T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KURKUMİN TAKVİYESİNİN SIÇANLARDA EKZANTRİK EGZERSİZLE OLUŞAN KAS HASARI ÜZERİNE ETKİSİ

İsmail BOZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Muaz BELVİRANLI

KONYA- 2013

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KURKUMİN TAKVİYESİNİN SIÇANLARDA EKZANTRİK EGZERSİZLE OLUŞAN KAS HASARI ÜZERİNE ETKİSİ

İsmail BOZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Muaz BELVİRANLI

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 11202040 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA- 2013

ÖNSÖZ

Günümüzde egzersiz toplum sağlığı açısından oldukça önem arz etmektedir. Egzersizin sağlık ve yaşam ömrü üzerine olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir. Uygun egzersiz protokolleri ile yapılan egzersizlerin vücut için yararlı etkileri görülürken, uygun olmayan egzersiz protokolleri kas hasarına ve yaralanmalarına neden olabilir. Farklı tip egzersizler farklı boyutlarda kas hasarı meydana getirir. Ekzantrik egzersiz diğer egzersiz türlerine göre daha fazla kas hasarı meydana getirmektedir. Egzersizle oluşan kas hasarının belirteci olarak daha çok kan kreatin kinaz ve miyoglobin düzeylerindeki artış kullanılmaktadır.

Kurkuminin anti inflamatuar etkinliğinin ekzantrik egzersizle oluşan kas hasarını azalttığı daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir. Bu çalışmanın önemi sıçanlarda standart bir egzersiz protokolüyle oluşturulan kas hasarı üzerine kurkuminin etkisinin ve bu etkinin oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi değişiklikleri ile ilişkisinin araştırılmış olmasıdır.

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Tez çalışmamda, zaman kavramı gözetmeksizin her türlü desteği sağlayan, karşılaşılan problemlerin çözümünde sınırsız katkı ve yönlendirmelerinden yararlandığım danışman hocam Yrd.Doç.Dr.Muaz BELVİRANLI'ya ve Prof.Dr.Nilsel OKUDAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ii. İÇİNDEKİLER

İ. ÖNSÖZ……i

ii. İÇİNDEKİLER……...ii

iii. SİMGELER ve KISALTMALAR……v

1. GİRİŞ……1

2. LİTERATÜR BİLGİ……3

2.1. İSKELET KASININ YAPISI……..……3

2.2. KASILMA MEKANİZMASI……..……....4

2.3. KASILMA TİPLERİ……..……5

2.3.1. İzotonik kasılma……5

2.3.1.a. Konsantrik kasılma……5

2.3.1.b. Ekzantrik kasılma……..5

2.3.2. İzometrik kasılma……..6

2.3.3. İzoknetik kasılma……..6

2.4. KAS HASARI……...……..6

2.5. KAS HASARI BELİRTEÇLERİ…...……9

2.5.1. Kreatin kinaz……9

2.5.2. Miyoglobin……10

2.6. OKSİDATİF STRES ve ANTİOKSİDAN SAVUNMA BELİRTEÇLERİ….11

2.6.1. Glutatyon……...11

2.6.2. Superoksit Dismutaz……..12

2.6.3. Malonaldehit……..12

2.7. KURKUMİN……...…….13

3. GEREÇ ve YÖNTEM……15

3.1. Hayvanların temini ve Bakımı……...15

3.2. Gruplandırma…….15

3.3. Egzersiz protokolü…….15

3.4. Kan ve doku örneklerinin alınması ve saklanması……16

3.5. Dokuların homojenizasyonu……..17

3.6. Biyokimyasal Analizler…….17

3.6.1. CK Analizi…….17

3.6.2. Miyoglobin Analizi……17

3.6.3. MDA Analizi…….17

3.6.4. GSH Analizi……...18

3.6.5. SOD Analizi……...18

3.6.6. Protein Analizi……...18

3.6.7. İstatistiksel Analiz…….18

4. BULGULAR……...19

4.1. Grupların vücut ağırlıkları arasındaki değişimler……..……19

4.2. CK aktivitelerindeki değişiklikler…….19

4.3. Miyoglobin aktivitelerindeki değişiklikler……20

4.4. MDA aktivitelerindeki değişiklikler……..21

4.5. SOD aktivitelerindeki değişiklikler……...22

4.6. GSH aktivitelerindeki değişiklikler……...22

5. TARTIŞMA ve SONUÇ…….23

6. ÖZET……...26

7. SUMMARY……28

8. KAYNAKLAR……29

9. ÖZGEÇMİŞ……35

iii. SİMGELER ve KISALTMALAR

CK: Kreatin kinaz

MDA: Malonaldehit

GSH: Glutatyon

SOD: Süperoksit dismutaz

AP: Aksiyon potansiyeli

ACh: Asetilkolin

ADP: Adenozin difosfat

ATP: Adenozin trifosfat

TBA: Tiyobarbitürikasit

1. GİRİŞ

Günümüzde egzersiz toplum sağlığı açısından oldukça önem arz etmektedir. Egzersizin sağlık ve yaşam ömrü üzerine olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir. Uygun egzersiz protokolleri ile yapılan egzersizlerin vücut için yararlı etkileri varken, uygun olmayan egzersiz protokolleri kas hasarına ve yaralanmalarına neden olabilir.

Kas hasarı, ilk kez 1902 yılında Hough tarafından alışılmadık ve şiddetli egzersizler sonrasında kaslarda tükenme, fonksiyon kaybı, güçsüzlük ve ağrı yaratan bir durum olarak tanımlanmıştır. Egzersizle oluşan kas hasarı son yıllarda birçok bilim dalının ilgisini çekmekte ve bu konuda çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar doğrultusunda hasarın önlenmesi konusunda çeşitli farmakolojik ajanlar önerilmektedir. Egzersizin neden olduğu kas hasarı özellikle sağlık için spor yapanların, çeşitli hastalıklar nedeniyle fizik tedavi alanların, kardiyovasküler hastalıklardan dolayı egzersiz yapanların ve egzersiz programı uzmanlarının yakından ilgilendiği bir konudur. Yapılan çalışmalarda, uygulanan egzersizin türüne ve niteliğine göre kas yapısında bir hasar oluşurken miyokard kasında da enfarktüse benzer zedelenmelere sebep olduğu ileri sürülmektedir (Konig ve ark 2003, Shave ve ark 2002, Ohba ve ark 2001). Egzersizle oluşan kas hasarı sportif açıdan adaptif mikrotravma olarak da adlandırılmakta ve egzersiz fizyolojisi çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (Clarkson ve ark 2002). Kas hasarına inflamatuar cevaplar uygulanan ekzantrik egzersize bağlıdır. Kas hasarı aynı zamanda ırk, cinsiyet, yaş ve antrenman durumu ile yakından ilgilidir. Egzersizle oluşan kas hasarı kanda kreatin kinaz ve miyoglobin düzeylerindeki yükselme ile belirlenir (Brown ve ark 1999).

Kurkuminin anti-inflamatuar, kanseri önleyici, antioksidan, yara iyileştirici ve antimikrobiyal etki gibi çok geniş yararlı etkileri vardır. Bu nedenle egzersizle oluşan kas hasarında kurkuminin antiinflamatuar etkinliğinin koruyucu rolünün olabileceği akla yatkındır. Davis ve ark (2007) kurkumin takviyesinin sıçanlarda ekzantrik egzersizin neden olduğu kas hasarını azalttığını göstermişlerdir. Ancak bu çalışmada uygulanan kurkumin takviyesi ve egzersiz protokolü standart değildir. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı kurkumin takviyesinin sıçanlarda ekzantrik egzersizle oluşan kas hasarı üzerine etkisini ve bu etkinin oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi değişiklikleri ile ilişkisini araştırmaktır. Egzersiz protokolünden hemen sonra sıçanlardan kan ve doku örnekleri alınıp, alınan kan örneklerde kreatin kinaz (CK), miyoglobin gibi kas hasarı ve malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon (GSH) gibi oksidatif stres ve antioksidan savunma

belirteçleri incelenmiştir. Doku örneklerinde ise oksidatif stres ve antioksidan savunma belirteçleri incelenmiştir.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1. İSKELET KASININ YAPISI

Kas hücreleri lif adı verilen iğ şeklindeki hücrelerden oluşur. Lifin çapı 10-100 mikrometre, uzunluğu 1-40 mm kadardır. Lifin çevresini sarkolemma adı verilen ince bir membran çevreler. 10-50 kadar lif bir araya gelerek fasikül adı verilen demetleri oluştururlar. Fasikülü perimisyum adı verilen membran çevreler. Fasiküllerin bir araya gelmesi ile kas dokusu oluşur. Kas dokusunu da epimisyum adı verilen kalın ve kuvvetli bir membran çevreler (Zergeroğlu 1992, Zergeroğlu ve ark 1997).

Her kas lifi birkaç yüz ile birkaç bin arasında miyofibril içerir. Her miyofibrilde yan yana uzanan aktin ve miyozin filamentleri bulunur. Miyozin ve aktin filamentlerinin iç içe girmesiyle birbirini izleyen koyu ve açık renkli bantlar oluşur. Açık renkli bantlar sadece aktin filamentini içerir ve I bandı olarak adlandırılır. Koyu renkli bantlar ise miyozin filamentlerini ve araya giren aktin filamentlerinin uçlarını içerir ve A bandı adını alırlar. Ayrıca aktin filamentlerinin uçlarının bağlandığı, miyofibriller arasında çapraz uzanarak kas lifi boyunca ilerleyip bir miyofibrili diğerine bağlayan Z diskleri mevcuttur. İki Z çizgisi arasında kalan miyofibril bölümüne sarkomer denir (Guyton ve Hall 2001).

İskelet kasının temel fonksiyonları 4 ana madde altında toplanabilir. Bunlar:

1- Hareket:

2- Isı üretimi: Kaslarda üretilen enerji mekanik işe dönüşürken, geriye kalan kısmı ısıya çevrilir.

3- Mekanik iş yapabilme yeteneği: İskelet kaslarının kasılma ve gevşemeleri sayesinde mekanik iş yapılmış olur.

4- Postürün sağlanması: Vücudun yer çekimi etkisine bağlı olarak uzaydaki konumunu iskelet sistemi ile birlikte sağlar. Yani vücudun dik duruşunu sağlar (Günay ve Cicioğlu 2001).

İskelet kas lifleri histolojik, morfolojik ve histokimyasal özelliklerine göre farklılıklar gösterir. Morfolojik olarak kas lifleri çap ve renk bakımından beyaz kas lifleri (kalın çaplı) ve kırmızı kas lifleri (ince çaplı) olarak ayrılırlar (Dahl ve Ronald 1991, Stevens 1990, Johnson 2001). Kırmızı lifler çok sayıda miyoglobin, sitokrom ve mitokondri içeren küçük liflerdir.

Beyaz lifler ise daha az miktarda miyoglobin, sitokrom ve mitokondri içeren büyük liflerdir (Yakan ve Özdamar 2011). İskelet kasını oluşturan liflerin fizyolojik ve histolojik yönden iki çeşidi vardır. Bunlar Tip l (yavaş-oksidatif) ve Tip ll (hızlı- glikolitik) olmak üzere karmaşık şekilde bulunur ve bu iki lif tipi arasında histokimyasal farklılıklar mevcuttur. Kırmızı kas lifleri yavaş-oksidatif sinir lifleri ile motor ünite yaparlar. Enerji için daha çok lipidlerden faydalanırlar ve enerji üretimi aerobik yolla olur. Bu tip kaslar yorulmaksızın uzun süre kasılıp gevşeyebilirler. Ekstremite ve sırt kasları kırmızı kas liflerine örnek olarak verilebilir (Sokoloff ve ark 2007). Beyaz kas lifleri hızlı-glikolitik sinir lifleri ile motor ünite yaparlar. Bunlar enerjiyi daha çok sitoplazmada glikojeni aerobik yolla pirüvata, pirüvatı da anaerobik yolla laktata çevirerek elde ederler. Beyaz kas lifleri güçlü ama kısa süreli kontraksiyonlar yaparlar. İnsan gözünün ekstraoküler kasları bu kaslara örnek verilebilir (Wicke ve ark 2007). Tip ll lifler, Tip ll A ve Tip ll B olmak üzere ikiye ayrılırlar.

