



# **EGZERSİZDE OKSİDATİF STRES VE SİYALİK ASİT DÜZEYLERİ**

**Kadriye HEKİM**

**Haziran-2008  
DENİZLİ**

# **EGZERSİZDE OKSİDATİF STRES VE SİYALİK ASİT DÜZEYLERİ**

**Pamukkale Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Yüksek Lisans Tezi  
Biyokimya Anabilim Dalı**

**Kadriye HEKİM**

**Danışman: Prof. Dr. Simin ROTA**

**Haziran-2008  
DENİZLİ**

## YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU

Kadriye HEKİM tarafından, Prof. Dr. Simin ROTA yönetiminde hazırlanan  
"Egzersizde Oksidatif Stres ve Siyalik Asit Düzeyleri" başlıklı tez tarafımızdan okunmuş  
kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hüseyin VURAL  
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Bünyamin KAPTANOĞLU  
Jüri Üyesi

Prof. Dr. Simin ROTA  
Jüri Üyesi(Danışman)

Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .... / .... / .... tarih  
ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

  
**Doç. Dr. A. Çevik TUFAN**  
Müdür

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza :  
Öğrencinin Adı : Kadriye HEKİM

## TEŞEKKÜR

Eğitim hayatım boyunca emeği geçen bütün hocalarıma; bu çalıőmanın gerçekleşmesindeki yardımlarından dolayı **Prof. Dr. Bünyamin Kaptanoğlu'** na; çalıőmanın her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden yararlanma imkanı bulduğum danışmanım **Prof. Dr. Simin Rota'** ya, çalıőmalarım esnasında benden desteğini esirgemeyen **Dr. Feride Sert** ve diğer asistan arkadaşlarıma, değerli dostum **Emine Din'** e ve **Dicle Demirayağa,** ve çok değerli ev arkadaşlarıma, ayrıca maddi manevi her konuda daima yanımda olan büyük bir özveri ve sabırla beni bugünlere getiren sevgili aileme sonsuz teşekkür ediyorum.

**ÖZET****EGZERSİZDE OKSİDATİF STRES VE SİYALİK ASİT DÜZEYLERİ**

**HEKİM, Kadriye**  
**Yüksek Lisans Tezi, Biyokimya A.B.D.**  
**Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Simin ROTA**

**Haziran 2008, 32 sayfa**

Siyalik asitler, özellikle hücre zarında çok önemli görevleri olan glikoprotein ve glikolipitlerin oligosakkarit zincirlerinin son bölgelerine bağlı şeker zincirleridir. Organizmada çok çeşitli biyolojik işlevlere sahip olan siyalik asit, meme kanseri kolon kanseri gibi pek çok kanser türü için tümör belirteci olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kronik karaciğer hastalıkları, pnömoni, romatoit artrit gibi bazı hastalıklarda da serum siyalik asit düzeyinde yükselme olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda siyalik asit düzeylerinin egzersizle de artış gösterdiği belirtilmiştir. Düzenli olarak yapılan egzersizin canlı yaşamındaki yararları iyi bilinir, fakat bunun yanı sıra oksidan/antioksidan dengesini değiştirerek oksidatif strese neden olabildiği de bilinmektedir. Egzersizle gelişen lipit peroksidasyon ürünü malondialdehit (MDA), oksidatif stresin belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir. Bu çalışmada 20 Wistar sıçan, kontrol (n=10) ve egzersiz (n=10) grubu olarak ikiye ayrıldı. Egzersiz grubu 4 hafta boyunca haftanın 5 günü düzenli olarak 30 dk. koşu bandında koşturuldu. Bu çalışma sırasında, egzersiz grubundan 2 sıçan öldüğü için 8 sıçanla çalışmaya devam edildi. Her iki grubunda plazmalarında MDA ve total siyalik asit (TSA) düzeyleri ölçüldü. MDA tayini için Ohkawa'nın MDA'nın tiyobarbitürik asitle reaksiyonuna dayalı yöntemi, TSA tayini için Warren'in tiyobarbitürik asit yöntemi kullanıldı. Sonuçlar Mann-Whitney U testine göre değerlendirildi.

Egzersiz ve kontrol grubu MDA ve TSA seviyeleri hesaplandı. Her iki parametre de egzersiz grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Fakat egzersiz grubunda MDA ve TSA arasında anlamlı bir korelasyon bulunamadı ( $p>0,05$ ).

**Anahtar Kelimeler: Siyalik asit, oksidatif stres, malondialdehit, egzersiz**

**ABSTRACT****OXIDATIVE STRESS AND SIALIC ACID LEVELS IN EGZERCİSE**

**HEKİM, Kadriye**  
**M. Sc. Thesis in Biochemistry**  
**Supervisor: Prof. Dr. Simin ROTA**

**June 2008, 32 pages**

Sialic acids are sugar chains that can bind the terminal region of glycoprotein and glycolipids which have very important roles especially on cell membrane. Sialic acid has various biological functions in organism that, it can be used as a marker for several cancer types such as breast and colon cancer. Furthermore increased serum sialic acid level was observed in some diseases such as chronic liver disease, pneumonia and rheumatoid arthritis. Some experiments show that increased level of sialic acid was designated by physical training. It is well known that regular physical training benefits in human life however, on the side it can change the oxidant-antioxidant equilibrium and can cause oxidative stress. Lipid peroxidation product malondialdehyde (MDA) formed by physical training is a important parameter for the detection of oxidative stress. In this study, 20 Wistar rat was used; n:10 as control, n:10 as physical training group. Physical training group run regularly 30 minutes for 5 days in a week for four weeks. During this study due to 2 defunct rat we kept on with 8 rats in physical training group. Plasma MDA and total sialic acid (TSA) levels were detected for each group. We used Ohkawa's thiobarbituric acid reaction based MDA technique and Warren's thiobarbituric acid procedure for TSA measurement. Results were evaluated by Mann-Whitney U test.

Plasma MDA and TSA levels were calculated for physical training and control groups. High level was observed for each parameter in physical training group compared to the control group and the difference between two groups was statistically significant ( $p < 0,05$ ), but there were no correlation among the MDA and TSA levels in physical training group, ( $p > 0,05$ ).

**Keywords: Sialic acids, oxidative stres, malondialdehyde, exercise**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<i>Teşekkür</i> .....	i
<i>Özet</i> .....	ii
<i>Abstract</i> .....	iii
<i>İçindekiler</i> .....	iv
<i>Şekiller Dizini</i> .....	v
<i>Tablolar Dizini</i> .....	vi
<i>Grafikler dizini</i> .....	vii
<i>Simge ve Kısaltmalar</i> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR</b> .....	<b>3</b>
2.1. Siyalik Asit.....	3
2.1.1. Siyalik Asidin Yapısı.....	3
2.1.2. Siyalik Asit Metabolizması.....	4
2.1.3. Siyalik Asidin Fonksiyonları.....	6
2.2. Serbest Radikaller ve Abtioksidan Savunma.....	7
2.2.1. Serbest Radikaller.....	7
2.2.2. Oksidatif Stres.....	9
2.2.3. Lipit Peroksidasyonu.....	9
2.2.4. Malondialdehit (MDA).....	10
2.2.5. Antioksidan Savunma Sistemi.....	11
2.2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar.....	12
2.2.5.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	12
2.3. Egzersiz ve Oksidatif Stres.....	13
<b>3. MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>16</b>
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar.....	16
3.2. Deney Hayvanlarının Hazırlanışı.....	16
3.2.1. Egzersiz protokolü.....	17
3.3. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Toplanması.....	17
3.4. Siyalik Asit Tayini.....	18
3.5. Malondialdehit (MDA) Tayini.....	19
3.6. İstatistiksel Analiz.....	21
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>22</b>
4.1. Siyalik Asit Düzeyleri.....	22
4.2. MDA Düzeyleri.....	23
4.3. Regresyon Analizi.....	23
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>25</b>
<b>6. SONUÇ</b> .....	<b>29</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b> .....	<b>30</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>34</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Siyalik asidin lineer ve piranoz şeklindeki molekül yapısı.....	3
Şekil 2.2	Siyalik asit biyosentezi.....	5
Şekil 2.3	Mitokondriyal solunum zincirinde ROS üretimi.....	8
Şekil 2.4	Triplet oksijeni ardarda indirgeyen enerji transferiyle ROS'nin oluşumu...	8
Şekil 2.5	Lipit peroksidasyonunun temel reaksiyon zinciri.....	10
Şekil 2.6	Pürin nükleotitlerinin yıkım.....	14

