökin-6 ve tümör nekroz faktörü-alfa düzeylerine anlamlı etkisi olmamış, plazma ve kas dokusunda malondialdehit artışı ile gösterilen lipit peroksidasyonunu azaltıcı ya da antioksidan savunmayı artırıcı etkisi görülmemiştir. Ancak egzersizle birlikte timokinon takviyesi yapılması, kontrol ve timokinon grubuna kıyasla kas dokusu malondialdehit değerlerini düşürmüştür.

Timokinonun egzersizdeki oksidatif hasara etkilerinin tam olarak anlaşılması için farklı egzersiz protokolleri ile ve incelenen oksidatif stres belirteç çeşitlerinin artırılarak daha detaylı araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

Abd El-Ghany RM, Sharaf NM, Kassem LA, Mahran LG, Heikal OA, 2009. Thymoquinone triggers anti-apoptotic signaling targeting death ligand and apoptotic regulators in a model of hepatic ischemia reperfusion injury. Drug Discov Ther, 3, 296-306.

Abdel-Zaher AO, Mostafa MG, Farghly HM, Hamdy MM, Omran GA, Al-Shaibani NK, 2013. Inhibition of brain oxidative stress and inducible nitric oxide synthase expression by thymoquinone attenuates the development of morphine tolerance and dependence in mice. Eur J Pharmacol, 702, 62-70.

Abukhader MM, 2012. The effect of route of administration in thymoquinone toxicity in male and female rats. Indian J Pharm Sci, 74, 195-200.

Abukhader MM, 2013. Thymoquinone in the clinical treatment of cancer: Fact or fiction? Pharmacogn Rev, 7, 117-20.

Acikgoz O, Aksu I, Topcu A, Kayatekin BM, 2006. Acute exhaustive exercise does not alter lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. Neurosci Lett, 406, 148-51.

Ahmad S, Beg Z, 2013. Hypolipidemic and antioxidant activities of thymoquinone and limonene in atherogenic suspension fed rats. Food Chem, 138, 1116-24.

Akkuş İ, 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Sağlık dizisi 5, Konya; 42-3.

Al-Asoom LI, Al-Shaikh BA, Bamosa AO, El-Bahai MN, 2014a. Comparison of *Nigella sativa*-and exercise-induced models of cardiac hypertrophy: structural and electrophysiological features. Cardiovasc Toxicol, 14, 208-13.

Al-Asoom LI, Al-Shaikh BA, Bamosa AO, El-Bahai MN, 2014b. Effect of *Nigella sativa* supplementation to exercise training in a novel model of physiological cardiac hypertrophy. Cardiovasc Toxicol, 14, 243-50.

Alessio HM, Goldfarb AH, Cao G, 1997. Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. Int J Sport Nutr, 7, 1-9.

Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL, 2000. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. Med Sci Sports Exerc, 32, 1576-81.

Ali BH, Blunden G, 2003. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. Phytother Res, 17, 299-305.

Aljabre SH, Randhawa MA, Akhtar N, Alakloby OM, Alqurashi AM, Aldossary A, 2005. Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. J Ethnopharmacol, 101, 116-9.

Anand T, Phani Kumar G, Pandareesh MD, Swamy MS, Khanum F, Bawa AS, 2012. Effect of bacoside extract from Bacopa monniera on physical fatigue induced by forced swimming. Phytother Res, 26, 587-93.

Anderson ME, 1998. Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. Chem Biol Interact, 24, 1-14.

Andrade FH, Reid MB, 2001. Westerblad H. Contractile response of skeletal muscle to low peroxide concentrations: myofibrillar calcium sensitivity as a likely target for redox-modulation, FASEB J, 15, 309-11.

Ashton T, Rowlands CC, Jones E, Young IS, Jackson SK, Davies B, Peters JR, 1998. Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. Eur J Appl Physiol Occup Physiol, 77, 498-502.

Aycan İÖ, Tokgöz O, Tüfek A, Alabalık U, Evliyaoğlu O, Turgut H, Çelik F, Güzel A, 2015. The use of thymoquinone in nephrotoxicity related to acetaminophen. Int J Surg, 13, 33-7.

Aydin C, Sonat F, Sahin SK, Cangul IT, Ozkaya G, 2009. Long term dietary restriction ameliorates swimming exercise-induced oxidative stress in brain and lung of middle-aged rat. Indian J Exp

Biol, 47, 24-31.

Bachur JA1, Garcia SB, Vannucchi H, Jordao AA, Chiarello PG, Zucoloto S, 2007. Anti-oxidative systems in rat skeletal muscle after acute physical exercise. Appl Physiol Nutr Metab, 32, 190-6.

Badary OA, Al-Shabanah OA, Nagi MN, Al-Bekairi AM, Elmazar MMA, 1998. Acute and Subchronic Toxicity of Thymoquinone in Mice. Drug Develop Res, 44, 56-61.

Badary OA, Taha RA, Gamal el-Din AM, Abdel-Wahab MH, 2003. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. Drug Chem Toxicol, 26, 87-98.