2.2. KASILMA MEKANİZMASI

Kas kasılmasının başlangıç ve oluşum aşamaları aşağıdaki sıra ile meydana gelir.

1- Aksiyon potansiyeli (AP), motor sinirin kas lifine komşu sonlanmasına kadar yayılır.

2- Her sinir ucunda nörotransmitter olarak az miktarda asetilkolin (ACh) salgılanır.

3- Kas lifi membranında lokal bir alanda etki gösteren ACh, asetilkolin kapılı kanalları açar.

4- ACh kapılı kanalların açılması, kas lifi membranından çok miktarda sodyum iyonunun hücre içine girmesini sağlar. Bu olay kas lifinde aksiyon potansiyelini başlatır.

5- AP, sinir membranında olduğu gibi kas lifi membranı boyunca da yayılır.

6- AP, kas lifi membranını depolarize eder ve kas lifinin merkezine doğru yayılarak, sarkoplazmik retikulumda depolanmış olan kalsiyum iyonlarının büyük miktarda serbestlenmesine yol açar.

7- Kalsiyum iyonları, kasılma olayının esası olan filamentlerin kaymasını sağlayan, aktin ile miyozin filamentleri arasındaki çekici güçleri başlatır.

8- Bir saniyeden daha kısa bir süre sonra, kalsiyum iyonları sarkoplazmik retikuluma kalsiyum membran pompası ile geri pompalanır. Yeni bir kas aksiyon potansiyeli gelinceye kadar kalsiyum iyonları burada depolanırlar; miyofibrillerde kalsiyum iyonlarının uzaklaştırılması kas kasılmasının sona ermesine neden olur (Guyton ve Hall 2001).

2.3. KASILMA TİPLERİ

2.3.1. İzotonik kasılmalar

Dinamik bir kasılmadır. Sözcük anlamı olarak, kasın uzunluğunda bir değişimin olduğu fakat gerimin değişmediği bir kasılmayı tanımlar. Konsantrik kasılma ve ekzantrik kasılma olarak sınıflandırılabilir. Kasılmayla hareket oluşur ve mekanik bir iş yapılmış olur (Günay ve ark 2005).

a. Konsantrik kasılmalar:

İskelet kasının boyunun kısalması ile oluşan kasılmadır ve bir hareket söz konusudur. Mekanik anlamda bir iş yapılmış olur. Elimize aldığımız bir ağırlıkla dirsek eklemimizi fleksiyona getirdiğimiz sırada dirsek bölgesini önden kat eden biceps brachii kası konsantrik kasılmış olur. Kasın boyunda kısalma olmuş, aynı zamanda da ön kol üst kola doğru hareket etmiştir (Ergen ve ark 2002). Konsantrik kasılmada kontraktil element kısalırken, elastiki element bir düzen içerisinde belli bir gerilimi ve uzunluğu korur (Sevim 2007).

b. Ekzantrik kasılmalar:

Konsantrik kasılmanın aksine kas boyunda uzamanın olduğu bir kasılmadır. Burada kastedilen uzama, daha önce kısalmış olan bir kasın uzamasıdır. Negatif şekilde yapılmış olan bir iş söz konusudur (Ergen 2002). Ekzantrik kasılmada yapılan negatif karakterli işe merdiven inme ve ağırlık indirme gibi hareketler örnek verilebilir (Akgün 1989).

Dik duruştan vücudu yavaş yavaş yere doğru eğme esnasında soleus ve gastroknemius kasları ekzantrik kasılırlar. Bir ağırlık sonrası dirsek, fleksiyonu takiben ekstansiyon yaparsa biceps brachii kası ekzantrik olarak kasılmış olur ve boyunda uzama görülür (Günay ve ark 2006). Kısacası uygulanan kuvvet sonucu kas boyu uzuyorsa bu kasılma ekzantrik kasılmadır.

Kasılma tipleri içerisinde sakatlanma ve hasarlanma riski en fazla olan kasılma tipidir (Akgün 1994).

2.3.2. İzometrik kasılma

Statik bir kasılmadır. Kasın boyunda değişiklik olmaksızın geriminde artış vardır. Herhangi bir hareket söz konusu değildir (Ergen ve ark 2002).

2.3.3. İzokinetik kasılmalar

Gerilim kasta tüm hareket açısı boyunca maksimal şekilde meydana gelir. Kas kısaldığı zaman harekete karşı direnç artar. Kasta oluşan bu gerilim tüm eklemde sabittir ve bununla birlikte hareketin hızı da sabittir (Robertson ve Glover 1989).

2.4. KAS HASARI

Egzersizin neden olduğu kas hasarı özellikle sağlık için spor yapanların, çeşitli hastalıklar nedeniyle egzersiz yapanların ve egzersiz programı uzmanlarının yakından ilgilendiği bir konudur. Yapılan çalışmalarda uygulanan egzersizin, türüne ve niteliğine göre hareket yapan kasta bir hasar meydana gelirken miyokard kasında da enfarktüse benzer zedelenmelere neden olduğu ileri sürülmektedir (Konig ve ark 2003, Shave ve ark 2002, Ohba ve ark 2001).

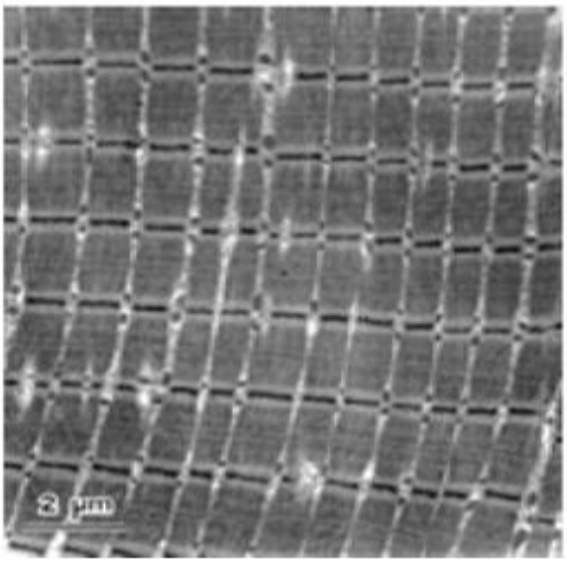
Kas hasarı, ilk kez Hough (1902) tarafından alışılmadık ve şiddetli egzersizler sonrasında kaslarda tükenme, fonksiyon kaybı, güçsüzlük ve ağrı yaratan bir durum olarak tanımlanmıştır. Düzenli yapılan ve yorucu olmayan fiziksel egzersizlerin faydalı etkileri vardır. Bununla birlikte egzersizin yararlı etkilerinin tükenme egzersiz sırasında oluşan serbest radikallerin birikimi sebebiyle azaldığı iddia edilmektedir (Gomez-Cabrera ve ark 2008). Tüketici egzersizin oksidatif strese ve kas hücrelerinde yapısal hasara (sitozolik enzimlerin plazma aktivitesinde bir artışla kanıtlanan) sebep olduğu iddasıyla ilgili güçlü kanıtlar vardır (Armstrong 1983). Yorucu ve alışılmamış fiziksel aktiviteler iskelet kasında hasar oluşturarak fiziksel performansı bozmaktadır (Clarkson ve Hubal 2002). Farklı egzersiz tipleri farklı boyutlarda kas hasarı meydana getirmektedir. Ekzantrik kas kasılması, konsantrik ya da izometrik kasılmalara göre daha fazla kas hasarı oluşturmaktadır (Armstrong 1983, Newham 1983). Kastaki bu hasar, kasta protein yıkımına, sonucunda da hücrede yangı ve kasta lokal ısı artışına neden olur ve sarkomer, T tübülleri, miyofibriller inflamasyona ve

sarkoplazmik retikulumun dağılmasına neden olur. Sarkoplazmik retikulumdaki bu hasar ise iyonların dağılımında bozulmaya neden olur, bu da ağrıyı aktivite eder (Epstein 1995, Hilbert ve ark. 2003). Ekzantrik kasılma, kasılma sırasında aktin-miyozin arasındaki bağların kopmasıyla oluştuğu için konsantrik kasılmadan daha fazla kas hasarına neden olur (Brown ve ark 1999). Diğer kasılma türlerine göre ekzantrik kasılmada hasarın daha fazla olması iki teori ile açıklanmaktadır. Birincisi motor ünite aktivasyonundaki azalmadır. Yani aynı iş yükünde diğer kasılmalarla karşılaştırıldığında aktif motor ünite miktarı 1/5 oranında azalmaktadır. Bu durum fibril başına düşen yükü artırarak mekanik kopmalara neden olur. İkinci teori ise baskı altındaki kasın başlangıçtaki boyunun çok üzerinde uzamasından kaynaklanan kopmalardan kaynaklandığıdır (Hazar 2004).

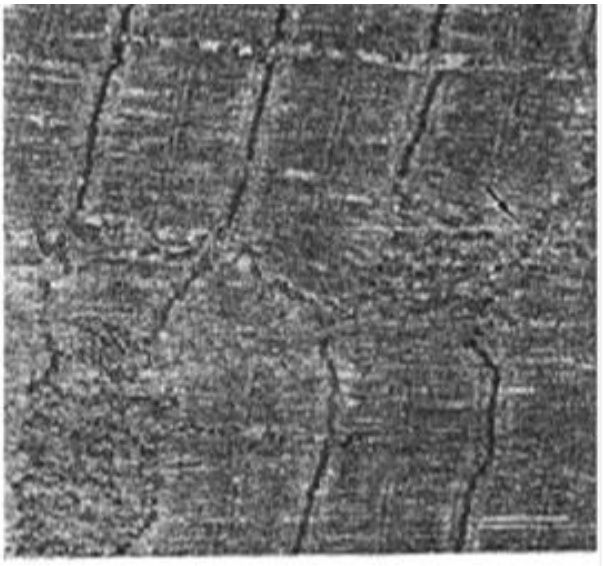
Egzersiz sonrası kaslarda meydana gelen ağrı genellikle kasın egzersizden zarar görmesine bağlanmaktadır. Bu ağrıların kasın kontraktil ve elastik dokularının aşırı gerilmesi sonucunda yapısal olarak zarar görmesi, hasarlı liflerde kalsiyum hemostasisinin sağlanmaya çalışılması, hücresel hasarın oluşması ile hücre zarının zarar görmesi, hücre içi aktivite ve makrofaj aktivitesinden dolayı serbest sinir uçlarının uyarılmasına bağlı olarak oluştuğu düşünülmektedir (Alibeyoğlu 2008). Serbest oksijen radikallerin aşırı üretimi, DNA hasarı, lipit peroksidasyonu ve protein inaktivasyonuna neden olur ve nihayet şiddetli doku hasarına yol açar (Freeman ve Crapo 1982).

Fiziksel aktivite sırasında birçok kasta ekzantrik ve konsantrik kasılmalar aktiviteye katılır. Bununla birlikte, iskelet kasları ekzantrik kasılma sırasında daha fazla güç ve kuvvet üretir. Bunu sağlayan iki temel neden vardır. A) belli bir kuvveti üretirken ekzantrik kasılmalarda konsantrik kasılmalara oranla daha az motor ünite aktiviteye katılır, B) ekzantrik egzersizlerde konsantrik egzersizlere oranla daha az oksijen tüketilir. Bu bulgular, her iki egzersiz türünde oluşan girdi/çıktı ilişkisinin farklılıklar ortaya koyduğunu göstermektedir ve mekaniksel etkinlikler ekzantrik egzersizlerde konsantrik egzersizlere oranla birkaç kat daha fazladır (Jones ve ark 1986).