**TABLÖLAR DİZİNİ**

Tablo 2.1	Reaktif oksijen türleri.....	<b>7</b>
Tablo 3.1	Siyalik asit tayin yöntemi.....	<b>18</b>
Tablo 3.2	MDA tayin yöntemi.....	<b>20</b>

## GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 3.1 Siyalik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	19
Grafik 3.2 MDA standardı kalibrasyon eğrisi.....	21
Grafik 4.1 Kontrol ve egzersiz grubu TSA değerleri çizgi grafiği.....	22
Grafik 4.2 Kontrol ve egzersiz grubu MDA değerleri çizgi grafiği.....	23
Grafik 4.3 MDA veTSA Değerlerinin regresyon grafiği.....	24

## SİMGE VE KISALTMALAR

$\cdot\text{OH}$	Hidroksil radikali
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen
ATP	Adenozin trifosfat
$\text{Ca}^{+2}$	Kalsiyum
CAT	Katalaz
CMP	Sitidin monofosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
FSA	Serbest siyalik asit
GlcNAc	N asetil glikozamin
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Redükte glutasyon
$\text{H}_2\text{O}_2$	Hidrojenperoksit
$\text{H}_2\text{SO}_4$	Sülfürik asit
HQ	Semikinon Radikali
LOOH	Lipit hidroperoksit
ManNAc	N asetil mannozamin
MDA	Malondialdehid
Na	Sodyum
$\text{NAD}^+$	Nikotinamidadeninükleotid
NADPH	Nikotinamidadeninükleotid fosfat
NANA	N asetil nöraminik asit
Neu5Ac	N asetil nöraminik asit
NeuAc	Nöraminik asit
$\text{NO}_2$	Azot dioksit
$\text{O}_2$	Oksijen molekülü
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Süperoksit radikali
$\text{O}_3$	Ozon
ONOOH	Peroksinitrit
PUFA	Çoklu doymamış yağ asidi
R-NH-X	N-Halojenli aminler
$\text{RO}\cdot$	Alkoksi radikali
$\text{ROO}\cdot$	Peroksil radikali
ROS	Reaktif oksijen türleri
SA	Siyalik Asit
SOD	Süperoksit dismutaz
TBAR	Tiyobarbitürik asit
TSA	Total siyalik asit
UDP	Üridin difosfat

## 1. GİRİŞ

Düzenli olarak yapılan fiziksel egzersizin yararları pek çok bilimsel araştırmada belirtilmiştir. Fiziksel egzersizin kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı bilinmektedir. Bu nedenle erken yaşlanma ve hastalık riskinin azaltılması için egzersiz tavsiye edilmektedir (Cavas 2005). Ayrıca, fiziksel egzersizin hücre içi sinyal iletimi, apoptozis, antimikrobiyal savunma, kas hasarı ve yorgunluğu, yaşlanma, Alzheimer hastalığı, bazı kanserler, ateroskleroz, miyokard enfarktüsü, ve iskemi reperfüzyon hasarı gibi hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerdeki önemi kanıtlanmış oksidan/antioksidan dengesinde değişikliklere de yol açtığı bilinmektedir (Atalay 2002).

Fiziksel aktivite sırasında vücudun metabolik hızının artmasıyla birlikte oksijen tüketimi artmakta, bununla birlikte reaktif oksijen türlerinde (ROS) artış olmaktadır (Jenkins 1988). Bu reaktif oksijen türlerinin hücre içerisinde yüksek düzeye ulaşması, protein, lipid, karbohidrat ve nükleik asit gibi hücre için son derece önemli olan makromoleküllerin bozunmasına ve metabolik bozukluğa neden olarak oksidatif stres oluşturur. Organizma serbest radikal hasarını en aza indirmek üzere hücre içi, hücre zarı ve hücre dışı sıvıları içine alan kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir (Powers 1999). Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSSG-Rd), katalaz gibi enzimler ve vitaminler, tiyoller gibi enzim olmayanlar şeklinde yapılarına göre sınıflandırılabilen antioksidanlar, serbest radikallerin lipidler, proteinler, nükleik asitler gibi hedef biyomoleküllere vereceği hasarı önleyen maddelerdir (Yazıcı 2004).

Cavas (2005) ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, judo yapan atletlerin tükürüklerinde, oksidatif stres belirteci olan antioksidan enzimlerin aktivitesinde ve serbest siyalik asit (FSA) seviyesinde artış olduğunu göstermişlerdir. Tükürükte artmış

serbest siyalik asitin hidrojen peroksit uzaklaştırılmasında önemli bir rol oynayabileceği savunulmuştur (Cavas 2005).

Siyalik asit (SA), doku ve hücrelerin çözünebilir ve çözünemez komponentlerinin yapısal bileşenleri olup, protein ve lipide bağlı oligosakkaritlerde terminal olarak bulunan dokuz karbonlu şeker nöraminik asitin asetillenmiş türevidir. Asidik yapılarından dolayı hücre yüzeyine negatif yük kazandırır ve hücre-hücre ya da hücre-matriks etkileşimlerinde önemli rol oynarlar. Spesifik hücresel tanıma bölgelerini maskeleyen yeteneğine sahiptirler ve biyolojik bilginin transferinde rolleri vardır (Güngör vd 2004). Ayrıca total siyalik asitin (TSA) malign melanom meme ve kolon kansinimleri dahil olmak üzere bir çok değişik kanser türlerinde tanı ve tedaviye yanıtın izlenmesinde diğer tümör belirteçleri ile birlikte kullanılmaktadır (Wongkhom 2003).