Bakathir HA, Abbas NA, 2011. Detection of the antibacterial effect of *Nigella sativa* ground seeds with water. Afr J Tradit Complement Altern Med, 8, 159-64.

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

Banerjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti S, 2003. Oxidant, antioxidant and physical exercise. Mol Cell Biochem, 253, 307-12.

Basarslan F, Yilmaz N, Ates S, Ozgur T, Tutanc M, Motor VK, Arica V, Yilmaz C, Inci M, Buyukbas S, 2012. Protective effects of thymoquinone on vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. Hum Exp Toxicol, 31, 726-33.

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

Benhaddou-Andaloussi A, Martineau LC, Vallerand D, Haddad Y, Afshar A, Settaf A, Haddad PS, 2010. Multiple molecular targets underlie the antidiabetic effect of *Nigella sativa* seed extract in skeletal muscle, adipocyte and liver cells. Diabetes Obes Metab, 12, 148-57.

Berzosa C, Gómez-Trullén EM, Piedrafita E, Cebrián I, Martínez-Ballarín E, Miana-Mena FJ, Fuentes-Broto L, García JJ, 2011. Erythrocyte membrane fluidity and indices of plasmatic oxidative damage after acute physical exercise in humans. Eur J Appl Physiol, 111, 1127-33.

Bloomer RJ, Goldfarb AH, 2004. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. Can J Appl Physiol, 29, 245-63.

Bloor CM, 2005. Angiogenesis during exercise and training. Angiogenesis, 8, 263-71.

Borges Lda S, Dermargos A, da Silva Junior EP, Weimann E, Lambertucci RH, Hatanaka E, 2015. Melatonin decreases muscular oxidative stress and inflammation induced by strenuous exercise and stimulates growth factor synthesis. J Pineal Res, 58, 166-72.

Bortolon JR, Silva Junior AJ, Murata GM, Newsholme P, Curi R, Pithon-Curi TC, Hatanaka E, 2012. Persistence of inflammatory response to intense exercise in diabetic rats. Exp Diabetes Res, 2012, 1-8.

Brancaccio P, Maffulli N, Buonauro R, Limongelli FM, 2008. Serum enzyme monitoring in sports medicine. Clin Sports Med, 27, 1-18.

Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N, 2010. Biochemical markers of muscular damage. Clin Chem Lab Med, 48, 757-67.

Brand MD, 2010. The sites and topology of mitochondrial superoxide production. Exp Gerontol, 45, 466-72.

Brandt C, Pedersen BK, 2010. The role of exercise-induced myokines in muscle homeostasis and the defense against chronic diseases. J Biomed Biotechnol, 2010:520258.

Brown GC, Borutaite V, 2012. There is no evidence that mitochondria are the main source of reactive oxygen species in mammalian cells. Mitochondrion, 12, 1-4.

Bucioli SA, de Abreu LC, Valenti VE, Leone C, Vannucchi H, 2011. Effects of vitamin E supplementation on renal non-enzymatic antioxidants in young rats submitted to exhaustive exercise stress. BMC Complement Altern Med, 11:133.

Bucioli SA, De Abreu LC, Valenti VE, Vannucchi H, 2012. Carnitine supplementation effects on nonenzymatic antioxidants in young rats submitted to exhaustive exercise stress. J Strength Cond Res, 26, 1695-700.

Burits M, Bucar F, 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytother Res, 14, 323-8.

Butt MS, Sultan MT, 2010. *Nigella sativa*: reduces the risk of various maladies. Crit Rev Food Sci Nutr, 50, 654-65.

Carr A and Frei B, 1999: Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions? FASEB J, 13, 1007-24.

Carocho M, Ferreira IC, 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screenin and analysis methodologies and future perspectives, 51, 15-25.

Castrogiovanni P, Imbesi R, 2012. Oxidative stress and skeletal muscle in exercise. Ital J Anat Embryol, 117, 107-17.

Chaieb K, Kouidhi B, Jrah H, Mahdouani K, Bakhrouf A, 2011. Antibacterial activity of Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. BMC Complement Altern Med, 11, 29.

Chen Q, Vazquez EJ, Moghaddas S, Hoppel CL, Lesnefsky EJ, 2003. Production of reactive oxygen species by mitochondria: central role of complex III. J Biol Chem, 278, 36027-31.

Chen YR, Zweier JL, 2014. Cardiac mitochondria and reactive oxygen species generation. Circ Res, 114, 524-37.

Cho KJ, Seo JM, Kim JH, 2011. Bioactive lipoxygenase metabolites stimulation of NADPH oxidases and reactive oxygen species. Mol Cells, 32, 1-5.

Davies KJ, Goldberg AL, 1987. Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. J Biol Chem, 262, 8220-6.

Deminice R, Jordao AA, 2012. Creatine supplementation reduces oxidative stress biomarkers after acute exercise in rats. Amino Acids, 43, 709-15.

Devasagayam TP1, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD, 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. J Assoc Physicians India, 52, 794-804.

Di Massimo C, Scarpelli P, Tozzi-Ciancarelli MG, 2004. Possible involvement of oxidative stress in exercise-mediated platelet activation. Clin Hemorheol Microcirc, 30, 313-6.