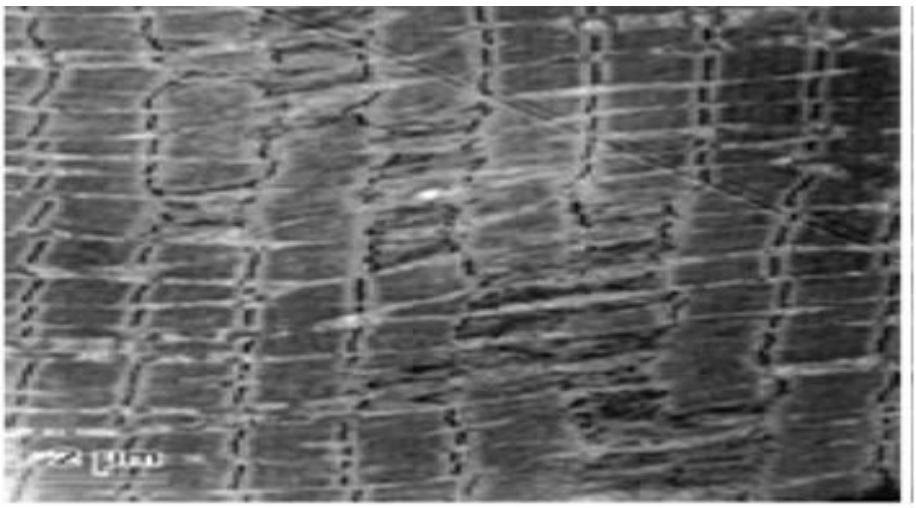
Kas hasarı, kasta meydana gelen biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere bakılarak değerlendirilir. Direkt yöntem olan görüntüleme teknikleri ile miyofibrillerin histolojik görünümlerindeki yapısal değişiklikler kas hasarının belirteci olarak kullanılabilir fakat bu yöntemler hem pahalı hem de alana uygulanabilirliği zor yöntemlerdir (MR spektroskopi, mikrografi, elektron mikroskobu). (Şekil 1, 2 ve 3) (Warren 1999).



Şekil 1: Normal iskelet kas liflerinin elektron mikroskobundaki görünümü (Staron ve Hikita 2000).



Şekil 2: Egzersize bağlı kas hasarının elektron mikroskobundaki görünümü (Roth ve ark 2000).



Şekil 3: Mikrografide kas liflerinde Z bandı hasarı (Roth ve ark 2000).

Egzersize bağlı kas hasarı sonrasındaki etkin yenilenme süreci ve egzersizin faydaları göz önünde bulundurulursa, kas hasarının egzersize uyum açısından kaçınılmaz olduğu söylenebilir. Bundan dolayı, egzersize bağlı kas hasarı adaptif mikro- travma olarak tanımlanabilir (Smith ve Miles 2000). Kas hasarı temel olarak iki yolla açıklanmaktadır. Birincisi kas iskemisinin de katkısıyla gelişen bazı metabolik ve kimyasal olaylara bağlı doku hasarı, ikincisi ise hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun ekstrasellüler kaynaklardan gelen

kalsiyumla artmasına bağlı miyofibriler hasar gelişmesidir (Howatson ve ark 2008). Aynı zamanda kas hasarının tespitinde biyopsi tekniği de kullanılır. Ancak biyopsi tekniklerinden kaynaklanan farklılıklar sonuçları etkileyebilmektedir. Bir diğer yöntem ise kasa özel enzim aktivitelerinin serumdaki düzeylerinin belirlenmesine dayanmaktadır. Genetik olarak, hangi dokuya ait oldukları belirlenmiş olan izoenzimlerin serumdaki miktarlarının artması, ilgili dokudaki hasarı ve hasarın oranını tespit etmede belirleyici rol oynar (Roth ve ark 2000). Egzersizle oluşan kas hasarının belirteci olarak daha çok kanda kreatin kinaz ve miyoglobin düzeylerindeki değişikliklerdir (Brown ve ark 1999).

2.5. KAS HASARI BELİRTEÇLERİ

2.5.1. Kreatin Kinaz

Kas hasarı oluştuğunda başta kreatin kinaz (CK) olmak üzere bazı enzimler serbestlenir. Plazma CK seviyeleri, kas hasarı boyutunun bir göstergesidir. Dışarıdan alınacak bir darbe bile, bu tip enzimlerin kandaki düzeylerinin artmasına neden olabilir (Jenkinson 2002).

CK her bir alt birimi 43-45 kDa'lık molekül ağırlığına sahip olan iki alt birimden oluşmaktadır. CK kasılma sırasında, kreatin fosfat ile ADP arasındaki yüksek enerjili fosfat bağlarının geri dönüşümlü değişimini katalizleyerek, hücresel ATP ve ADP konsantrasyonlarını tamponlar. CK'nın en az beş izoformu mevcuttur: Üç izoenzimi sitoplazma içindedir (CK–MM, CK-MB, CK-BB), iki izoenzimi ise mitokondri içindedir (sarkomerik ve sarkomerik olmayan) (Stadhouders ve ark 1994). Sitoplazmik izoenzimler (CK-MM, CK-MB, CK-BB), doku dağılımlarından dolayı, hasarlı dokulara özgü bilgi sağlarlar. CK-MM, ATP tüketiminin yüksek olduğu bazı miyofibriler alanlarda bulunur ve kas hasarının bir işaretidir (Nigro ve ark 1983). Sarkolemma ve Z-diskleri düzeyinde iskelet kas hücresinin yapısına hasar veren ağır egzersizler total CK'da artışa neden olur (Hornemann ve ark 2000). Aslında, CK-MM; en az 28 farklı protein içeren bir kompleks yapı olan sarkomer içine yerleşmiş, özellikle miyofibriler M-çizgisinin yapısına bağlanmış sitozolik bir enzimdir. Egzersiz şiddeti metabolizmanın normal aralığı içinde olduğu zaman, kas dokusu membran geçirgenliğinde anlamlı değişmeler olmaz. Bununla beraber, egzersiz şiddeti bu aralığı aştığı zaman geçirgenlik değişir ve önceden bahsedilen yollara göre, enzimler dolaşımda görülür (Bijstrebosch ve ark 1985).

Günlük antrenman, serum CK düzeyinde kalıcı artışlara neden olabilir ve istirahat CK değerleri sporcularda daha yüksektir (Vincent ve Vincent 1997). Bununla beraber, CK'da egzersizden sonra görülen artış, antrenmansız bireylere kıyasla, antrenmanlı bireylerde daha düşüktür (Karamızrak ve ark 1994). Sporcu ve sedanter katılımcılar aynı fiziksel egzersizi yaptıkları zaman, sporculardaki CK aktiviteleri, sağlıklı kontrollere göre düşük bulunmuştur. CK'nın serbestlenme zamanı ve plazmadaki klirensi, esas olarak, antrenmanın seviyesine, tipine, şiddetine ve süresine bağlıdır. Ekzantrik egzersiz sonrası CK artışı, kas hasarıyla ilişkilidir ve artış egzersizden sonraki 2-7 gün boyunca artarak devam eder (Serrao ve ark 2003). Uzun süreli egzersiz sonrasında, katılımcılar istirahat halinde ise, toplam serum CK aktivitesi, egzersizden sonraki 24 saat içinde belirgin bir şekilde artar. Bununla beraber, eğer sporcu egzersiz yapmaya devam ederse, CK aktivitesi çok daha uzun süre yüksek kalabilir (Staubli ve ark 1985). Ekzantrik egzersizi takiben CK salınımı egzersiz sonrası 96. saatte pik yapar ve ek bir egzersiz devresi, muhtemelen enzim klirensinin hızlanmasından dolayı sadece küçük artışlara neden olur (Hyatt ve Clarkson 1998). Serum CK aktivitesi sarkomerik hasarın belirteci olarak da kullanılabilir. Çünkü kas hücrelerinden kana salınan bu enzimin miktarı zorlu fiziksel egzersizin şiddetine bağlı olarak etkilenir. Serum CK aktivitelerinin en yüksek değerlerine bisiklet ergometresi testinden sadece 5 dakika sonra ulaşması form düzeyinden ziyade egzersiz süresinin serum CK aktivitesiyle bağlantılı olduğunu göstermektedir (Koutedakis ve ark 1993).

Normalde serumda sadece CK-MM bulunur, ama uzun süreli ve zorlu egzersiz, miyokard kasında da hasar oluştuğunda her üç CK izoenziminin serumdaki aktivitesi artar (Noakes ve ark 1983). Brayne ve ark (1982) boksörlerde bulunan CK-BB fraksiyonunun muhtemelen serebral hasarı yansıttığını belirtmişlerdir.

2.5.2. Miyoglobin

Miyoglobin, düşük molekül ağırlığına (18 kDa) sahip 153 amino asitten oluşan bir protein monomeridir. Son yıllarda, kastaki miyoglobin konsantrasyonları proteomik yaklaşım kullanılarak incelenmektedir (Gelfi ve ark 2004).

Normal olarak, insan iskelet kasında eksprese edilen üç miyoglobin izoformu vardır (Jürgens ve ark 2000). oksijen depolama ve taşınmasına ek olarak, mitokondri membranlarının peroksidasyonunu hızlandıran miyoglobinin "hem" bölümünden gelen demir iyonlarının salınımı sonucunda mikrovasküler ve doku seviyesinde nitrik oksidin (NO)

düzenlenmesinin de içinde bulunduğu başka rollerin olması mümkündür (Plotnikov ve ark 2009).

Ağır egzersizi takiben, kas protein yapısının bozulması sonucu olarak kana miyoglobin salınır ve protein takviyesi artışın azalmasına neden olur (Cockburn ve ark 2008). Aktiviteden sonra, miyoglobin 30 dakika içinde artabilir (Ancensao ve ark 2008) ve muhtemelen düşük dereceli inflamasyondan dolayı 5 gün süreyle yüksek düzeyde kalır (Neubauer ve ark 2008). CK ve miyoglobin seviyeleri, stresin neden olduğu nötrofil cevabı ile korelasyon halindedir (Suzuki ve ark 1999). Bu özelliği verildiğinde, iş yükünün antrenman sırasında kas dokusu üzerindeki etkinliğini izlemek için faydalı bir belirteçtir (Speranza ve ark 2007).

2.6. OKSİDATİF STRES ve ANTİOKSİDAN SAVUNMA BELİRTEÇLERİ

Düzenli egzersizlerin, iskelet kasında hem antioksidan savunmayı hem de oksidatif kapasiteyi iyileştirerek, oksidatif hasarın neden olduğu hastalıkları azalttığı, hayat kalitesini yükselttiği ve ömrü uzattığı belirtilmektedir (Pereira ve ark 1994). Pek çok çalışma (Clarkson 1995, Ji ve Fu 1993) hem insanlarda hem de hayvanlarda, aerobik egzersizden sonra dokularda veya kanda antioksidan enzim aktivitesinin (SOD, GSH, MDA) arttığını göstermistir. Antioksidanların başlıca etkileri şunlardır: 1) Serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunun engellenmesi, 2) Oluşan serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin yakalanması, 3) Daha az reaktif olan radikallerin, daha tehlikeli formlara dönüşümünün engellenmesi, 4) Radikallerin neden olduğu hasarın onarımı ve 5) Diğer antioksidanların işlevlerini etkin bir şekilde yerine getirmesi için uygun ortamın sağlanmasıdır (Sen 1995).