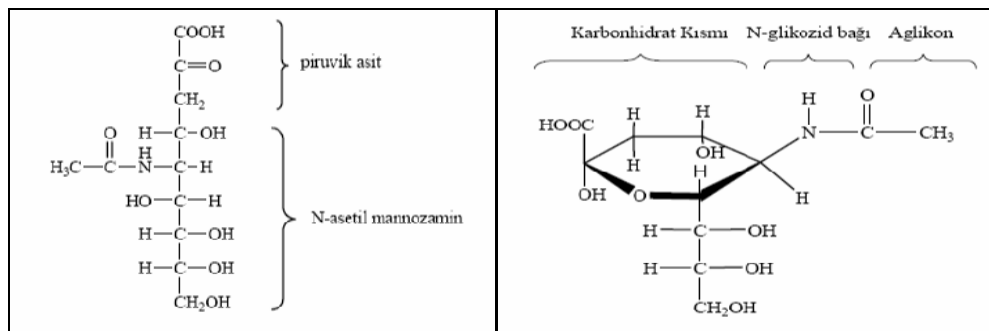
Bu çalışmada erkek Wistar sıçanlar seçilmiş rastgele kontrol ve egzersiz grupları oluşturuldu. Egzersiz yapan grupta, koşu egzersiz elektrikli motor sürücülü koşu bandında gerçekleştirildi ve her sıçan 4 hafta boyunca, haftanın 5 günü günde 30 dakika koşturuldu. Düzenli olarak egzersize başlamadan önce sıçanlar koşu bandına alıştırdı ve aşırı yorgunluğu engellemek amaçlı ilk etapta kısa süreli ve iki aşamalı olarak koşturuldular. 4 hafta sonunda sıçanların kalplerinden alınan kan örnekleri heparinize tüpe toplandı sonra santrifüj edilerek  $-20^{\circ}\text{C}$  de saklandı. Elde edilen plazmalarda malondialdehit (MDA) ve TSA seviyeleri ölçülmüş, oksidatif strese bağlı MDA artışıyla total siyalik asit seviyesindeki değişim arasında bir korelasyon olup olmadığı Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.

## 2. GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR

### 2.1. Siyalik Asit

#### 2.1.1. Siyalik Asidin Yapısı

Siyalik asit (SA), nöraminik asitin N- ve O- açıl türevleri olup hem glikoproteinlerin hem de gangliozidlerin yapı taşlarıdır. Nöraminik asit, mannozamin ve pirüvattan türeyen dokuz karbonlu bir şekerdir. (Murray vd 1996). Siyalik asit, glikoprotein ve glikolipidlerin oligosakkarid zincirlerinin indirgenmemiş ucundaki terminal karbonhidrat kalıntısıdır. İnsan dokularında şu ana kadar bilinen en önemli formu ise N-asetilnöraminik asit (NANA) dir. Diğer siyalik asitler pek çok farklı komponentler içermektedirler (Dadük 2006) .



**Şekil 2.1** Siyalik asidin lineer ve piranoz şeklindeki molekül yapısı (Champe vd 1997)

Siyalik asidin 5. pozisyonunda sahip olduğu amino grubu ve ona fizyolojik koşullarda negatif özellik sağlayan ve kuvvetli bir organik asit olarak tanımlanan 1.

pozisyonundaki karboksil grubu SA'e özel bir yapısal özellik kazandırır (Schauer and Traving 1998).

Karbonhidratlar, karbonhidrat olmayan diğer yapılar ile glikozid bağı ile birleşerek kompleks karbonhidratları oluştururlar. Karbonhidrat olmayan kısma aglikon, tüm yapıya ise glikozid adı verilmektedir. Aglikon ile nöraminik asit,  $\alpha(2\rightarrow6)$  bağında N-glikozid bağı ile bağlanarak N-asetilnöraminik asiti oluşturur (Champe vd 1997).

### 2.1.2. Sialik Asit Metabolizması

N-asetilnöraminik asit ve N-glikolilnöraminik asit, oligosakkaritlerin uçlarına bağlanan SA'in tipik örnekleridirler. Bunlar çok önemli bileşiklerdir, çünkü oligosakkaritlerin sialasyon/desialasyonu, fonksiyonlarında önemli değişikliklere neden olur. Ayrıca SA'in hidroksil gruplarının asetilasyon, sülfasyon, metilasyonları ve C-5 de asetamid grubunun N-asetilasyonu gibi kısmi değişiklikleri, sialoglikokonjugatların fiziksel fonksiyonlarını kontrol edebilir (Ando, Tahayuki vd 2001).

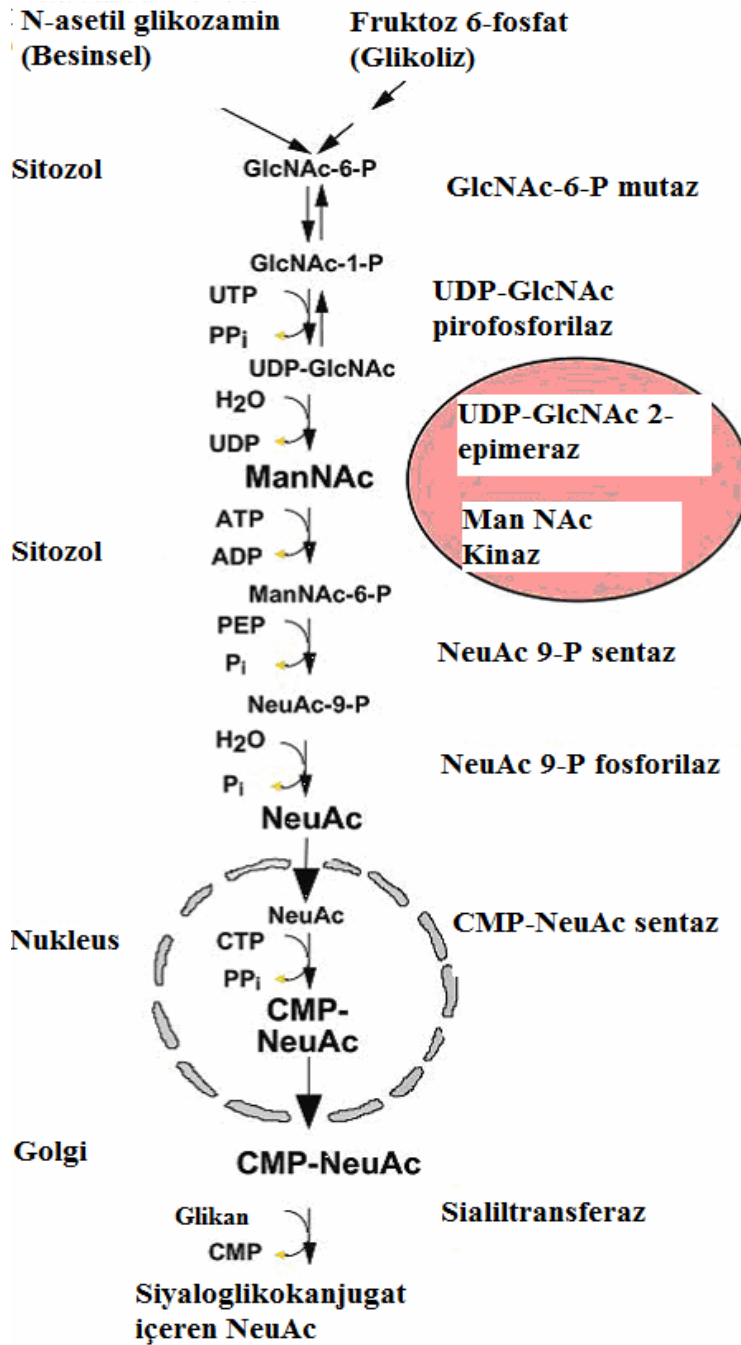
Sialik asidin biyosentezi, N-asetil-D mannozamin 6-fosfat ile fosfoenolpirüvatı reaksiyona sokarak 2-keto şeker asidi oluşturan bir aldolaz tarafından katalizlenir (Montgomery vd 2000). Sialik asidin biyosentezi Şekil 2.2 de şematik olarak gösterildi.