Diplock AT, Charleux JL, Crozier-Willi G, Kok FJ, Rice-Evans C, Roberfroid M, Stahl W, Viña-Ribes J, 1998. Functional food science and defence against reactive oxidative species. Br J Nutr, 80, 77-112.

Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H, 2002. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. Free Radic Biol Med, 32, 1102-15.

Donatto FF, Prestes J, Frollini AB, Palanch AC, Verlengia R, Cavaglieri CR, 2010. Effect of oat bran on time to exhaustion, glycogen content and serum cytokine profile following exhaustive exercise. J Int Soc Sports Nutr, 7, 32.

El-Abhar HS, Abdallah DM, Saleh S, 2003. Gastroprotective activity of N.sativa oil and its constituent, TQ, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. J Ethnopharmacol, 83, 251-8.

El-Khouly D, El-Bakly WM, Awad AS, El-Mesallamy HO, El-Demerdash E, 2012. Thymoquinone blocks lung injury and fibrosis by attenuating bleomycin-induced oxidative stress and activation of nuclear factor Kappa-B in rats. Toxicology, 302, 106-13.

El-Saleh SC, Al-Sagair OA, Al-Khalaf MI, 2004. Thymoquinone and *Nigella sativa* oil protection against methionine-induced hyperhomocysteinemia in rats. Int J Cardiol, 93, 19-23.

El-Sayed WM, 2011. Upregulation of chemoprotective enzymes and glutathione by *Nigella sativa* (black seed) and thymoquinone in CCl4-intoxicated rats. Int J Toxicol, 30, 707-14.

Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H, 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. Free Radic Biol Med, 11, 81-128.

Falone S, Mirabilio A, Pennelli A, Cacchio M, Di Baldassarre A, Gallina S, Passerini A, Amicarelli F, 2010. Differential impact of acute bout of exercise on redox- and oxidative damage-related

profiles between untrained subjects and amateur runners. Physiol Res, 59, 953-61.

Fararh KM, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Ghanem MM, Takewaki T, 2005. Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. Res Vet Sci, 79, 219-23.

Farzaneh E, Nia FR, Mehrtash M, Mirmoeini FS, Jalilvand M, 2014. The effects of 8-week *Nigella sativa* supplementation and aerobic training on lipid profile and VO_2 max in sedentary overweight females. Int J Prev Med, 5, 210-6.

Fatouros IG, Jamurtas AZ, Villiotou V, Pouliopoulou S, Fotinakis P, Taxildaris K, Deliconstantinos G, 2004. Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. Med Sci Sports Exerc, 36, 2065-72.

Febbraio MA, Pedersen BK, 2002. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. FASEB J, 16, 1335-47.

Filaire E, Toumi H, 2012. Reactive oxygen species and exercise on bone metabolism: friend or enemy? Joint Bone Spine, 79, 341-6.

Finaud J, Lac G, Filaire E, 2006. Oxidative stress: relationship with exercise and training. Sports Med, 36, 327-58.

Finsterer J, 2012. Biomarkers of peripheral muscle fatigue during exercise. BMC Musculoskelet Disord, 13:218.

Fischer CP, 2006. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? Exerc Immunol Rev, 12, 6-33.

Fisher-Wellman K, Bloomer RJ, 2009. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. Dyn Med, 8,1.

Flesar J, Havlik J, Kloucek P, Rada V, Titera D, Bednar M, Stropnicky M, Kokoska L, 2010. In vitro growth-inhibitory effect of plant-derived extracts and compounds against Paenibacillus larvae and their acute oral toxicity to adult honey bees. Vet Microbiol, 145, 129-33.

Flora SJ, 2009. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. Oxid Med Cell Longev, 2, 191-206.

Gholamnezhad Z, Boskabady MH1, Hosseini M, 2014. Effect of *Nigella sativa* on immune response in treadmill exercised rat. BMC Complement Altern Med, 14, 437.

Gilhotra N, Dhingra D, 2011. Thymoquinone produced antianxiety-like effects in mice through modulation of GABA and NO levels. Pharmacol Rep, 63, 660-9.

Goldfarb AH, McIntosh MK, Boyer BT, Fatouros J, 1994. Vitamin E effects on indexes of lipid peroxidation in muscle from DHEA-treated and exercised rats. J Appl Physiol, 76, 1630-5.

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

Gomes EC, Silva AN, de Oliveira MR, 2012. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. Oxid Med Cell Longev, 2012, 756132.

Gong MC, Arbogast S, Guo Z, Mathenia J, Su W, Reid MB, 2006. Calcium-independent phospholipase A2 modulates cytosolic oxidant activity and contractile function in murine skeletal muscle cells. J Appl Physiol, 100, 399-405.

Griffiths HR, Dias IH, Willetts RS, Devitt A, 2014. Redox regulation of protein damage in plasma. Redox Biol, 2, 430-5.