Serbest radikaller, birçok normal biyolojik süreç için gereklidir. Bununla beraber, üretimleri sıkı bir şekilde kontrol edilmezse, hücreler ve dokular için son derece zararlı olabilirler (İnal ve ark 2001). Yararlı etkilerine rağmen, serbest radikallerin fazla üretimi, hücre zehirlenmesine, doku yaralanmasına, iltihaplanmaya ve fonksiyon bozukluğuna yol açar. Hücreler metabolik süreçlerin bir parçası olarak, sürekli serbest radikal ve reaktif oksijen türleri meydana getirirler. Bununla eş zamanlı olarak, serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri ya da kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmistir (Sen 1995). Bunlardan bazıları şunlardır:

2.6.1. Glutatyon

Glutatyon (GSH), başta karaciğerde olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunan, glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen bir tripeptitdir. GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Jenkinson ve ark 1984). Serbest radikallere bağlı olduğu düşünülen klinik durumlar başta bağışıklık sistemi bozuklukları, iskemik durumlar, beslenme bozuklukları, madde ve toksinlerin yol açtığı reaksiyonlar olmak üzere karaciğerden göze kadar tüm organları içine alabilir. Glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşan GSH hemen hemen bütün hücrelerde, oldukça yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Rose 1984). GSH, hücre içi indirgenme reaksiyonlarında, kataliz olaylarında, metabolizmada ve amino asitlerin transportunda önemli rol oynar. Antioksidan özelliğinden dolayı hücreleri serbest radikallere, reaktif oksijen türlerine, endojen ve eksojen kaynaklı toksik bileşiklere karşı korur (Murray ve ark 1993).

2.6.2. Süperoksit Dismutaz

Superoksit dismutaz (SOD) enzimi metalloprotein yapısındadır. Ökaryot hücrelerde dört farklı tipi bulunur. Organizmada oksidatif stres ve dokuda pO_2 arttığı zaman bu enzimin aktivitesi artar. SOD, oksidatif strese karşı ilk savunma hattıdır. Süperoksit radikalinin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar, böylece hücre içindeki süperoksit radikali düzeylerini azaltır (Finaud ve ark 2006).

Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimi ile belirir. SOD, O_2-radikalini metabolize eder ve daha zararlı olan OH- radikalinin oluşumunu engeller. O_2-radikalini H_2O_2'ye ve moleküler O_2' ye dönüştürür. Tepkime ürünü olan H_2O_2 tarafından inhibe edilir (Cuzzocrea ve Reiter 2001).

2.6.3. Malondialdehit

Lipit peroksidasyonu olarak bilinen membran lipitlerindeki hasar, serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olay olarak tanımlanır (Akkuş 1995). Lipit peroksidasyonu, hücre zarındaki lipidlerin yapısını bozarak, hücre zarının akışkanlığını değiştirir, konsantrasyon dengesinin sürdürülebilme kapasitesini düşürür ve hücre zarı geçirgenligini ve inflamasyonu artırır (Radak ve ark 1999).

Malondialdehit (MDA), lipit peroksidasyonunun en önemli ürünüdür. Lipitlerin oksidasyonu sonucu lipit peroksil radikali, lipit alkoksil radikali, alkil radikali, lipit aldehid vb. gibi peroksidasyon ürünleri meydana gelir. Oluşan MDA hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Moslen 1994).

Tiyobarbitürik asit (TBA) testi MDA için spesifik değildir ve lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'yı tek başına ölçebilecek başka bir biyokimyasal yöntemde mevcut değildir. MDA'dan başka diğer aldehit bileşikleri, okside lipitler, sialik asit gibi maddeler de TBA ile birleşerek renkli kompleks oluşturur. Bu yüzden tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) teriminin kullanılması daha doğrudur ve bu test tüm dünyada biyokimyasal olarak lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak kabul edilmektedir (Gutteridge ve Hailiwell 1990).

2.7. KURKUMİN

Curcuma longa, Hindistan ve Çinde yaygın olarak bulunan Zingiberaceae ailesine ait bir bitkidir. Bu bitkinin köklerinden elde edilen turmerik Hindistan'da yüzyıllardır baharat, tıbbi ilaç ve kozmetik ürün olarak kullanılmaktadır. Kurkumin (diferuloilmetan), *curcuma longa*'nın (turmerik) sarı pigmentli bir ürünüdür. Bu polifenol molekül turmerik'in aktif bir bileşenidir (Kunnumakkara ve ark 2008). Genellikle gıdalarda renk verici olarak kullanılan kurkumin (zerdeçal) kokusuz, ısıya dayanıklı, antioksidan bir bileşik olan tetrahidrokurkumin içerir. Kurkuminoidler (kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin) zerdeçalın ana bileşenini oluştururlar.

Kurkuminin, antiinflamatuar, antioksidan ve antiapoptotik etkilerin de içinde bulunduğu pek çok farmakolojik özelliklerinin bulunduğu bilinmektedir (Kunnumakkara ve ark 2008, Lin ve ark 2011). Kurkuminle ilgili özellikle solunum yolu hastalıklarında çok sayıda çalışma yapılmıştır. Kurkumin, Doğu tıbbında solunum yolu hastalıklarını da içeren çeşitli kronik inflamatuar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Kurkuminin sıçanlarda aspirasyona bağlı hava yolu hasarında indüklenebilir nitrik oksit sentaz aktivitesini azalttığını gösterilmiştir. Sharma (1976), kurkuminin antioksidan özelliğinin fenolik yapısından ileri geldiğini ve büyümesi inhibe edilmiş hücreleri restore ederek apoptozisi engellediğini bildirmiştir. Zerdeçal gıdalarda peroksit oluşumunu engelleyerek koruma süresini

artırmaktadır. Zerdeçalın lipit oksidasyonunu önlemede E vitamininden daha etkili olduğu bildirilmiştir. Curcuma longa'dan izole edilen bileşenlerin güçlü bir antioksidan etki gösterdiği ve lipit oksidasyon üzerinde oldukça önemli olduğu saptanmıştır (Jayaprakasha ve ark 2005). *In vivo* ve *in vitro* çalışmalar kurkuminin tümör ilerlemesi, anjiogenez ve tümör büyümesi gibi üç evrede kanseri engellediğini göstermiştir. Kurkumin, mononükleer kan hücrelerinin hızla çoğalmasına neden olan mitojenleri ortadan kaldırarak sinirsel aktivasyon, karışık lenfatik reaksiyonu ve trombosit gelişimini de inhibe eder (Huang 1992). Ayrıca protein kinaz enzimini de kısmi olarak inhibe etmektedir (Liu 1993). Kurkuminin diğer bir belirgin özelliği ise Asya ülkelerinde yüzyıllardan beri kullanılmasına rağmen herhangi bir toksik etkinin tespit edilmemiş olmasıdır (Ammon ve Wahl 1991). Oksidatif stresin miyokardiyal iskemi, beyin iskemi-reperfüzyon hasarı, kanama, şok, sinirsel hücre hasarı ve kanser dahil bir çok hastalığın patogenezinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Kurkuminin kanıtlanmış anti-inflamatuar ve antioksidan özellikleri vardır. Kurkuminin, hidroksil radikalleri (Reddy and Lokesh 1994) ve azot dioksit radikallerini içeren farklı reaktif oksijen türlerini giderdiği belirtilmiştir (Unnikrishnan and Rao 1995, Sreejayan and Rao 1997).

Khanna (2009), kurkuminoidlerin antioksidan kapasitesinin askorbik aside eşdeğer olduğunu belirtmiştir. Yine aynı çalışmada, zerdeçalın köklerinin aromatik ve antiseptik özellikte olduğunu belirtmiştir. Kurkumin, kuvvetli bir hidroksil radikal temizleyicisi olduğu gibi, süperoksit radikallerini de yakalar. Serbest radikalleri tutma özelliğinden dolayı DNA'yı oksidatif hasarlardan korur (Pandya ve ark 2000). Kurkumin oral yolla alındığında bağırsaklarda hidrojenasyon ile tetrahidrokurkumine dönüşür. Bağırsaklardan emilerek, kana ve böylece dokulara dağılarak safra ile atılır.

Davis ve ark (2007) kurkumin takviyesinin sıçanlarda ekzantrik egzersizin neden olduğu kas hasarını azalttığını göstermişlerdir. Ancak bu çalışmada uygulanan kurkumin takviyesi ve egzersiz protokolü standart değildir. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı kurkumin takviyesinin sıçanlarda ekzantrik egzersizle oluşan kas hasarı üzerine etkisini ve bu etkinin oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi değişiklikleri ile ilişkisini araştırmaktır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma için Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 26.09.2011 tarih ve 2011/105 karar no ile onay alındı.

3.1. Hayvanların Temini ve Bakımı:

Çalışma Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen, ortalama 350- 400 gram ağırlığında, ortalama 4 aylık Wistar soyundan 30 erkek sıçanla yapıldı. Sıçanlar 23±2 ^{o}C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık siklusunda ve yem ve suyun ad libitum olarak verildiği kafeslerde, her kafeste ortalama en fazla 5 sıçan olacak şekilde tutuldu. Sıçanlar 4 gruba ayrılarak aşağıdaki müdahaleler yapıldı.

3.2. Gruplandırma:

1- Kontrol Grubu (n: 6): Bu grupta bulunan sıçanlara 20 gün boyunca taşıyıcı madde (mısır yağı) oral olarak verildi ve 21. gün egzersiz yaptırılmadan kan ve doku örnekleri alındı.

2- Egzersiz Grubu (n: 8): Bu grupta bulunan sıçanlara 20 gün boyunca taşıyıcı madde (mısır yağı) oral olarak verildi ve 21. gün ekzantrik egzersiz protokolü uygulandıktan hemen sonra kan ve doku örnekleri alındı.

3- Kurkumin Grubu (n: 8): Bu grupta bulunan sıçanlara 20 gün boyunca kurkumin, taşıyıcı madde (mısır yağı) içerisinde çözülerek 200 mg/kg dozunda oral gavaj yoluyla verildi ve 21. gün egzersiz yaptırılmadan kan ve doku örnekleri alındı.

4- Kurkumin + Egzersiz Grubu (n: 8): Bu grupta bulunan sıçanlara 20 gün boyunca kurkumin, taşıyıcı madde (mısır yağı) içerisinde çözülerek 200 mg/kg dozunda oral gavaj yoluyla verildi ve 21. gün ekzantrik egzersiz protokolü uygulandıktan hemen sonra kan ve doku örnekleri alındı.

3.3. Egzersiz Protokolü:

Egzersiz gruplarında yer alan sıçanlara, kemirgenler için özel olarak tasarlanmış 6 kulvarlı koşu bandında (MAY-TME 0804 Animal treadmill, Commat – Turkiye) -15°'lik eğim ve 20 m/d hızda ekzantrik egzersiz yaptırıldı. Sıçanların 20 m/dk hızda koşmaları sağlandı. Sıçanlara 5 dakika koşu ve 2 dakika dinlenme periyotlarından oluşan toplam 18 (5x18=90 dk) oturum uygulandı. Toplamda 90 dakikalık koşu ve 34 dakikalık dinlenme

yaptırılarak egzersiz tamamlandı. Bu egzersiz protokolünün sıçanlarda kas hasarına neden olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Tsivitse ve ark 2003).

3.4. Kan ve Doku örneklerinin alınması ve saklanması:

Egzersizin hemen ardından sıçanlar anesteziye alındı. Anestezide kas içine 50 mg/kg ksantin ve 10 mg/kg ksilazin uygulandı. Anesteziyle uyutulan sıçanlardan intrakardiyak kan alımını takiben servikal dislokasyonla sakrifiye edildi. Daha sonra sıçanların karaciğer ve kas dokularından numuneler alındı ve hemen sıvı azot tankına atılarak hızlı bir şekilde donduruldu. Antikoagülan içermeyen kuru tüplere kan örnekleri alındıktan sonra +4 ^{0}C'de 30 dakika bekletildi ve 3200 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek serumlarının ayrılması sağlandı. Serum örnekleri sıvı azot içerisinde dondurulduu. Bütün örnekler analiz zamanına kadar -80 ^{o}C'de saklandı.