Sialik asitlerin sentezi sitozolde meydana gelir. Glikozamin-6-P üç basamaklı bir enzimatik reaksiyon sonucu UDP-N-asetil glikozamine çevrilir (Altıntaş 2006). Sialik asit biyosentezi UDP-N-asetilglikozaminin epimerizasyonu ile devam eder. Oluşan N-asetilmannozamin, N-asetilmannozamin kinaz enzimi ile N-asetilmannozamin-6-fosfata çevrilir. Bu enzimatik reaksiyon basamaklarını katalizleyen UDP-N-asetilglikozamin epimeraz ve N-asetilmannozamin kinaz enzimlerine insanlarda ve kemirgenlerde rastlanmış ve karakterize edilmiştir. N-asetilmannozamin-6-fosfat, aldol kondensasyonu ile fosfoenol piruvat ile birleşir ve N-asetilnöraminik asit-9-fosfatı oluşturur. Bu üründen fosfatın ayrılmasıyla N-asetilnöraminik asit meydana gelir (Schwarzkopf vd 2002).

Sialik asidin karbon ve nitrojenleri N-asetil mannozamin ve fosfoenolpirüvattan gelir. Sialik asit bir oligosakkaride eklenmeden önce sitozin trifosfat (CTP) ile reaksiyona girerek aktif formuna geçmelidir. N-asetil nörominat-CMP pirofosforilaz



enzimi CTP den pirofosfatı uzaklaştırır ve kalan sitozin monofosfatı (CMP) SA' e ekler. Glikoprotein sentezinde, CMP-SA kalıntılarının bir oligosakkarit zincirine eklenmesi golgide gerçekleşir. Bu eklenme olayından önce CMP-SA kompleksindeki SA kalıntıları sialo-glikoproteinlere aktarılır ve bu işlemi sialiltransferaz enzimi katalizler (Champe vd 1997).



Şekil 2.2 Siyalik asit biyosentezi (Schwarzcopf vd. 2002)

### 2.1.3. Sialik Asidin Fonksiyonları

En çok hücre zarlarında bulunan SA, glikoprotein ve glikolipidlerin terminal karbohidrat komponentini oluşturur. Fizyolojik pH da negatif yük taşıyan molekül pozitif yüklü partiküllerin bağlanmasını sağladığı gibi hücre yüzeyinde itici güç oluşturarak agregasyonu da önler. Yüzey reseptörlerinin yapısında, glikoprotein ve glikolipidlerde antijenik bölge olarak yer alan SA'in önemli bir diğer fonksiyonu biyolojik maskeleymedir (Uslu 2002). Sialik asit antijenik bir belirteç olarak tanımlanabilir. Kan grubu bileşikleriyle hormon, sitokin gibi endojenlerin reseptörleri için zorunlu bir bileşiktir. Ek olarak virüsler, toksinler, bakteri ve protozoa gibi çoğu patojenik ajanlar SA içeren reseptörler yolu ile konakçı hücreye bağlanırlar (Schauer vd 1998).

Zarlardan geçişte de katkıda bulunurlar. Glomerul bazal zarının geçirgenliğini kontrol eder ve kan glikoproteinlerinin stabilizasyonunu ve fonksiyonlarını etkiler (Pönniö vd 1999).

Sialik asitin büyük kısmı akut inflamatuvar reaksiyonlarda artan akut faz proteinleri olarak bilinen proteinlere bağlıdır ve akut faz reaktanı olarak görev almaktadır. Plazmada; oromukoid, alfa1-antitripsin, haptoglobulin, seruloplazmin, fibrinojen, komplemanlar ve transferrine bağlı olarak bulunmaktadır (Dadük 2006).

Serum SA'i ; kolon, meme, yumurtalık, prostat, bronş kanseri gibi malin melanom kanser tipleri için bir numaralı tümör belirteci olarak kullanılır (Crook vd 1997). Yeni yapılan çalışmalarda insan ve hayvanlardaki SA konsantrasyonunun, patolojinin temelini oluşturan, doku zararı, doku çoğalması, polimerleşmesi ve inflamasyon gibi hastalıklar için önemi de belirtilmiştir (Karapehlivan vd 2007).

Ayrıca kronik karaciğer hastalıkları, pnömoni, romatoid artrit, Behçet hastaları, chrons hastalarında ve kronik glomerulonefrit hastalarında serum SA'de yükselme olduğu görülmüştür. Serum SA'in temel mekanizması bilinmemekle birlikte miyokart enfarktus hastalarında arttığıda gözlenmiştir ve kardiyovasküler risk faktörü olarak görülür (Crook vd 1997).

## 2.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma

### 2.2.1. Serbest Radikaller

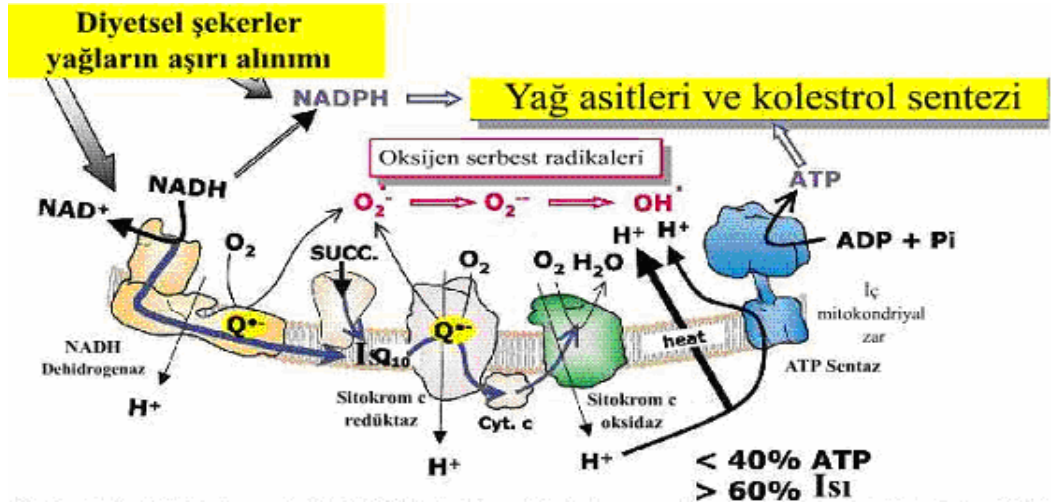
Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler (Halifeoğlu vd 2005).

Oksidatif stresin prooksidan tarafında yer alan reaktif oksijen türleri (ROS) fizyolojik olan ve olmayan birçok süreçte oluşmakta ve oksijenin hem süperoksit ( $O_2^{\cdot}$ ), hidroksi ( $HO^{\cdot}$ ), hidroperoksi ( $HO_2^{\cdot}$ ), peroksi ( $ROO^{\cdot}$ ), alkoksi ( $RO^{\cdot}$ ) gibi radikal türevlerini hem de singlet oksijen ( $^1O_2$ ), ozon ( $O_3$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hipoklorik asit ( $HOCl$ ), nitrik oksit ( $NO^{\cdot}$ ) ve peroksinitrit ( $ONOO^{\cdot}$ ) gibi radikal olmayan türevlerini kapsamaktadır (Yazıcı 2004).