Gross E, Sevier CS, Heldman N, Vitu E, Bentzur M, Kaiser CA, Thorpe C, Fass D, 2006. Generating disulfides enzymatically: reaction products and electron acceptors of the endoplasmic reticulum thiol oxidase Ero1p. Proc Natl Acad Sci U S A, 103, 299-304.

Groussard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, Chevanne M, Vincent S, Sergent O, Cillard J, Gratas-Delamarche A, 2003. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. Eur J Appl Physiol, 89, 14-20.

Gruhlke MC, Slusarenko AJ, 2012. The biology of reactive sulfur species (RSS). Plant Physiol Biochem, 59, 98-107.

Gul M, Laaksonen D E, Atalay M, Vider L & Hänninen O, 2002. Effects of endurance training on tissue glutathione homeostasis and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. Scand J Med Sci Sports, 12, 163-70.

Gul M, Demircan B, Taysi S, Oztasan N, Gumustekin K, Siktar E, Polat MF, Akar S, Akcay F, Dane S, 2006. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 143, 239-45.

Gustafsson T, Puntschart A, Kaijser L, Jansson E, Sundberg CJ, 1999. Exercise-induced expression of angiogenesis-related transcription and growth factors in human skeletal muscle. Am J Physiol, 276, H679-85.

Gutteridge JMC, 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem, 41, 1819-28.

Halliwell B, 1994. Free radicals and antioxidants: a personal view. Nutr Rev, 52, 253-65.

Halliwell B, 1996. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? Free Rad Res, 25, 439-54.

Halliwell B, 2007. Biochemistry of oxidative stress. Biochem Soc Trans, 35, 1147-50.

Halliwell B, 2012. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. Nutr Rev, 70, 257-65.

Hamdy NM, Taha RA, 2009. Effects of *Nigella sativa* oil and thymoquinone on oxidative stress and neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. Pharmacology, 84, 127-34.

Harrison R, 2002. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? Free Radic Biol Med, 33, 774-97.

Hernández A, Cheng A, Westerblad H, 2012. Antioxidants and skeletal muscle performance: "common knowledge" vs. experimental evidence. Front Physiol, 3, 46.

Herrera E, Barbas C, 2001. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. J Physiol Biochem. 2001, 57, 43-56.

Hosseinzadeh H, Taiari S, Nassiri-Asl M, 2012. *Effect of thymoquinone, a constituent of Nigella sativa* L., on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 385, 503-8.

Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult JRS, 1995. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. Planta Med, 61, 33-6.

Huang CC, Tsai SC, Lin WT, 2008. Potential ergogenic effects of L-arginine against oxidative and inflammatory stress induced by acute exercise in aging rats. Exp Gerontol, 43, 571-7.

Huang CC, Lin TJ, Lu YF, Chen CC, Huang CY, Lin WT, 2009. Protective effects of L-arginine supplementation against exhaustive exercise-induced oxidative stress in young rat tissues. Chin J Physiol, 52, 306-15.

Husain N, Kumar A, 2012. Reactive oxygen species and natural antioxidants: A review. Adv Biores, 3, 164-75.

Hussain AR, Ahmed M, Ahmed S, Manogaran P, Platanias LC, Alvi SN, Al-Kuraya KS, Uddin S, 2011. Thymoquinone suppresses growth and induces apoptosis via generation of reactive oxygen species in primary effusion lymphoma. Free Radic Biol Med, 50, 978-87.

Idris-Khodja N, Schini-Kerth V, 2012. Thymoquinone improves aging-related endothelial dysfunction in the rat mesenteric artery. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 385, 749-58.

Ismail M, Al-Naqeep G, Chan KW, 2010. *Nigella sativa* thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats. Free Radic Biol Med, 48, 664-72.

Izumiya Y, Bina HA, Ouchi N, Akasaki Y, Kharitonenkov A, Walsh K, 2008. FGF21 is an Akt-regulated myokine. FEBS Lett, 582, 3805-10

Jackson MJ, 2005. Reactive oxygen species and redox-regulation of skeletal muscle adaptations to exercise. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 360, 2285-91.

Jackson MJ, 2008. Free radicals generated by contracting muscle: by-products of metabolism or key

regulators of muscle function? Free Radic Biol Med, 44, 132-41.

Ji LL, 1999. Antioxidants and oxidative stress in exercise. Proc Soc Exp Biol Med, 222, 283-92.

Ji LL, 2008. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: role of redox signaling. Free Radic Biol Med, 44, 142-52.

Ji LL, Zhang Y, 2014. Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise: role of redox signaling. Free Radic Res, 48, 3-11.

Jrah-Harzallah H, Ben-Hadj-Khalifa S, Almawi WY, Maaloul A, Houas Z, Mahjoub T, 2013. Effect of thymoquinone on 1,2-dimethyl-hydrazine-induced oxidative stress during initiation and promotion of colon carcinogenesis. Eur J Cancer, 49, 1127-35.

Kamogawa E, Sueishi Y, 2014. A multiple free-radical scavenging (MULTIS) study on the antioxidant capacity of a neuroprotective drug, edaravone as compared with uric acid, glutathione, and trolox. Bioorg Med Chem Lett, 24, 1376-9.