A  B 

Şekil 4:

A) Sıçanlarda intrakardiyak kan alımı ve servikal dislokasyonun sağlanması. B) sıçanlardan doku örneklerinin alınması.

3.5. Dokuların Homojenizasyonu:

-80 ^{o}C'den +4 ^{o}C'ye alınan dokular darası alınmış tüplerde tartıldı. Toplam ağırlık doku ağırlığının 10 katı olacak şekilde (doku ağırlığının 9 katı) fosfat tamponu (pH: 7.4) ile sulandırıldıktan sonra homojenizatör ile homojenize edildi ve homojenat I oluşturuldu. Daha sonra örnekler + 4 ^{o}C, 3200 rpm' de 30 dakika santrifüj edildi ve supernatant ayrıldı. Homojenat II oluşturuldu.

Bir şişeye 3 birim etanol ile 5 birim kloroform karıştırıldı. Homojenat II' den belirli bir hacim alındı. Bunun üzerine aynı hacimde etanol kloroform karışımından ilave edildi. Bu karışım +4 ^{o}C, 3200 rpm de 30 dakika santrifüj edildi ve homojenat III oluşturuldu.

Homojenat II'den MDA, SOD ve GSH, homojenat III'den ise protein çalışıldı.

3.6. Biyokimyasal Analizler:

3.6.1. CK Analizi:

Serum CK aktivitesi direk kemilüminometrik yöntemle Advia Centaur CP (Siemens Inc, Germany) marka oto analizörde ve ticari kitler kullanılarak ölçüldü ve sonuçlar U/L olarak tayin edildi.

3.6.2. Miyoglobin Analizi:

Cobas Tina-quant Myoglobin ticari kitler ile "Cobas Integra 400 plus" analizöründe (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany) immünoturbidimetrik metod ile çalışıldı ve sonuçlar ng/ml olarak tayin edildi.

3.6.3. MDA Analizi:

MDA seviyeleri TBARS yöntemi ile ticari kitler kullanılarak (Cayman Chem. katalog no:10009055) spektrofotometrik kolorimetrik yöntemle tayin edildi. Ölçümün prensibi, MDA ile tiyobarbutirik asidin etkileşimi sonucu oluşan pembe renkli bileşiğin 532 nm'de absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Mikroplate okuyucuda 532 nm'de standart ve numunelerin absorbansı okundu ve standartlara karşı numunelerin konsantrasyonları kaydedildi. Sonuçlar kan örneklerinde µM/L, doku örneklerinde ise µM/g doku olarak ifade edildi.

3.6.4. GSH Analizi:

GSH seviyeleri ticari kitler kullanılarak (Cayman Chem. katalog no:703002) spektrofotometrik kolorimetrik yöntemle tayin edildi. 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.

3.6.5. SOD Analizi:

SOD aktivitesi ticari kit kullanılarak (Cayman Chem. katalog no: 706002) spektrofotometrik kolorimetrik yöntemle tayin edildi. 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.

3.6.6. Protein Analizi:

Lowry ve arkadaşlarının (1951) metoduyla yapıldı.

3.6.7. İstatistiksel Analiz:

Verilerin istatistiksel analizi SPSS bilgisayar programı ile yapıldı. Bulgular ortalama±standart sapma (SS) olarak verildi. Bütün veriler için Kolmogorov Smirnov testi ile normal dağılıma uygunluk testi yapıldı. Her veri için 4 gruptaki dağılımın normal dağılıma uygun olduğu (Asymp. Sig. (2-tailed) değerleri >0.05) bulundu. Daha sonra değişkenler için 4 grup arasında farklılık olup olmadığı tek yönlü varyans analizi kullanılarak test edilmiştir. Varyans analizinin ön koşulu olan normal dağılıma uygunluk varsayımının sağlandığı gösterilmişti. İkinci varsayım olan grup varyanslarının homojenliği Levene testi ile test edildi. Levene testi sonucunda 4 gruptaki değişkenlerin ölçüm değişkenlerinin varyanslarının homojen olup olmadığına bakıldı. Homojen değişkenlerin analizi tekrarlı ANOVA ölçümleri ile yapıldı. Homojenlik varsayımını sağlamayan verilerin analizi parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. Vücut ağırlığı ölçümleri arasında her bir grup için farklılık olup olmadığı bağımlı örneklem t testi ile test edildi. Bütün değerlendirmeler için P değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Grupların vücut ağırlıkları arasındaki değişimler:

Vücut ağırlığı ölçümlerinde zamana bağlı olarak her grup için istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu ($p<0.05$). Bununla birlikte gruplar arasında ağırlık artışı bakımından anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Çizelge 1).

Çizelge 1. Sıçanların vücut ağırlıklarında zamana bağlı değişimler

	VA1	VA2
Kontrol	398.0±19.3	415.7±27.3[a]
Kontrol+ Egzersiz	393.2±16.8	429.5±21.2[a]
Kurkumin	406.6±26.5	431.2±10.7[a]
Kurkumin+ Egzersiz	410.5±20.9	435.4±14.4[a]

[a] VA1'e göre $p<0.005$

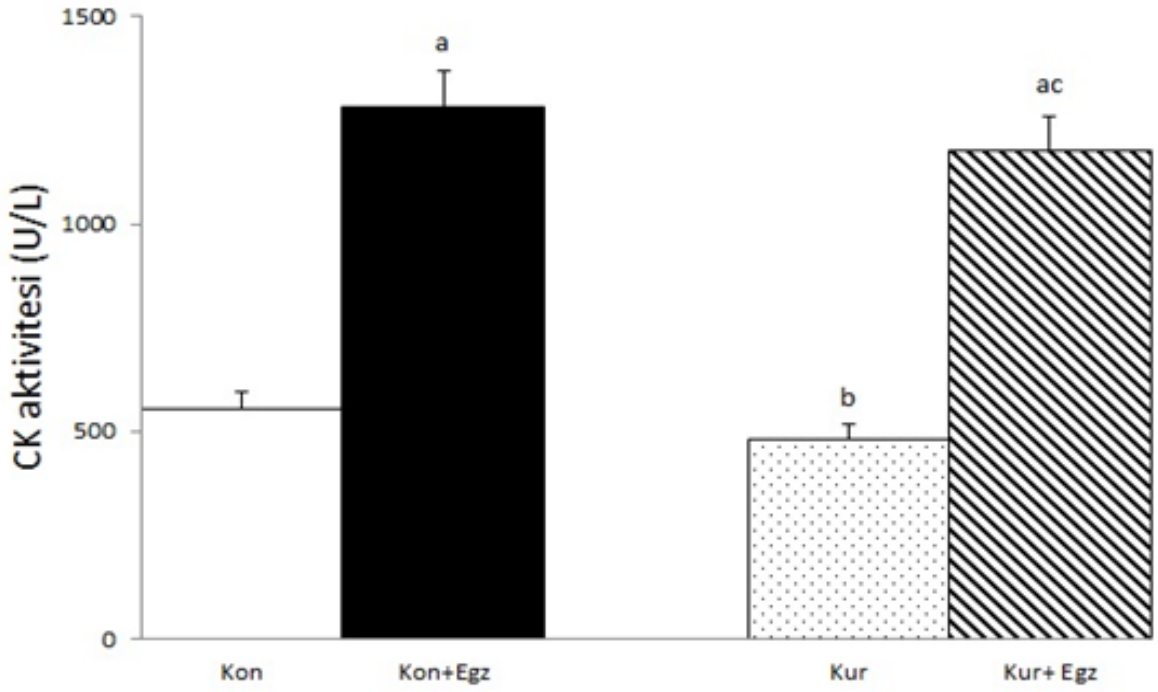
4.2. CK aktivitelerindeki değişiklikler:

CK aktivitesi kontrol+egzersiz grubunda kontrol grubuna göre yüksekti ($p<0.05$). Kurkumin grubunda ise kontrol+egzersiz grubuna göre düşüktü ($p<0.05$). Kurkumin+egzersiz grubunda ise hem kontrol hem de kurkumin gruplarından yüksekti ($p<0.05$). İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen CK aktivitesi kurkumin+egzersiz grubunda kontrol+egzersiz grubuna göre düşüktü (Çizelge 2).

Çizelge 2. Grupların CK aktiviteleri (U/L).

CK aktivitesi	Kontrol	Kontrol+ Egzersiz	Kurkumin	Kurkumin+ Egzersiz
Kan	556.0±327.8	1280.4±603.1[a]	482.6±236.6[b]	1177.9±683.3[ac]

[a]Kontrole göre $P<0,05$; [b]Kontrol+Egzersize göre $P<0,05$; [c]Kurkumine göre $P<0,05$.



[a]Kontrole göre P<0,05; [b]Kontrol+Egzersize göre P<0,05; [c]Kurkumine göre P<0,05.

Şekil 5: CK aktiviteleri(U/L)

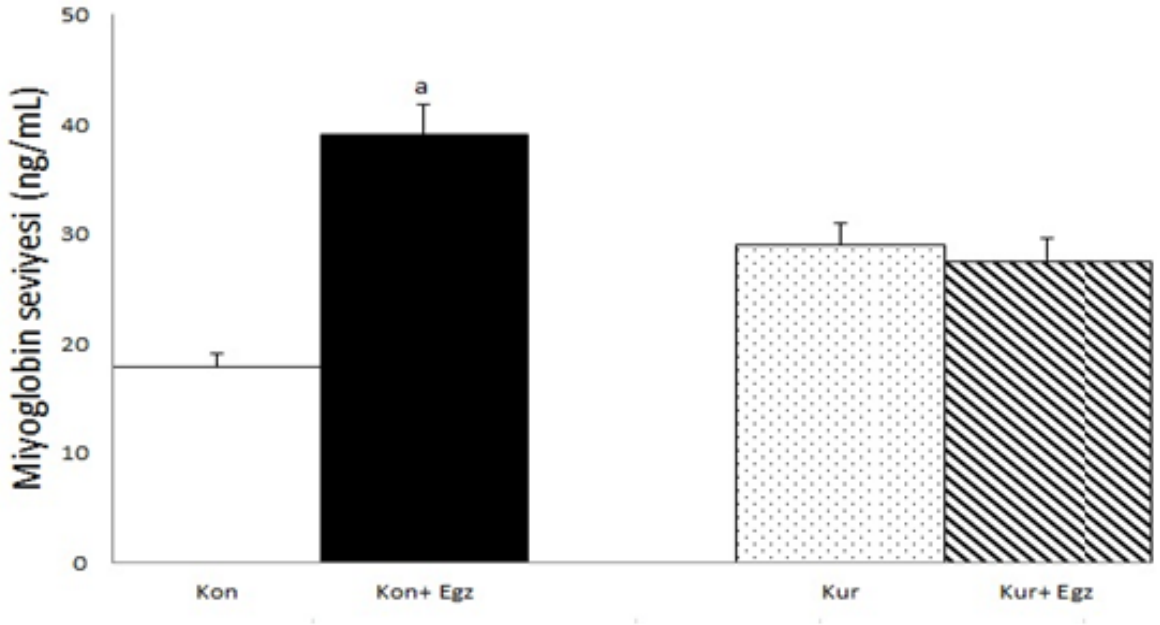
4.3. Miyoglobin seviyelerindeki değişiklikler:

Serum miyoglobin seviyeleri kontrol+egzersiz grubunda kontrol grubuna göre yüksekti ($p<0.05$). Diğer grupların miyoglobin aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$) (Çizelge 3).

Çizelge 3. Grupların Miyoglobin seviyeleri (ng/mL).