**Tablo 2.1** Reaktif Oksijen Türler

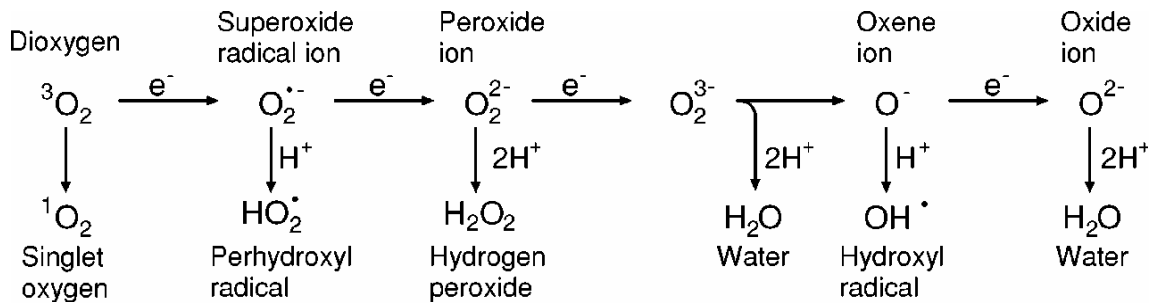
Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksit radikal ( $O_2^{\cdot}$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
Hidroksil radikal ( $OH^{\cdot}$ )	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Peroksil radikal ( $ROO^{\cdot}$ )	Hipohaloz asit (HOX)
Alkoksil radikal ( $RO^{\cdot}$ )	N-Halojenli aminler (R-NH-X)
Semikinon radikal (HQ)	Singlet Oksijen ( $^1O_2$ )
Hemoproteine bağlı serbest radikaller	Ozon ( $O_3$ )
	Azotdioksit ( $NO_2$ )

ROS'nin tamamı zar lipitleri, nükleik asitler, proteinler, enzimler ve diğer küçük moleküllerle reaksiyona girmeye yatkındırlar bu da hücrel hasara neden olur (Mark 1998).



**Şekil 2.3** Mitokondriyal solunum zincirinde ROS üretimi

Süperoksit ve hidroksil serbest radikalleri, hücrelerde mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum zarında peroksidasyona başlar. Bu hücrelerin  $Ca^{+2}$  geçirgenliğini artırır. Kalsiyum iyonunun hücresel konsantrasyonunun artışı mitokondri için zararlıdır. Amino asitler okside olur ve indirgenirler. DNA'nın okside olması sonucu, dizi kırıkları ve diğer DNA hasarları oluşur. Serbest radikal reaksiyonları, tek elektron transfer reaksiyonlarıdır (şekil 2.4) ve hücre bileşenlerine zarar verirler. ROS hücreler için öldürücü olabilir (Miles 2003).



**Şekil 2.4** Triplet oksijeni ardarda indirgeyen enerji transferiyle farklı ROS'nin oluşumu (Apel and Hirt 2004)

Hücrelerde çoğunlukla oksidanların oluşma yolları şunlardır;

- Normal aerobik metabolizma sonucu oluşurlar; Hücrelerde mitokondriyal elektron transport sisteminde tüketilmesiyle, oksijenin yaklaşık %90'undan faydalanılır

- Hücrede antijenlerin yok edilmesi, virüs ve bakterilerin öldürülme mekanizmasıyla fagositlerde oksidatif patlama olması
- Ksenobiyotik mekanizması; detoksifikasyon ve toksik bileşikler (Mark 1998).

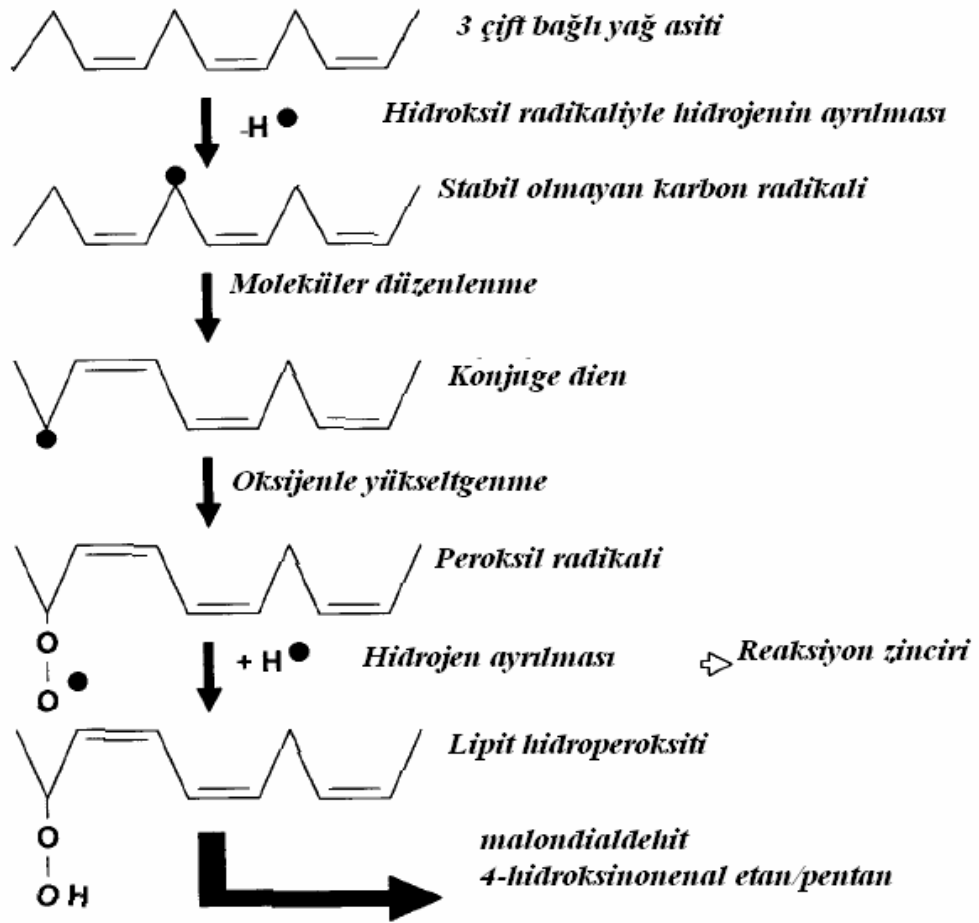
### 2.2.2. Oksidatif Stres

Organizmaya ani ve aşırı miktarda oksijen girişinin artması; epinefrin ve diğer katekolaminlerin artışı, laktik asit, laktat dehidrogenaz, kreatinin fosfokinaz gibi litik enzim aktivitelerinin yükselmesi; egzersiz, gebelik, yaşlılık gibi fizyolojik haller; kimyasal çevre kirliliğinin yoğun olduğu ortamlarda uzun süre yaşam, yoğun stres, sigara ve alkol kullanımı, diyetle doymamış ve kolay peroksillenebilen yağların fazla miktarda bulunması, antioksidan savunma sistemi yetmezlikleri veya savunma duvarının aşılması gibi durumlarda hassas olan oksidan-antioksidan denge, oksidanlar lehine bozulabilirki, bu da oksidatif stres oluşumuna neden olur. Bu durum serbest radikallerin oluşumunun artışında ya da antioksidan aktivitesinin yetersizliğinden ileri gelebilir (Bilazer 2006).

### 2.2.3. Lipit Peroksidasyonu

Hücresel makromoleküller, özellikle lipitler, proteinler ve DNA oksidasyonun temel hedefleridir. Oksidanlar, çoklu doymamış yağ asitlerinden bir allilik protonu ayırarak lipit peroksidasyonunu başlatabilirler (Jens 2007).