Kand'ár R, Záková P, Muzáková V, 2006. Monitoring of antioxidant properties of uric acid in humans for a consideration measuring of levels of allantoin in plasma by liquid chromatography. Clin Chim Acta, 365, 249-56.

Kanter M, 2008. Effects of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on sciatic nerves in experimental diabetic neuropathy. Neurochem Res, 33, 87-96.

Kanter M, 2009. Protective effects of thymoquinone on streptozotocin-induced diabetic nephropathy. J Mol Hist, 40, 107-15.

Kanter M, 2011. Protective effects of thymoquinone on the neuronal injury in frontal cortex after chronic toluene exposure. J Mol Histol, 42, 39-46.

Kapan M, Tekin R, Onder A, Firat U, Evliyaoglu O, Taskesen F, Arikanoglu Z, 2012. Thymoquinone ameliorates bacterial translocation and inflammatory response in rats with intestinal obstruction. Int J Surg, 10, 484-8.

Kon M, Kimura F, Akimoto T, Tanabe K, Murase Y, Ikemune S, Kono I, 2007. Effect of Coenzyme Q10 supplementation on exercise-induced muscular injury of rats. Exerc Immunol Rev, 13, 76-88.

Korivi M, Hou CW, Huang CY, Lee SD, Hsu MF, Yu SH, Chen CY, Liu YY, Kuo CH, 2012. Ginsenoside-Rg1 protects the liver against exhaustive exercise-induced oxidative stress in rats. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 1-8.

Kretzschmar M, Müller D, Hübscher J, Marin E, Klinger W, 1991. Influence of aging, training and acute physical exercise on plasma glutathione and lipid peroxides in man. Int J Sports Med, 12, 218-22.

Kretzschmar M, Müller D, 1993. Aging, training and exercise. A review of effects on plasma glutathione and lipid peroxides. Sports Med, 15, 196-209.

Laitonjam W, 2012. Natural antioxidants (NAO) of plants acting as scavengers of free radicals. In: Studies on Nat. Prod. Chapter: 9. Eds: Atta-ur-Rahman, New York: Elsevier, Amsterdam, p. 259-75.

Lü JM, Lin PH,Yao Q, Chen C, 2010. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems, J Cell Mol Med, 14, 840-60.

Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Barstow TJ, 1997. The effect of exercise intensity on lipid peroxidation. Med Sci Sports Exerc, 29, 1036-9.

Lee HC, Wei YH, 2005. Mitochondrial biogenesis and mitochondrial DNA maintenance of mammalian cells under oxidative stress. Int J Biochem Cell Biol, 37, 822-34.

Lee S, Kim SM, Lee RT, 2013. Thioredoxin and thioredoxin target proteins: from molecular mechanisms to functional significance. Antioxid Redox Signal, 18, 1165-207.

Lima FD, Stamm DN, Della-Pace ID, Dobrachinski F, de Carvalho NR, Royes LF, Soares FA, Rocha JB, González-Gallego J, Bresciani G, 2013. Swimming training induces liver mitochondrial adaptations to oxidative stress in rats submitted to repeated exhaustive swimming bouts. PLoS One, 8, e55668.

Lin WT, Yang SC, Tsai SC, Huang CC, Lee NY, 2006. L-Arginine attenuates xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in hearts of rats during exhaustive exercise. Br J Nutr, 95, 67-75.

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

Liu CC, Huang CC, Lin WT, Hsieh CC, Huang SY, Lin SJ, Yang SC, 2005. Lycopene supplementation attenuated xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in skeletal muscle tissues of rats after exhaustive exercise. Br J Nutr, 94, 595-601.

Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N, 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacogn Rev, 4, 118-26.

Lovlin R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN, 1987. Are indices of free radical damage related to exercise intensity. Eur J Appl Physiol Occup Physiol, 56-313-6.

Lowry O, Rosenbraugh N, Farr L, Rondall R, 1951. Protein measurement with the folinpheno reagent. J Biol Chem, 183, 265-75.

Lu SC, 1999. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. FASEB J, 13, 1169-83.

Lundby C, Gassmann M, Pilegaard H, 2006. Regular endurance training reduces the exercise induced HIF-1alpha and HIF-2alpha mRNA expression in human skeletal muscle in normoxic conditions. Eur J Appl Physiol, 96, 363-9.

Malaguti M, Angeloni C, Garatachea N, Baldini M, Leoncini E, Collado PS, Teti G, Falconi M, Gonzalez-Gallego J, Hrelia S, 2009. Sulforaphane treatment protects skeletal muscle against damage induced by exhaustive exercise in rats. J Appl Physiol, 107, 1028-36.

Malaguti M, Angeloni C, Hrelia S, 2013. Polyphenols in exercise performance and prevention of exercise-induced muscle damage. Oxid Med Cell Longev, 2013, 825928.

Marciniak A, Brzeszczyńska J, Gwoździński K, Jegier A, 2009. Antioxidant Capacity And Physical Exercise, Biol Sport, 26, 197-213.