Miyoglobin	Kontrol	Kontrol+ Egzersiz	Kurkumin	Kurkumin+ Egzersiz
Kan	17.8±3.5	39.1±13.8[a]	29.0±15.6	27.6±6.1

[a]Kontrole göre P<0,05.



[a]Kontrole göre P<0,05.

Şekil 6: Miyoglobin seviyeleri (ng/ml)

4.4. MDA seviyelerindeki değişiklikler:

Kan ve kas dokusunda MDA seviyeleri ne kurkumin takviyesinden ne de egzersizden etkilenmemiştir (p>0.05). Karaciğer dokusunda MDA seviyeleri kurkumin+egzersiz grubunda kontrol grubuna göre azalmıştı (p<0.05) (Çizelge 4).

Çizelge 4. Grupların MDA seviyeleri.

MDA	Kontrol	Kontrol + Egzersiz	Kurkumin	Kurkumin+ Egzersiz
Kan (µM/L)	5.7±1.0	4.1±1.0	5.4±2.2	3.9±1.3
Kas (µM/g)	10.3±5.0	4.9±2.3	16.1±12.2	7.4±4.1
Karaciğer(µM/g)	48.3±9.6	39.3±7.2	41.8±12.2	33.8±3.3[a]

[a]Kontrole göre P<0,05.

4.5. SOD aktivitelerindeki değişiklikler:

SOD aktiviteleri kan, kas ve karaciğer dokularında ne kurkumin takviyesinden ne de egzersizden etkilenmedi ($p>0.05$) (Çizelge 5).

Çizelge 5. Grupların SOD aktiviteleri.

SOD aktiviteleri	Kontrol	Kontrol+ Egzersiz	Kurkumin	Kurkumin+ Egzersiz
Kan (U/mL)	10.3±1.0	11.6±1.0	10.1±0.9	11.2±1.9
Kas (U/g protein)	25.4±5.6	35.0±15.2	24.4±5.8	37.0±12.5
Karaciğer (U/g protein)	8.3±6.4	7.4±2.7	9.7±5.4	5.5±1.3

4.6. GSH seviyelerindeki değişiklikler:

GSH seviyesi tüm dokularda ne egzersizden ne de kurkumin takviyesinden etkilenmedi ($p>0.05$) (Çizelge 6).

Çizelge 6. Grupların GSH seviyeleri.

GSH seviyeleri	Kontrol	Kontrol+ Egzersiz	Kurkumin	Kurkumin+ Egzersiz
Kan (µM/L)	6.5±1.3	9.8±3.1	7.2±3.5	7.7±2.0
Kas (µM/g protein)	74.9±8.2	88.6±25.1	75.4±8.7	103.7±25.0
Karaciğer (µM/g protein)	83.7±32.6	85.0±19.6	93.7±30.7	76.0±13.5

5- TARTIŞMA ve SONUÇ

Ekzantrik veya alışılmamış egzersiz sonrası kas membranının yapısında bozulma olduğu bilinmektedir. Kas hasarının ortak özellikleri arasında kasa özgü proteinlerin ve polipeptidlerin hücre membranından içeri veya dışarı doğru seçici göçü bulunur. Dolaşımda CK ve miyoglobinin seviyelerinin yükselmesi kas hasarının en yaygın belirtecidir (Brenner ve ark 1999). Kasta hasar oluştuğunda CK ve miyoblobinin plazmadaki konsantrasyonunun arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Clarkson ve ark 1986, Gillum ve ark 1984, Schwane ve ark 1984). Özellikle ekzantrik kas kasılmalarında daha yüksek oranda kas hasarı oluşur. Mevcut çalışmada egzersiz grubunda serum CK aktivitesi ve miyoglobin seviyelerinin kontrol grubuna göre yükselmesi, uyguladığımız egzersiz protokolünün sıçanlarda kas hasarı oluşturduğunu göstermektedir.

Davis ve ark (2007), bizim bulgularımızla uyumlu şekilde 3 gün süreyle günlük 10 mg kurkuminin sıçanlarda oluşturulanan kas hasarı üzerine etkilerini incelemiş ve kurkuminin sıçanların serum CK aktivitesini anlamlı bir şekilde düşürdüğünü rapor edip kurkumin takviyesinin sıçanlarda ekzantrik egzersizle oluşan kas hasarı üzerine olumlu etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada kurkumin+egzersiz grubunda serum CK aktivitesinin egzersiz grubuna göre anlamlı olmamasına rağmen düşüş göstermesi, ayrıca miyoglobin seviyesinin ise kontrol+egzersiz grubuna göre düşük olması ve kurkumin grubundan farklı olmaması kurkumin takviyesinin ekzantrik egzersizin neden olduğu kas hasarına karşı koruyucu rolünün olduğunu göstermektedir.

Antioksidanlar, günümüzde yaygın kullanım alanları sebebiyle ilgi çekmeye devam etmektedir. Antioksidanlar ortamda, okside edilebilen bir maddeye göre daha az miktarda bulunmalarına rağmen, o maddenin oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanabilirler. Antioksidanların fizyolojik rolü, kimyasal reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan serbest radikallerin dokularda oluşturdukları hasarı önlemektir (Şan 2002). Fiziksel egzersiz sırasında metabolizma hızı, kas aktivitesinin şiddetiyle orantılı olarak artmaktadır. Egzersiz, şiddet ve süresine göre oksidatif strese neden olabilmektedir. Buna bağlı olarak egzersiz sırasında serbest oksijen radikallerinin üretimindeki artış, hücrelerin savunma kapasitesini aşarsa oksidatif hasar oluşur (Leaf 1997). MDA'nın varlığı serbest radikallerle reaksiyon sonucu oluşan lipit peroksidasyon derecesini yansıttığından, maksimal egzersizin önemli miktarda serbest radikallerin oluşumuna yol açtığı da çeşitli kaynaklarda bildirilmiştir (Haliwell ve ark 1992). MDA'nın egzersizin türüne göre değişiklik gösterdiği, şiddeti ve

süresiyle orantılı olarak arttığı bilinmektedir. Child ve ark (1998) yarı maraton koşusunda, Lovlin ve ark (1987) tüketici egzersizde, Mena ve ark (1991) bisikletçilerde yapılan egzersizlerde MDA'nın arttığını tespit etmişlerdir. Alessio ve ark (2000) tüketici aerobik egzersizde MDA'nın değişmediğini, Leaf ve ark (1997) maksimal egzersizde, egzersiz öncesi ve sonrası MDA'da değişme olmadığını belirlemişlerdir. Gül ve ark (2006), dayanıklılık antrenmanı ve akut tükenme egzersizinin, sıçanlarda antioksidan savunma mekanizmaları üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, antrenman grubuna 8 hafta boyunca, haftada 5 gün, günde 90 dk. saat koşu bandında egzersizin ardından, antrenman ve kontrol grubuna tükenme egzersizi uygulamışlar; sonuçta, antrenmanlı ve antrenmansız ratlarda MDA seviyesinin kalp dokusunda, akut tükenme egzersizi tarafından etkilenmedigini tespit etmişlerdir. Ekzantrik egzersizin oksidatif stresin artmasıyla MDA düzeylerinde değişikliklere sebep olduğu yine bazı çalışmalarda, fiziksel egzersiz sırasında oksijen tüketimindeki artış ile serbest radikal oluşumu arasında bir bağlantı olduğu bildirilmektedir (Haliwell ve ark 1992). Bu çalışmada MDA seviyeleri karaciğer dokusunda kurkumin+egzersiz grubunda, kontrol grubuna göre önemli ölçüde düşüş gösterdi. Kan ve kas dokusunda ise MDA seviyelerinin ne kurkumin takviyesinden ne de egzersizden etkilenmediği saptandı.

Egzersizin GSH, SOD gibi antioksidan enzim kapasitesinde artış sağladığını belirten bazı çalışmalar olmasının yanında sonuçlar açık değildir (Ohishi ve ark 1998, Mcbride ve Kraemer 1999). Sonuçlar yapılan egzersizin tipi, süresi, şiddeti ve incelenen dokunun antioksidan kapasitesine ve örneklerin egzersizden sonraki alınma zamanına bağlı olarak değişir. Gündüz ve ark (2004) sıçanlarda tüketici egzersizin böbrek ve eritrosit SOD aktivitesi üzerinde önemli bir etki yapmadığını rapor etmişlerdir. Cheeseman ve Slater (1994) yaptıkları çalışmada, oksijen kullanımının düşük olduğu durumlarda GSH, SOD ve türevlerinin antioksidan savunma ile etkisizleştirilebildiğini, ancak oksijen tüketim hızının önemli derecede arttığı egzersiz durumunda bu savunma mekanizmalarının serbest radikal oluşumuna ayak uyduramayabildiğini, bunun ise hücre hasarı ile sonuçlanabildiğini bildirmişlerdir. Egzersize bağlı SOD indüklenmesinin oksidatif özelliği fazla olan iskelet kaslarında daha çok olduğu fark edilmiştir. Dayanıklılık antrenmanının sıçan iskelet kaslarında SOD izoformlarının aktiviteleri üzerine etkileri incelenmiş, antrenmanın arka bacak iskelet kaslarında hem MnSOD hem de CuZnSOD aktivitelerini arttırdığı görülmüştür (Koesterer ve ark 2002). Oksijen kullanımının düşük olduğu durumlarda süperoksit radikali ve onun türevleri antioksidan savunma ile etkisizleştirilir. Ancak oksijen tüketim hızının önemli derecede arttığı egzersiz durumunda bu savunma mekanizmaları, serbest radikal oluşumuna

ayak uyduramayabilir, bu da hücre hasarı ile sonuçlanabilir (Cheeseman ve Slater 1994). Emre ve ark (2004)'na göre egzersizde GSH sisteminin endojen olarak aktive edilmesi serbest radikal oluşumunu engelleyici adaptatif bir mekanizmadır. Sıçanlarda egzersizin serbest radikaller tarafından oluşturulan hasarı engellediği ileri sürülmüştür (Ji ve ark 1992). Aerobik egzersizin serbest radikal üretimini orta derecede azalttığı (Kim 2005), benzer şekilde egzersize cevap olarak antioksidan aktivitenin uyarıldığı (Tessier ve ark. 1995) bildirilmiştir. Veera Reddy ve ark. (1992)'nın egzersize cevap olarak GSH değerlerinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, GSH ve SOD seviyeleri kan, kas ve karaciğer dokularında ne kurkumin takviyesinden ne de egzersizden etkilenmediği saptandı.

Sonuç olarak; kurkumin kas hasarını önlemektedir. Ancak kurkumin kas hasarı üzerinde bu etkisini gösterirken antioksidan sistemde fazla bir değişikliğin meydana gelmemesi, bize kurkuminin kas hasarını önleyici etkisini antioksidan sistemden başka sistemler aracılığı ile oluşturduğunu göstermektedir.

6.ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kurkumin Takviyesinin Sıçanlarda Ekzantrik Egzersizle Oluşan Kas Hasarı Üzerine Etkisi

İsmail BOZ

Fizyoloji (TIP) Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2013

Bu tezin amacı sıçanlarda ekzantrik egzersizle oluşan kas hasarı üzerine kurkuminin etkilerini incelemekti. Çalışmada Wistar soyundan 30 erkek sıçan kullanıldı ve sıçanlar rastgele dört gruba ayrıldı.

Kontrol Grubu (n: 6): Bu grupta bulunan sıçanlara 20 gün boyunca taşıyıcı madde (mısır yağı) oral olarak verildi ve 21. gün egzersiz yaptırılmadan kan ve doku örnekleri alındı.

Egzersiz Grubu (n: 8): Bu grupta bulunan sıçanlara 20 gün boyunca taşıyıcı madde (mısır yağı) oral olarak verildi ve 21. gün ekzantrik egzersiz protokolü uygulandıktan hemen sonra kan ve doku örnekleri alındı.