Lipit peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitlerinin çift bağlarına serbest radikallerin saldırmasıyla başlar. Metilen grubundan bir hidrojen atomunun çıkarılması başlangıç hızını belirleyen anahtar bir adımdır. Moleküllerin yeniden düzenlenmesiyle kararlı olmayan karbon radikali daha kararlı bir form olan konjuge diene dönüşür. Bu konjuge dien çok hızlı bir şekilde moleküler oksijenle reaksiyona girerek önemli bir ara form olan peroksil radikalini oluşturur. Bu lipit peroksil radikalleride diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşmasını sağlamakta, kendileride açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlere dönüşmektedir. Lipit hidroperoksitler de MDA ve 4-hidroksinonenal gibi kısa zincirli aldehitlere parçalanırlar (Şekil 2.5) (Young and McEneny 2001).



Şekil 2.5 Lipit peroksidasyonunun temel reaksiyon zinciri

#### 2.2.4. Malondialdehit (MDA)

Reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin teşvik ettiği lipit peroksidasyonunun neden olduğu doku hasarı, çeşitli hastalıkların patogenezinde rol alır. Lipit peroksidasyonu dolaylı olarak ikincil bir ürün olan MDA'nın ölçülmesiyle tayin edilir (Tüközkan vd 2006). Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü MDA'dır. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA meydana gelir. Memelilerde bu yağ asitleri en çok araşidonik asit ve dokosaheksanoik asittir. Oleik asidin ve linoleik asidin oksidasyonlarından ise daha az MDA oluşur (Şinoforoğlu 2007).

Bazı dokularda MDA enzimatik reaksiyonlar sonucu da oluşabilir. Oluşan MDA, hücre zarlarından iyon geçişini etkileyip, zardaki bileşiklerin çapraz bağlar ile

bağlanmasına yol açarak, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Jackson 1987).

Serbest radikallerin direkt ölçüm yöntemlerinin zorluğu nedeniyle serbest radikal aracılı doku hasarının göstergesi olarak daha çok oksidatif hasar sonucu oluşan ürünlerin ölçülmesi yoluna gidilmektedir. Bu amaçla lipid peroksidasyonunun yıkım ürünlerinden biri olan MDA, oksidatif hasarın *invivo* göstergesi olarak en sık ölçülen parametredir (Aktaş vd 2004).

### 2.2.5. Antioksidan Savunma Sistemi

İnsan vücudunda organ sistemleri ve hücrelerde üretilen ROS'a karşı oldukça karmaşık ve çok yönlü bir antioksidan savunma sistemi bulunmaktadır. Bu sistem ekzojen ve endojen kaynaklı çeşitli bileşikler içerir ki bunlar birlikte etkileşim göstererek serbest radikalleri nötralize ederler.

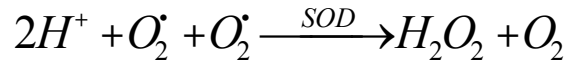
Bu bileşikler;

- Askorbik asit (C vitamini), tokoferoller ve tokotrienoller (E vitamini), karotenoidler gibi besinle tüketilen antioksidanlar ve glutatyon, lipoik asit gibi diğer düşük moleküler ağırlıklı bileşikler,
- Serbest radikal reaksiyonlarını durduran, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz gibi antioksidan enzimler,
- Oksidatif reaksiyonları katalizleyen serbest demir iyonu ve bakır iyonlarını tutan, ferritin, laktoferrin, albümin ve serüloplazmin gibi metal bağlı proteinler.
- Bitkisel yiyeceklerde bulunan çok çeşitli diğer antioksidanlar (quercetin, licopen vs) (Mark 1998).

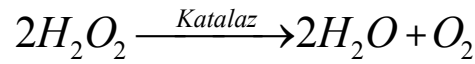
Antioksidan savunma sistemi, normal metabolizmanın işleyişi sırasında koruyucu rolünü gerçekleştirir. Fakat asıl etkisini hastalık veya organizmada herhangi bir sebeple oluşan serbest radikal oluşumu durumunda artırmakta ve bu durumu etkisizleştirmeye çalışmaktadır. Vücutta serbest radikallerin oluşumu ve uzaklaştırılması sırasındaki denge bu antioksidan savunma sistemi ile sürdürülmektedir. Eğer durum radikal oluşumu tarafına bozulursa vücut birçok hastalıkla karşı karşıya kalabilir (Karataş vd 2006).

### 2.2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar

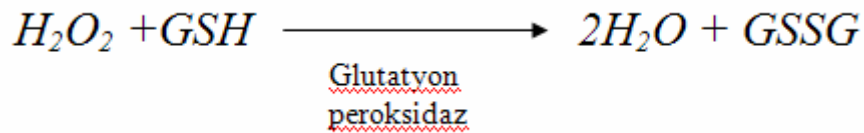
Süperoksit dimutaz (EC 1.15.1.1.); Süperoksit anyonu, enzimatik oksidasyon ve çoğunlukla kendiliğinden üretilir. Süperoksit dismutaz enzimide bu süperoksit anyonunun kendiliğinden bozulmasına göre  $10^9$  daha hızlı bozunmasını sağlar (Nissen and Kreysel 1983).



Katalaz (EC 1.11.1.6); bitki, hayvan ve aerobik bakterilerde bulunan ve hidrojen peroksiti ( $H_2O_2$ ) su ve moleküler oksijene yıkan enzimidir (Mates 1999).



Glutatyon peroksidaz (EC 1.11.1.19); selenyum içeren bir peroksidazdır ve memeli hücrelerinde oksidatif hasara karşı üretilir. Glutatyonu (GSH) kullanarak hidrojen peroksitin indirgenmesini sağlar (Mates 1999).



Glutatyon S-Transferaz (EC 2.5.1.18); Selenyuma bağlı olmayan glutatyon peroksidaz olarak adlandırılır. Membran lipit peroksidasyonunu yalnızca fosfolipaz A2' nin varlığında inhibe eder. Öncelikle araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipit peroksitlere karşı Se bağımsız GSH peroksidaz gibi aktive göstererek antioksidan etki gösterir (Mannervik 1985).

### 2.2.5.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

ROS bileşiklerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemlerini kullanırlar. Antioksidan bileşenlerin



bazıları hücre tarafından sentez edilirken, bazıları da diyetle alınmaktadır (Ünalacak vd 2005). İnsan sağlığı bakımından antioksidan fonksiyonları ile ön plana çıkan maddeler E ve C vitaminleri, karotenoidler ve fenolik maddelerdir (Tosun ve Karadeniz 2005). Yağda eriyen vitaminlerden olan  $\alpha$ -tokoferol, biyolojik sistemlerde önemli bir antioksidandır. Biyolojik membranların lipid tabakaları arasında bulunur ve bu bölgede yapısal rol oynar.  $\alpha$ -tokoferol, otooksidasyonun başlatıcısı olan peroksit ve hidroperoksit radikallerini inhibe eder. Yeşil sebze ve meyvelerde bol miktarda bulunan ve vitamin A'nın öncül maddesi olan karoten de  $\alpha$ -tokoferol gibi antioksidan özelliğe sahip bir bileşiktir (Ünalacak vd 2005).

GSH hücrede en çok bulunan kısa zincirli peptid olup hücrenin protein olmayan tiyol kaynağıdır (Meister and Anderson 1983). En önemli görevi, enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır. Tiyol grubuna sahip birçok enzim düşük hızda fakat okside olarak ya da oksijenin direkt etkisi ile hızla aktivitelerini yitirirler. İşte GSH kendisi okside olup tiyol gruplarını tekrar indirgeyerek bunların aktivasyonunu sağlar. Özellikle  $H_2O_2$ 'nin yok edilmesinde GSH'ın oksitlenebilirliğinden faydalanılır (Carlberg and Mannervik 1985).