Martinez-Campos C, Lara-Padilla E, Bobadilla-Lugo RA, Kross RD, Villanueva C, 2012. Effects of exercise on oxidative stress in rats induced by ozone. Scientific World Journal, 2012, 135921.

Mansi K.M.S, 2005. Effects of oral administration of water extract of *Nigella sativa* on serum concentrations of insulin and testosterone in alloxan-induced diabetic rats. Pak J Biol Sci, 8,1152-6.

Mansour MA, Nagi MN, El-Khatib AS, Al-Bekairi AM, 2002. Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action. Cell Biochem Funct, 20, 143-51.

McArdle WD, Katch FI, Katch VL, 2010. Exercise physiology: nutrition, energy, and human performance. Seventh ed. Philadelphia, USA, Lippincott Williams &Wilkins, p. 134-77.

McKenna MJ, Medved I, Goodman CA, Brown MJ, Bjorksten AR, Murphy KT, Petersen AC, Sostaric S, Gong X, 2006. N-acetylcysteine attenuates the decline in muscle Na^+,K^+-pump activity and delays fatigue during prolonged exercise in humans. J Physiol, 576, 279-88.

Michailidis Y, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Fatouros IG, Koutedakis Y, Papassotiriou I, Kouretas D, 2007. Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. Med Sci Sports Exerc, 39, 1107-13.

Mohamed AM, Metwally NM, Mahmoud SS, 2005. Sativa seeds against Schistosoma mansoni different stages. Mem Inst Oswaldo Cruz, 100, 205-11.

Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway, 1993. N Engl J Med, 329, 2002-12.

Mueller S1, Weber A, Fritz R, Mütze S, Rost D, Walczak H, Völkl A, Stremmel W, 2002. Sensitive and real-time determination of H_2O_2 release from intact peroxisomes. Biochem J, 363, 483-91.

Musarò A1, Fulle S, Fanò G, 2010. Oxidative stress and muscle homeostasis. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 13, 236-42.

Nagi MN, Mansour MA, 2000. Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: a possible mechanism of protection. Pharmacol Res, 41, 283-9.

Nagi MN, Al-Shabanah OA, Hafez MM, Sayed-Ahmed MM, 2011. Thymoquinone supplementation attenuates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. J Biochem Mol Toxicol, 25, 135-42.

Naidu KA, 2003. Vitamin C in human health and disease is stil a mystery? An overview. Nutr J, 2, 7.

Nakhostin-Roohi B, Niknam Z, Vaezi N, Mohammadi S, Bohlooli S, 2013. Effect of single dose administration of methylsulfonylmethane on oxidative stress following acute exhaustive exercise. Iran J Pharm Res, 12, 845-53.

Nethery D, Callahan LA, Stofan D, Mattera R, DiMarco A, Supinski G, 2000. PLA_2 dependence of diaphragm mitochondrial formation of reactive oxygen species. J Appl Physiol, 89, 72-80.

Neuzil J, Thomas SR, Stocker R, 1997. Requirement for, promotion, or inhibition by alpha-tocopherol of radical-induced initiation of plasma lipoprotein lipid peroxidation. Free Radic Biol Med, 22, 57-71.

Oguz S, Kanter M, Erboga M, Erenoglu C, 2012. Protective effects of thymoquinone against cholestatic oxidative stress and hepatic damage after biliary obstruction in rats. J Mol Histol, 43, 151-9.

Okudan N, Revan S, Balci SS, Belviranli M, Pepe H, Gökbel H, 2012. Effects of CoQ10 supplementation and swimming training on exhaustive exercise-induced oxidative stress in rat heart. Bratisl Lek Listy, 113, 393-9.

Ostuni MA, Gelinotte M, Bizouarn T, Baciou L, Houée-Levin C, 2010. Targeting NADPH-oxidase by reactive oxygen species reveals an initial sensitive step in the assembly process. Free Radic Biol Med, 49, 900-7.

Ouchi N, Oshima Y, Ohashi K, Higuchi A, Ikegami C, Izumiya Y, Walsh K, 2008. Follistatin-like 1, a secreted muscle protein, promotes endothelial cell function and revascularization in ischemic tissue through a nitric-oxide synthase-dependent mechanism. J Biol Chem, 283, 32802-11.

Oztasan N, Taysi S, Gumustekin K, Altinkaynak K, Aktas O, Timur H, Siktar E, Keles S, Akar S, Akcay F, Dane S, Gul M, 2004. Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rat. Eur J Appl Physiol, 91, 622-7.

Paarakh PM, 2010. *Nigella sativa* Linn.-A comprehensive review. Indian J Nat Prod Resour, 1, 409-29.

Packer L, 1997. Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. J Sports Sci, 15, 353-63.

Palmieri B, Sblendorio V, 2006. Oxidative stress detection: what for? Part I. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 10, 291-317.

Pedersen BK, 2000. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: exercise and cytokines. Immunol Cell Biol, 78, 532-5.

Peternelj TT, Coombes JS, 2011. Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? Sports Med, 41, 1043-69.