Kurkumin Grubu (n: 8): Bu grupta bulunan sıçanlara 20 gün boyunca kurkumin, taşıyıcı madde (mısır yağı) içerisinde çözülerek 200 mg/kg dozunda oral gavaj yoluyla verildi ve 21. gün egzersiz yaptırılmadan kan ve doku örnekleri alındı.

Kurkumin + Egzersiz Grubu (n: 8): Bu grupta bulunan sıçanlara 20 gün boyunca kurkumin, taşıyıcı madde (mısır yağı) içerisinde çözülerek 200 mg/kg dozunda oral gavaj yoluyla verildi ve 21. gün ekzantrik egzersiz protokolü uygulandıktan hemen sonra kan ve doku örnekleri alındı.

Kas, karaciğer ve kan örneklerinde GSH, SOD ve MDA analizleri yapıldı. Kreatin kinaz (CK) aktivitesi ve Miyoglobin seviyelerine kan örneklerinde bakıldı.

CK aktivitesi kontrol+egzersiz grubunda kontrol grubuna göre yüksekti. Kurkumin grubunda ise kontrol+egzersiz grubuna göre düşüktü. Kurkumin+egzersiz grubunda ise hem kontrol hem de kurkumin gruplarından yüksekti. Bununla birlikte istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen kurkumin+egzersiz grubunda kontrol+egzersiz grubuna göre düşüktü. Serum miyoglobin seviyeleri kontrol+egzersiz grubunda

kontrol grubuna göre yüksekti. Bununla birlikte diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu. Kan ve kas dokusunda MDA seviyeleri ne kurkumin takviyesinden ne de egzersizden etkilenmemiştir. Bununla birlikte karaciğer dokusunda MDA seviyeleri kurkumin+egzersiz grubunda kontrol grubuna göre azalmıştı. SOD ve GSH seviyeleri kan, kas ve karaciğer dokularında ne kurkumin takviyesinden ne de egzersizden etkilenmedi.

Bu çalışmada elde ettiğimiz bilgiler Kurkumin kas hasarı üzerine koruyucu etkisinin ve bu etkisini antioksidan sistemden bağımsız sistemler aracılığı ile gösterebildiğini ileri sürmektedir.

Anahtar kelimeler: Kurkumin; Egzersiz; Kas hasarı.

7. SUMMARY

Effects of curcumin supplementation on eccentric exercise induced muscle damage in rats

The aim of this thesis was to inverstiyate, the effects of curcumin on eccentric exercise induced muscle damage in rats. Thirty Wistar male rats were used in the study and they were randomly assigned to four groups.

Control Group (n: 6): Maze oil as a carrier was given orally for 20 days and in 21st days, blood and tissue samples were taken.

Exercise Group (n: 8): Maze oil as a carrier was given orally for 20 days and in 21st fay, blood and tissue samples were taken immediately after eccentric exercise protocol.

Curcumin Group (n: 8): Curcumin was orally for 20 days via oral gavage in dosage of 200 mg/kg, dissolving in maze oil and in 21st day, the of blood and tissue samples were taken.

Curcumin + Exercise Group (n: 8): Curcumin was given orally for 20 days via oral gavage in dosage of 200 mg/kg, dissolving in maze oil and in 21st day, blood and tissue samples were taken immediately after eccentric exercise protocol.

In muscle, liver and blood samples, GSH, SOD and MDA the analyses were perfomred. In blood samples, creatine kinase (CK) activity and myoglobin levels were detected. CK activity was higher in the control+exercise groups compared to the control group ($p< 0.05$), while in curcumin group, it was lower compared to the control+exercise group ($p< 0.05$). In curcumin+exercise group, it was higher than both those in control and curcumin groups. However, even though it is statistically insignificant, in the curcumin+exercise group, it was lower compared to the control- exercise group. Serum myoglobin levels were higher in the control+exercise group compared to control group ($p< 0.05$). However, between the other groups, there was no statistically significant difference ($p> 0,05$). In blood and muscle samples, MDA levels were neither affected from the supplementation of curcumin nor exercise ($p> 0.05$). However, in the liver tissue, MDA levels decreased in the curcumin+exercise group, compared to control group ($p<0.05$). In blood, muscle and liver tissues SOD activity and GSH levels, were neither affected from curcumin supplementation nor exercise ($p> 0.05$). The data obtained from this study demonstrated the protective effect of curcumin on muscle damage and put forward that this effect was able to show through independent systems from antioxidant systems.

Key worlds: Curcumin; Exercise; Muscle damage.

9. KAYNAKLAR

1.Akgün N. Egzersiz ve Spor Fizyolojisi I. Beşinci baskı. Ege Üniversitesi basımevi, İzmir.1994.

2. Akgün, N. Egzersiz Fizyolojisi. Birinci baskı. Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir.1989.

3. Akkus İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya, Mimoza Yayınları; 1995.

4. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wile RL. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and ısometric exercise. Med Sci. Sports Exerc, 2000; 32: 15,76-84.

5. Alibeyoğlu A. Düzenli spo yapmayan genç erkeklerde akut dayanıklılık egzersizi sonrası hematolojik ve serum enzim değerierindeki değişikliklerin incelenmesi. 2008; Kafkas Üniv, (Yüksek lisans tezi).

6. Ammon, HP, Wahl MA. Pharmacology of Curcuma longa. Planta Medica 57 (1), 1991;1–7.

7. Armstrong RB, Ogilvie RW, Schwane JA. Eccentric exercise-induced injury to rat skelatel muscle. J.Appl. Physiol.1983; 54: 80-93.

8. Ascensao A, Rebelo A, Oliveira E, Marques F, Pereira L, Magalha˜es J. Biochemical impact of a soccer match – analysis of oxidative stress and muscle damage markers throughout recovery. Clin Biochem 2008;41: 8, 41–51.

9. Bijsterbosch MK, Duursma AM, Smit MJ, Bos OJ, Bouma JM, Gruber M. Several dehydrogenases and kinases compete for endocytosis from plasma by rat tissues. Biochem J 1985; 229:40917.

10. Brayne CE, Dow L, Calloway SP, Thompson RJ. Blood creatine kinase isoenzyme BB in boxers. Lancet 1982;11: 130, 8– 9.

11. Brenner IK, Natale VM, Vasiliou P, Moldoveanu AI, Shek PN, Shephard RJ. Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1999; 80: 452-460.

12. Brown S, Day S, Donnelly A. Indirect evidence of human skeletal muscle damage and collagen breakdown after eccentric muscle actions. J Sports Sci. 1999; 17: 397- 402.

13. Cheeseman KH, Slater TF. An Introductıon to free radıcal biochemıstry. Brıt Med Bull, 1993; 49: 481-493.

14. Child RB, VVilkinson DM, Fallovvfield JL, Donnelly AE. Eleveted serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in respons to a simulated halfmarathon. Rua Med. Sci. Sports exerc, 1998; 30: 1603-1607.

15. Clarkson PM, Byrnes WC, Mccormick KM, Turcotte. LP, White JS. Muscle Soreness And Serum Creatine Kinase Activity Following İsometric, Eccentric, And Concentric Exercise. Int J. Sports Med; 7(3), 1986; pp. 152-51.

16. Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise- induced muscle damage in humans. Am J Phys Med Rehabil. 2002; 81, 52-69.

17. Clarkson PM. Antioxidants and physical performance. Crit Rev Food Sci Nutr 1995; 35 (1–2): 1, 31–41.

18. Cockburn E, Hayes PR, French DN, Stevenson E. St Clair Gibson A. Acute milk-based protein-CHO supplementation attenuates exercise-induced muscle damage. Appl Physiol Nutr Metab 2008;33: 7, 75–83.

19. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. Eur J Pharmacol 2001;426(1-2):1-10.

20. Dahl HA, Ronald L. How unequivocal is the muscle fibre type concept? Anat Emryol 1991; 184: 269-273.

21. Davis JM, Murphy EA, Carmichael MD, Zielinski MR, Groschwitz CM, Brown AS, Gangemi JD, Ghaffar A, Mayer EP. Curcumin effects on inflammation and performance recovery following eccentric exercise-induced muscle damage Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2007:292(6):68-73.

23. Emre MH, Düzova H, Sancak B, Polat A, Erdoğan H, Yoloğlu S. Serum selenium response to maximal anaerobic exercise among sportsmen trained at various levels. J. Trace Elem. Exp. Med, 2004; 17: 93-100.

24. Epstein Y. Clinical significance of serum creatine phosphokinase activity levels following exercise. Isr J Med Sci, 1995; 31, 698–699.

25. Ergen E, Demirel H, Güner R, Turnagöl H, Başoğlu S, Zergeroğlu AM, Ülkar B. Egzersiz Fizyolojisi, Birinci basım, Nobel Yayın Dağıtım. Ankara. 2002.

26. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress relationship with exercise and training. Sports Med 2006; 36 (4): 327–58.

27. Freeman BA, Crapo JD. Free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982;47: 412-426.

28. Gelfi C, De Palma S, Ripamonti M, Eberini I, Wait R, Bajracharya A. New aspects of altitude adaptation in Tibetans: a proteomic approach. FASEB J 2004;18: 61, 2–4.

29. Gillum RF, Formann SP, Prineas RJ. International Diagnostic Criteria For Acute Myocardial İnfarction And Stroke. Am Heart J, 1984; 108, pp. 150–158.

30. Gunduz F, Senturk UK. The effect of reactive oxidant generation in acute exerciseinduced proteinuria in trained and untrained rats. Eur J Appl Physiol 2003; 90(5- 6):526-32.

31. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. Onuncu edisyon. Nobel Kitapevleri, İstanbul.2001; 68, 69 – 73.

32. Gutteridge JMC, Halliwell B. Oxidative stress, antioxidants in nutrition, health and disease. NewYork: NY Pres;1994.

33. Gül M, Kutay FZ, Temocin S, Hanninen O. Cellular and clinical implications of glutathione. Indian J Exp Biol 2006; 38: 625-634.

34. Günay M, Cicioğlu İ. Spor Fizyolojisi ve Performans Ölçümü, Gazi Kitapevi, Ankara,2001; 3- 15.

35. Günay M, Kemal T, Cicioğlu İ. Spor Fizyolojisi ve Performans Ölçümü. Birinci baskı, Baran Ofset, Ankara.2005.

36. Haliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free Radicals, Antioxidants and Human Disease: Where are we now? J Lab Clin Med, 1992; 119: 598-620.

37. Hazar S. Farklı türdeki kuvvet antrenmanlarının iskelet ve kalp kası enzim aktivitelerine akut etkisi. 2004; Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı. (Doktora Tezi).

38. Howatson G, Van Someron KA. Ice Massage. Effects On Exercise-Induced Muscle Damage. J Sports Med Phys Fitness. 2003, 43(4), pp. 500-5.

39. Hilbert J E, Sforzo GA, Swensen T. The effects of massage on delayed onset muscle soreness. British Journal Of Sports Medicine, London, 2003;37(1), 72 - 4.

40. Hornemann T, Stolz M, Wallimann T. Isoenzyme-specific interactionof muscle-type creatine kinase with the sarcomeric Mline is mediated by NH2 – terminal lysine charge-clamps. J Cell Biol 2000;149: 12, 25–34.

41. Hu Y, Asano K, Kim S, Nagata H. Relationship between serum testosterone and activities of testicular enzymes after continuous and intermittent training in male rats. Int J Sports Med 2004; 25 (2): 99–102.

42. Huang HC, Jan TR, Yeh SF. Inhibitory effect of curcumin, an antiinflammatory agent, on vascular smooth muscle cell proliferation. European Journal of Pharmacology, 1992; 221 (2–3), 381–384.

43. Hyatt JP, Clarkson PM. Creatine kinase release and clearance using MM variants following repeated bouts of eccentric exercise. Med Sci Sport Exer 1998;30: 10, 59–65.