### 2.3. Egzersiz ve Oksidatif Stres

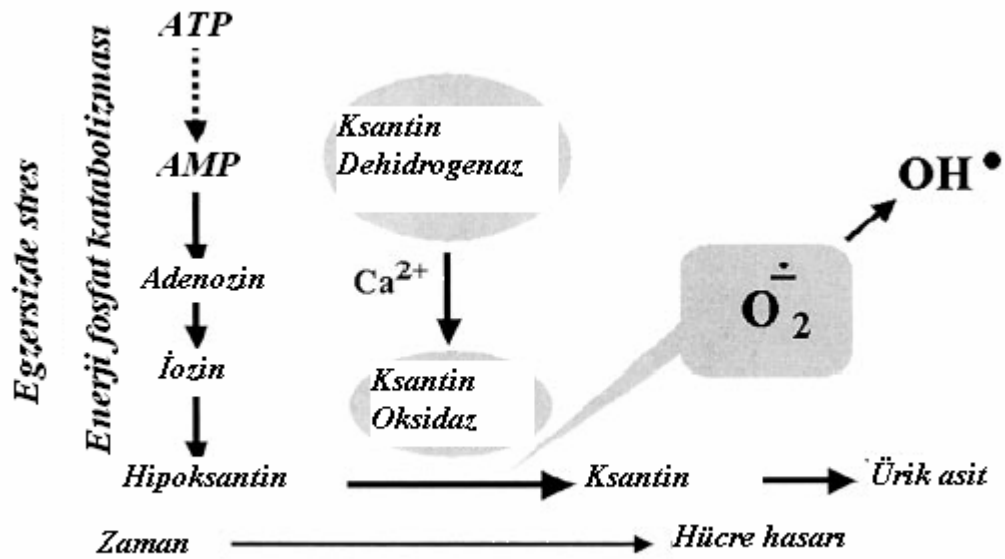
Egzersiz, antioksidanlarla ROS arasında dengesizliğe neden olarak oksidatif strese yol açabilir. Bir çok çalışmada, özellikle yüksek şiddette akut aerobik egzersizin oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir. Akut aerobik egzersiz ve oksidatif stres iki mekanizma ile birbirine bağlıdır; 1. Oksijen hacmi 10-15 kat yükseltildiğinde kütle hareket etkisi yoluyla prooksidan aktivitesi artar, 2. Prooksidanlara göreli olarak antioksidan aktivitesinin yetersiz kalması (Alessio vd 2000).

Egzersizle ilişkili oksidan üretimi için birkaç potansiyel yol vardır.

1. Oksijen tüketimi egzersizde birkaç kat artar. Mitokondriyal elektron transfer zincirinden elektron sızıntısı, süperoksit anyonunun üretimiyle sonuçlanır.

2. Ksantin dehidrogenaz, hipoksantini ksantine, ksantini ürik asite oksitlerken elektron alıcısı olarak NAD'yi kullanarak NADH oluşumunu sağlar. İskemi esnasında ,

aktif kaslarda ksantin, ATP'nin anaerobik metabolizması yoluyla oluşturulur, ve ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza dönüştürülür. Reperfüzyon esnasında, oksijen yüklenmesindeki artış sonucu ksantin oksidaz ürik asiti hipoksantine dönüştürmeye devam eder fakat oksijenden elektron alıcısı olarak faydalanıp süperoksit oluşturur (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Pürin nükleotitlerin ATP'den ürik asite yıkılması

Egzersizın sebep olduğu stres ATP'nin hipoksantine yıkımını artırır. Ksantin oksidaz enzimi tarafından ürik asite dönüşümü sağlanır. Bu işlemde toksik süperoksit ve hidroksil radikalleri içeren serbest radikaller üretilir ve kas hücre hasarına sebep olur (Chevion vd 2003).

3. Egzersiz sonrası doku hasarı, nötrofiller gibi inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu artırabilir, sonucunda da NADPH oksidaz tarafından serbest radikaller üretilir.

4. Egzersiz esnasında katekolaminlerin düzeyi artar ve onların otooksidasyonu ROS'la sonuçlanabilir.

5. Oksihemoglobinin methemoglobine otooksidasyonu sonunda süperoksit üretilir ve methemoglobin dönüşüm hızı egzersizle artabilir (Belviranlı ve Gökbel 2006).

Oksidatif strete, hidroksil radikali ( $\text{OH}^{\bullet}$ ), Süperoksit anyonu ( $\text{O}_2^{\bullet}$ ), Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) gibi ROS'un artışı sonucu kullanılan kimyasal ve enzimatik antioksidan savunma sistemi yetersiz kalır. Denebilir ki, şiddetli fiziksel aktivite ROS'u artırabilir ve böylece oksidatif stres oluşabilir. Yinede bu problemle ilgili insanlar üzerinde yapılmış çok fazla çalışma yoktur çünkü biyomoleküllerde oksidatif lezyonları ölçmekte kullanılan yöntemler kas biyopsisi gibi girişimsel ve zor yöntemlerdir (Souza vd 2005).

Uzun ve yorucu egzersiz, iskelet kası ve kalp kası hücrelerinin sarkoplazmik zarlarında hasara, kas kontraktilesinde ve miyofibril yapıda bozulmaya ve kan, üre, kreatin kinaz, laktat dehidrogenaz aktivitesini de kapsayan değişikliklere yol açmaktadır (Chevion vd 2003).

Egzersiz indüklediği ROS'nin oluşumu fiziksel egzersizin tipi, yoğunluğu ve süresiyle değişir. Egzersizde cinsiyet de önemlidir. ROS'nin kaynakları mitokondriyal elektron transport zinciri, ksantin oksidaz sistemi, enflamasyon ve katekolamin otooksidasyonudur. Maksimal aerobik egzersiz esnasında tüm vücudun oksijen tüketimi dinlenme esnasındakine göre yaklaşık 15-20 kat, çalışan kaslardaki oksijen tüketimi ise 100 kat daha fazladır. Artmış oksijen tüketimi ise ROS'nin üretimini arttırmaktadır (Jenkins 2000).

İnsanlarda ılımlı egzersizlerde, linoleik asitin peroksidasyonundan oluşan pentan artış gösterir. Yine insanlarda üst seviye egzersiz den 30 dk. sonra plazma MDA'sının arttığı gösterilmiştir (Deaton and David 2003).

Aldehitler özellikle MDA, egzersizle oluşan oksidatif stres belirteci olarak sık sık kullanılır. MDA, HPLC, spektrofotometre ve spektrofloresans yöntemlerle ölçülebilir (Halliwell and Chirico 1993). Egzersizde MDA değişimlerini belirlemede kullanılan ortak yöntem tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemidir (Urso and Clarkson 2003).

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

##### Cihazlar:

Homojenizatör (Art-micra D-8, Almanya), Elektronik hassas terazi (Sartorius, Almanya), Santrifüj (Nüve NF 1215, Almanya), Soğutmalı santrifüj (Hettich Micro22-R, Almanya), Dondurucu ve Soğutucu (-20°C, +4°C, Türkiye), Ayarlanabilir otomatik pipet (Biohit Proline 100, 1000 mikrolitre, Finlandiya), Sıcaklığı ayarlanabilir su banyosu (BM402 Nüve, Türkiye), ph metre (pH Meter WTW, Almanya), Vorteks (Combi-Spin Biosan, Türkiye), Spektrofotometre (Shimadzu UV-visible Spectrophotometer UV-1601, Avustralya), Elektrikli motor sürücülü beş yollu koşu bandı (MAY-TME 9805, Türkiye).