Pillai VC, Snyder RO, Gumaste U, Thekkumkara TJ, Mehvar R, 2011. Effects of transient overexpression or knockdown of cytochrome P450 reductase on reactive oxygen species generation and hypoxia reoxygenation injury in liver cells. Clin Exp Pharmacol Physiol, 38, 846-53.

Place N, Yamada T, Zhang SJ, Westerblad H, Bruton JD, 2009. High temperature does not alter fatigability in intact mouse skeletal muscle fibres. J Physiol, 587, 4717-24.

Powers SK and Lennon SL, 1999. Analysis of cellular response to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. Proc Nutr Soc, 58, 1025-33.

Powers SK, DeRuisseau KC, Quindry J, Hamilton KL, 2004. Dietary antioxidants and exercise. J Sports Sci, 22, 81-94.

Powers SK, Jackson MJ, 2008. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. Physiol Rev, 88, 1243-76.

Powers SK, Talbert EE, Adhihetty PJ, 2011. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. J Physiol, 589, 2129-38.

Pokorny J, 2007. Are natural antioxidants better -and safer-than synthetic antioxidants? Eur J Lipid Sci Technol, 109, 629-42.

Poynton RA, Hampton MB, 2014. Peroxiredoxins as biomarkers of oxidative stress. Biochim Biophys Acta, 1840, 906-12.

Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N, 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. Fitoterapia, 82, 513-23.

Quindry JC, Stone WL, King J, Broeder CE, 2003. The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stres. Med Sci Sports Exerc, 35, 1139-45.

Radak Z, Chung HY, Goto S, 2008. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. Free Radic Biol Med, 44, 153-9.

Radak Z, Zhao Z, Koltai E, Ohno H, Atalay M, 2013. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. Antioxid Redox Signal, 18, 1208-46.

Reddy KV, Kumar TC, Prasad M, Reddanna P, 1998. Pulmonary lipid peroxidation and antioxidant defenses during exhaustive physical exercise: the role of vitamin E and selenium. Nutrition, 14, 448-51.

Revan S, Balci SS, Pepe H, Kurtoglu F, Erol AE, Akkus H, 2010. Short duration exhaustive running exercise does not modify lipid hydroperoxide, glutathione peroxidase and catalase. J Sports Med Phys Fitness, 50, 235-40.

Sachdev S, Davies KJ, 2008. Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. Free Radic Biol Med, 44, 215-23.

Salim EI 2010. Cancer chemopreventive potential of volatile oil from black cumin seeds, *Nigella sativa* L., in a rat multi-organ carcinogenesis bioassay. Oncol Lett, 1, 913-24.

Sankaranarayanan C, Pari L, 2011. Thymoquinone ameliorates chemical induced oxidative stress and β-cell damage in experimental hyperglycemic rats. Chem Biol Interact. 190, 148-54.

Sayed-Ahmed MM, Nagi MN, 2007. The thymoquinone suplementation prevents the development of gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. Clin Exp Pharmacol Physiol, 34, 399-405.

Sayed-Ahmed MM, Aleisa AM, Al-Rejaie SS, Al-Yahya AA, Al-Shabanah OA, Hafez MM, Nagi MN, 2010. Thymoquinone attenuates diethylnitrosamine induction of hepatic carcinogenesis through antioxidant signaling Oxid Med Cell Longev, 3, 254-61.

Sen CK, 2001. Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: introduction. Med Sci Sports Exerc, 33, 368-70.

Sevanian A, Davies KJ, Hochstein P, 1991. Serum urate as an antioxidant for ascorbic acid. Am J Clin Nutr, 54, 1129S-34S.

Stadtman ER, 2004. Role of oxidant species in aging. Curr Med Chem, 11, 1105-12.

Steinberg JG, Delliaux S, Jammes Y, 2006. Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. Clin Physiol Funct Imaging, 26, 106-12.

Suddek GM, Ashry NA, Gameil NM, 2013. Thymoquinone attenuates cyclophosphamide-induced pulmonary injury in rats. Inflammopharmacology, 21, 427-35.

Sueishi Y, Hori M, Ishikawa M, Matsu-Ura K, Kamogawa E, Honda Y, Kita M, Ohara K, 2014. Scavenging rate constants of hydrophilic antioxidants against multiple reactive oxygen species. J Clin Biochem Nutr, 54, 67-74.

Sutton KM, Greenshields AL, Hoskin DW, 2014. Thymoquinone, a bioactive component of black caraway seeds, causes G1 phase cell cycle arrest and apoptosis in triple-negative breast cancer cells with mutant p53. Nutr Cancer, 66, 408-18.

Syu GD, Chen HI, Jen CJ, 2011. Severe exercise and exercise training exert opposite effects on

human neutrophil apoptosis via altering the redox status. PLoS One, 6, e24385.

Tiidus PM, 1998. Radical species in inflammation and overtraining. Can J Physiol Pharmacol, 76, 533-8.

Tozzi-Ciancarelli MG, Penco M, Di Massimo C, 2002. Influence of acute exercise on human platelet responsiveness: possible involvement of exercise-induced oxidative stress. Eur J Appl Physiol, 86, 266-72.