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

45. Jayaprakasha GK. Jagan L,Sakariah KK. Chemistry and biological activities of C. longa. Trends in Food Science & Technology, 2005; 16 533–548.

46. Jenkinson SG, Lawrence RA, Tucker WY. Glutathioneperoxidase, superoxidedismutase, andglutathione S-transferaseactivities in humanlung. Am RevRespirDis. 1984 Aug;130(2):302-4. PubMed PMID: 6465684.

47. Jenkinson A. Muscle Soreness and Damage. Eur J Appl Physiol SR 2002;25,3-5.

48. Ji LL, Fu R. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. Med Sci Sport Exerc 1993; 25 (2):25–31.

49. Ji LL, Fu R. Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. J Appl Physiol. 1992; 72: 549-554.

50. Johnson UY. How the princleps of exercise physiology influence pelvic flor muscle training. Jwoon 2001;28: 150-155.

51. Jones DA, Newham DJ, Round JM, Tolfre SE. Experimental human muscle damage: Morphological change in relation to other indices of damage. Journal of Applied Physiology, 1986; 375, 435-448.

52. Jurgens KD, Papadopoulos S, Peters T, Gros G. Myoglobin: just an oxygen store or also an oxygen transporter? News Physiol Sci 2000;15:2, 69–74.

53. Karamizrak SO, Ergen E, Tore IR, Akgun N. Changes in serum creatine kinase, lactate dehydrogenase and aldolase activities following supramaximal exercise in athletes. J Sports Med Phys Fitness 1994;34:141–6.

54. Khanna S, Park HA, Sen CK, Golakoti T, Sengupta K, Venkateswarlu S, Roy S. Neuroprotective and anti inflammatory properties of a novel demethylated curcuminoid. Antioxid Redox Signal. 2009 Mar;11(3):449-68.

55. Kim HT. Effect of the joint administration of selenium and vitamin E in combination with regular aerobic exercise on markers of lipid peroxidation and glutathione peroxidase in diabetic rats. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 2005; 15: 266-78.

56. Koesterer TJ, Dodd SL, Powers S. Increased antioxidant capacity does not attenuate muscle atrophy caused by unweighting. J Appl Physiol 2002; 93: 1959-1965

57. Konig D, Schumacher YO, Heinrich L, Schmid A, Berg A, Dıckhuth HH. Myocardial stres after competitiv exercise in professionel road cyclist. Med Sci Sports Exercise. 2003;35, 1678-1683.

58. Koutedakis Y, Raafat A, Sharp NC, Rosmarin MN, Beard MJ, Robbins SW. Serum enzyme activities in individuals with different levels of physical fitness. J Sports Med Phys Fitness 1993;33: 25, 2–7.

59. Kunnumakkara AB, Anand P, Aggarwal BB. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins, Cancer Lett. 269, 2008; 199–225.

60. Leaf DA. The effect of Exercise İntensity on lipid peroxidation. Med. Sci. Sports Exerc,1997; 29: 1106-1109

61. Liu JY, Lin SJ, Lin JK. Inhibitory effects of curcumin on protein kinase C activity induced by 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate in NIH 3T3 cells. Carcinogenesis, 1993; 14 (5), 857–861.

62. Lin MS, LeeYH, ChiuWT, HungKS. Curcumin provides neuroprotection after spinal cord injury, J. Surg. Res. 166, 2011; 280–289.

63. Lovlin R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN. Are indices of freeradical damage related to exercise Intensity. Eur J. Apply Physiol, 1987; 56: 313-316.

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

65. Mcbride JM, Kraemer JW. Free Radicals, Exercise, and Antioxidants. The Journal of Strength and Conditioning Research 1999; 13(2): 175–83.

66. Mena P, Maynar M, Gutierrez JM, Maynar J,Timon J, Campillo JE. Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers, adaptation to training. Int. J. Sports Med, 1991; 12: 563-566.

67. Moslen MT. Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phatogocytosis, Free Radicals in Diagnostic Medicine, Ed. D Armstrong, 1994; 1–15, Plenum Press, New York.

68. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwel VW. Harper'in Biyokimyası, 24.Baskı, Barış Kitabevi, İstanbu. 1998;24-68 l.

69. Neubauer O, Konig D, Wagner KH. Recovery after an Ironman triathlon: sustained inflammatory responses and muscular stress. Eur J Appl Physiol 2008;104:4, 17–26.

70. Newham DJ, McPhail G, Mills KR, Edwards RH. Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. J Neurol Sc. 1983; 61: 109-122.

71. Nigro G, Comi LI, Limongelli FM, Giugliano MA, Politano L, Petretta V. Prospective study of X-linked progressive muscular dystrophy in Campania. Muscle Nerve 1983;6: 253– 62.

72. Noakes TD, Kotzenberg G, McArthur PS, Dykman J. Elevated serum creatine kinase MB and creatine kinase BB-isoenzyme fractions after ultra-marathon running. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1983;52: 7, 5–9.

73. Ohba H, Takada H, Musha H, Nagashima J, Mori N, Awaya T, Omiya K, Murayama M, Effect of prolonged strenuous exercise on plasma levels of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in helty men. Am Heart J. 2001; 142, 751-758.

74. Ohishi S, Kizaki T, Ookawara T, Toshinai K, Haga S, Karasawa F, Satoh T, Nagata N, Ji LL, Ohno H. The effect of exhaustive exercise on the antioxidant enzyme system in skeletal muscle from calcium-deficient rats. Pflugers Arch 1998; 435(6):767-74.

75. Pandya U, Saini MK, Jin GF, Awasthi S, Godley BF, Awasthi YC. Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. Toxicol Lett 2000; 115: 195-204.

76. Pereira B, Costa Rosa LFB, Safi DA, Medeiros MHG, Curi R, Bechara EJH. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in muscle and lymphoid organs of sedentary and exercise-trained rats. Physiol Behav 1994; 56: 109, 5–9

77. Plotnikov EY, Chupyrkina AA, Pevzner IB, Isaev NK, Zorov DB. Myoglobin causes oxidative stress, increase of NO production and dysfunction of kidney's mitochondria. Biochim Biophys Acta 2009;1792:796–803.

78. Radak Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Ohno H, Sasvari M. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. Free Radic Biol Med 1999; 27 (1–2): 69–74.

79. Reddy AC, Lokesh BR. Studies on the inhibitory effects of curcumin and eugenol on the formation of reactive oxygen species and the oxidation of ferrous iron. Molecular and Cellular Biochemistry, 137 (1), 1994; 1–8.

80. Robertson T, Glover S. Senior Physical Education, Coghill Publishin. Australia, 1989; 48-56

81. Rose W.C. New aspects of glutathione biochemistry and transport-selective alteration of glutathione metabolism. Nutrition Reviews. 1984; 12, 397-410.

82. Roth SM, Martel GF, Ivey FM, Lemmer JT, Metter EJ, Hurley BF, Rogers MA. High-volume, heavy-resistance strength training and Muscle damage in young and older women. J Appl. Physiol. 2000;88, 1112-1118.

83. Schwane JA, Johnson SR, Vandenakker CB, Armstrong RB. Delayed-Onset Muscular Soreness And Plasma CRP And LDH Activities After Downhill Running. Med. Sci. Sports. Exerc., 1983; 15: pp. 51-56.

84. Sreejayan N, Rao MN. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. J Pharm Pharmacol. 1997;49: 105-7.

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

86. Serrao FV, Foerster B, Spada S, Morales MM, Monteiro-Pedro V, Tannu´s A. Functional changes of human quadriceps muscle injured by eccentric exercise. Braz Med Biol Res 2003;36: 78, 1–6.

87. Sevim Y. Antrenman Bilgisi. Ankara: Nobel Yayın Dagıtım; 2007.

88. Sharma OP. Antioxidant activity of curcumin and related compounds. J Med Biol Res 1976; 65, 12-13.

89. Shave RE, Dawson E, Whyte G, George K, Ball D, Collinson P, Gaze CD. The cardiospecificity of the third-generation cTnT assay after axercise induced muscle damage. Med Sci Sports Exercise. 2002; 34, 651-654.

90. Smith LL, Miles MP. Exercise induce muscle injury and inflamation. Exercise And Sport Science (William E,Garrett JR.) USA, 2000; 163-173.

91. Sokoloff AJ, Yang B, Li H. Immunohistochemical ccharacterization of slow and fat miyosin heavy chain compozition of muscle fibres in the styloglossus muscle of the human and macaque. Arch of Oral Biology 2007;10-20.

92. Speranza L, Grilli A, Patruno A, Franceschelli S, Felzani G, Pesce M. Plasmatic markers of muscular stress in isokinetic exercise. J Biol Regul Homeost Agents 2007;21: 2, 1–9.

93. Stadhouders AM, Jap PH, Winkler HP, Eppenberg HM, Wallimann T. Mitochondrial creatine kinase: a major constituent of pathological inclusions seen in mitochondrial myopathies. Proc Natl Acad Sci USA, 1994;91: 5089–93.

94. Staron SR, Hikita S. Muscular responses to exercise and training. Exercise And Sport Science (Wıllıam E, Garrett JR) USA, 2000; 163-173.

95. Staubli M, Roessler B, Kochli HP, Peheim E, Straub PW. Creatine kinase and creatine kinase MB in endurance runners and in patients with myocardial infarction. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1985;54: 40–5.

96. Stevens A. Enzyme histochemistry: Diagnostic applications and pratice of histological techiniques, New York, 1990: 401-411.

97. Suzuki K, Totsuka M, Nakaji S, Yamada M, Kudoh S, Liu Q. Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage. J Appl Physiol 1999;87: 13, 6-7.

98. Şan M. Lipidler. Türk Kardiyoloji Derneği, Çukurova Üniv. Tıp Fak. Kardiyoloji ABD, Adana.2002.

99. Tessier F, Hida H, Favier A, Marconnet P. Muscle GSH-Px activity after prolonged exercise, training, and selenium supplementation. Biol Trace Elem Res. 1995; 47: 279-85.

100. Tsivitse SK, McLoughlin TJ, Peterson JM, Mylona E, McGregor SJ, Pizza FX. Downhill running in rats: influence on neutrophils, macrophages, and MyoD+ cells in skeletal muscle. Eur J Appl Physiol 2003; 90: 633-638.

101. Unnikrishnan MK, Rao MN. Curcumin inhibits nitrogen dioxide induced oxidation of hemoglobin. Molecular and Cellular Biochemistry, 146 (1), 1995; 35– 37.

102. Veera Reddy K, Charles Kumar T, Prasad M, Reddanna P.Exercise-induced oxidant stress in the lung tissue: role of dietary supplementation of vitamin E and selenium. Biochem Int. 1992; 26: 863-71.

103. Vincent HK., Vincent KR. The effect of traning status on the serum cretine kinese Response, soreness and Muscle fonction fallowing resistance exercise. Journal Sports Med. 1997; 18(6), 431-437.

104. Warren GL, Lowe DA, Armstrong RB. Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. Sports Med;27: 43-59,

105. Wicke W, Wasicky R, Brugger PC. Histochemical and immunohistochemical study on muscle fibers in human extraocular muscle spindles. Experimental Eye Research 2007:1-10.

106. Yakan B, Özdamar S.Genel Histoloji Ders Notları (1 nd ed).Kayseri 2001;40-45, 111-113.

107. Zergeroglu AM, Ersöz G, Yavuzer S. Dayanıklılık antrenmanlarında antioksidan savunma. H.Ü. Spor Bilimleri Dergisi 1997; 8 (4): 25–31.

108. Zergeroğlu AM. Supramaksimal egzersiz ve oksidan stres. Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı,1992, (tıpta uzamnlık tezi).

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Kars'ta dünyaya geldi. İlk ve orta öğrenimini Karsta tamamladı. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Memurluğu Bölümünden 2009 yılında mezun oldu. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD'da yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.