Traber MG, Atkinson J, 2007. Vitamin E, antioxidant and nothing more. Free Radic Biol Med, 43, 4-15.

Tubesha Z, Imam MU, Mahmud R, Ismail M, 2013. Study on the potential toxicity of a thymoquinone-rich fraction nanoemulsion in Sprague Dawley rats. Molecules, 18, 7460-72.

Turunen M, Olsson J, Dallner G, 2004. Metabolism and function of coenzyme Q. Biochim Biophys Acta, 1660, 171-99.

Ulu R, Dogukan A, Tuzcu M, Gencoglu H, Ulas M, Ilhan N, Muqbil I, Mohammad RM, Kucuk O, Sahin K, 2012. Regulation of renal organic anion and cation transporters by thymoquinone in cisplatin induced kidney injury. Food Chem Toxicol, 50, 1675-9.

Umar S, Zargan J, Umar K, Ahmad S, Katiyar CK, Khan HA, 2012. Modulation of the oxidative stress and inflammatory cytokine response by thymoquinone in the collagen induced arthritis in Wistar rats. Chem Biol Interact, 197, 40-6.

Urso ML, Clarkson PM, 2003. Oxidative stress, exercise, antioxidant supplementation. Toxicology, 189, 41-54.

Vădan AL, Moldovan R, Tache S, 2012. Antioxidant complex supplementation and aerobic exercise capacity in rats. Palestrica of the Third Millennium Civilization & Sport, 13, 182-7.

Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J, 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Mol Cell Biochem, 266, 37-56.

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M, 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact, 160, 1-40.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J, 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol, 39, 44-84.

Vider J, Lehtmaa J, Kullisaar T, Vihalemm T, Zilmer K, Kairane C, Landor A, Karu T, Zilmer M, 2001. Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. Pathophysiology, 7, 263-70.

Vina J, Gomez-Cabrera MC, Lloret A, Marquez R, Minana JB, Pallardo FV, Sastre J, 2000. Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. IUBMB Life, 50, 271-7.

Vincent HK, Morgan JW, Vincent KR, 2004. Obesity exacerbates oxidative stress levels after acute exercise. Med Sci Sports Exerc, 36, 772-9.

Vollaard NB, Shearman JP, Cooper CE, 2005. Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. Sports Med, 35, 1045-62.

Wang Y, Xu P, Wang Y, Liu H, Zhou Y, Cao X, 2013. The protection of salidroside of the heart against acute exhaustive injury and molecular mechanism in rat. Oxid Med Cell Longev, 2013, 507832.

Waring WS, Convery A, Mishra V, Shenkin A, Webb DJ, Maxwell SR, 2003. Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. Clin Sci (Lond), 105, 425-30.

Watson TA, Callister R, Taylor RD, Sibbritt DW, MacDonald-Wicks LK, Garg ML, 2005. Antioxidant restriction and oxidative stress in short-duration exhaustive exercise. Med Sci Sports Exerc, 37, 63-71.

Woo CC, Kumar AP, Sethi G, Tan KH, 2012. Thymoquinone: potential cure for inflammatory disorders and cancer. Biochem Pharmacol, 83, 443-51.

Yin H, Xu L, Porter NA, 2011. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. Chem Rev, 111, 5944-72.

Yu SH, Huang HY, Korivi M, Hsu MF, Huang CY, Hou CW, Chen CY, Kao CL, Lee RP, Lee SD, Kuo CH, 2012. Oral Rg1 supplementation strengthens antioxidant defense system against exercise-induced oxidative stress in rat skeletal muscles. J Int Soc Sports Nutr, 9, 23.

Zafeer MF, Waseem M, Chaudhary S, Parvez S, 2012. Cadmium-induced hepatotoxicity and its abrogation by thymoquinone. J Biochem Mol Toxicol, 26, 199-205.

Zhao X, Bey EA, Wientjes FB, Cathcart MK, 2012. Cytosolic phospholipase A2 (cPLA2) regulation of human monocyte NADPH oxidase activity. cPLA2 affects translocation but not phosphorylation of p67(phox) and p47(phox). J Biol Chem, 277, 25385-92.

Zheng X, Long W, Liu G, Zhang X, Yang X, 2012. Effect of seabuckthorn (Hippophae rhamnoides ssp. sinensis) leaf extract on the swimming endurance and exhaustive exercise-induced oxidative stress of rats. J Sci Food Agric, 92, 736-42.

Zuo L, Christofi FL, Wright VP, Bao S, Clanton TL, 2004. Lipoxygenase-dependent superoxide release in skeletal muscle. J Appl Physiol, 97, 661-8.

8. ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Aydın'ın Nazilli ilçesinde doğdu. İlkokul ve ortaokul öğrenimini Nazilli'de, lise öğrenimini İzmir'de tamamladı. 1996 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 2000 yılında mezun oldu. 2000 yılında Biyoloji öğretmenliği görevine başladı. Yüksek lisans eğitimini Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalında 2008 yılında tamamladı. 2010 yılı sonbahar döneminde aynı Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı. Evli ve iki çocuk annesidir.