##### Kimyasallar:

Sodyum dodesil sülfat, Trikloro asetik asit, NaOH, 2-Tiyobarbitürik asit (TBA), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (%98), orto-fosforik asit (%85), Sikloheksanon (Merck, Almanya), Sodyum meta periyodat, Sodyum meta arsenit (Fluka, Almanya), Sodyum sülfat (Carlo Erba, İtalya).

#### 3.2. Deney Hayvanlarının Hazırlanışı

Çalışmamız için gerekli hayvanla Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezinden sağlandı. Çalışma için 20 adet 10 aylık erkek Wistar sıçanlar seçildi çalışma boyunca oda sıcaklığında tutulup standart yem ve musluk suyu ile beslendiler. Sıçanlar rastgele iki gruba ayrıldılar.

- I. Kontrol Grubu (n=10)
- II. Egzersiz Grubu (n=10)

### 3.2.1. Egzersiz Protokolü

Egzersiz yapan gruplarda, koşu egzersizleri, elektrikli motor sürücülü beş yollu koşu bandında (MAY-TME 9805, Ankara) 1.2 km/s hızda, 0° eğimde haftanın 5 günü ve her gün 30 dakika olacak şekilde, 4 hafta süreyle gerçekleştirildi. Seçilen koşu egzersizi, orta - hafif şiddette %50-65 VO<sub>2</sub> max' a denk gelmektedir. Egzersiz yapan hayvanlar, egzersiz protokolüne başlamadan önceki bir hafta boyunca en düşük şiddetten başlamak üzere hedeflenen koşu hızına ulaşılan kadar günde toplam 10 dakikayı geçmeyecek şekilde koşu egzersizine ve koşu bandına alıştırıldılar. İlk günler sıçanların ani yorgunluğunu engellemek üzere koşu egzersizi iki tekrarda yaptırılırken, protokol başlamadan önceki gün sıçanların hedeflenen hızda 10 dakika boyunca sorunsuz koşabildiği gözlemlendi. Ancak çalışma sırasında egzersiz grubu sıçanlardan 2si öldü ve 8 sıçanla çalışmaya devam edildi.

Çalışma boyunca sıçanlar haftada bir defa tartılarak ağırlık takipleri düzenli olarak yapıldı.

### 3.3. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Toplanması

4 hafta boyunca uygulanan egzersiz protokolü sonunda 4. haftanın bitiminde Ketamin (90 mg/kg)/Xylazin(10 mg/kg) anestezisi altında, kan örnekleri sıçanların kalplerinden heparinize tüpe alındı. Alınan kan santrifüj edilerek, ölçümler yapılana kadar ependorf tüplerde -20 C° de saklandı.

### 3.4. Siyalik Asit Tayini

Çalışmamızda total siyalik asit tayini için (Warren 1959) tarafından geliştirilen tiyobarbitürik asit yöntem kullanılmıştır. TSA tayininde önce plazma 0,1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile 80 °C 1 saat inkübe edilerek bağlı siyalik asitler serbestleştirilir.

#### Kullanılan reaktifler:

- 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- 9 mol/L %85'lik orto-fosforik asit içinde 0.2 mol/L Na-meta periyodat (A çözeltisi)
- 0.8 M Na-meta arsenit
- 0.5 M Na-sülfat
- 0.5 mol/L Na-sülfat içinde 0.04 mol/L TBA (C çözeltisi)
- Sikloheksanon

#### Siyalik Asit Tayin Yöntemi:

Tüpler prosedüre uygun bir şekilde hazırlanır. Hidrolizasyon işlemi esnasında 9 mol/L orto-fosforik asit içinde 0,2 mol/L lik Na-meta periyodat çözeltisi (A çözeltisi) hazırlanır. 0.8 M Na-meta arsenit, 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve 0.5 M Na-sülfat içeren çözelti (B çözeltisi) hazırlanır.

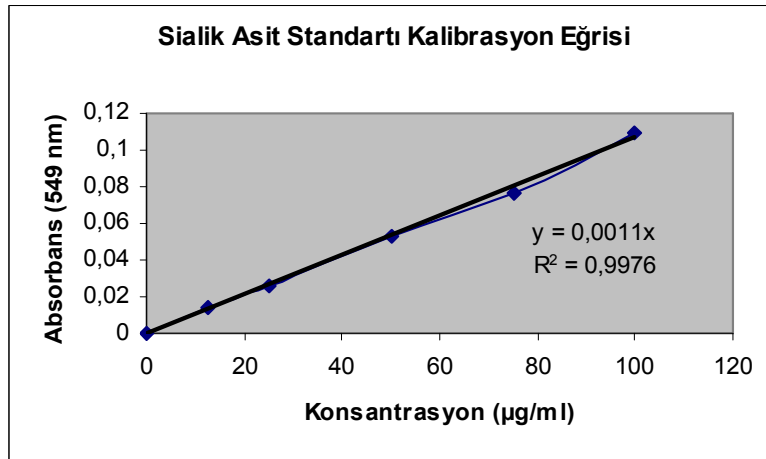
**Tablo 3.1** Siyalik asit tayin Yöntemi

	Standart Tüpü	Örnek Tüpü	Kör Tüpü
Distile Su	—	—	100 µl
Plazma		100 µl	—
Standart	100 µl	—	—
0,1N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,9 ml	0,9 ml	0,9 ml
60 dk 80 °C de inkübe edilir, Hidrolizat hazırlanmış olur			
Hidrolizat	100 µl	100 µl	100 µl
A Çözeltisi	50 µl	50 µl	50 µl
20 dk oda sıcaklığında inkübe edilir			
B Çözeltisi	500 µl	500 µl	500 µl
Vortekslenir, 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilir			
C Çözeltisi	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
15 dk 100 °C sıcak su banyosunda bekletilir, sonra oda ısısına getirilir			
Sikloheksanon	2 ml	2 ml	2 ml

Sikloheksanon eklendikten sonra tüpler kuvvetle karıştırılır ve 3000 rpm de 5 dk santrifüj edilir. Süpernatan yeni tüplere aktarılarak spektrofotometrede 549 nm’de köre karşı okunur.

Siyalik asit standart kalibrasyon eğrisi:

Standart eğri, siyalik asit standart stoğundan 12.5, 25, 50, 75 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanıp spektrofotometrede 549 nm de ölçülmesiyle elde edilen absorbans değerlerinin grafiğe yerleştirilmesiyle elde edilmiştir. Elde edilen grafik üzerinden eğim hesaplanıp siyalik asit değerlerinin hesaplanmasında kullanılmıştır,



**Grafik 3.1** Siyalik Asit Standart Kalibrasyon Eğrisi

### 3.5. Malondialdehit (MDA) Tayini

MDA tayini, lipit peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehitin tayin edilip canlıda oluşan serbest radikal oranını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bunun için TBA (2-tiyobarbitürik asit) ile MDA'nın asidik ortamda reaksiyonu sonucu oluşan rengin spektrofotometrik olarak (532 nm) ölçülmesi prensibine dayanan Ohkawa ve arkadaşlarının metodu kullanılmıştır (Ohkawa vd 1979).

Kullanılan Reaktifler:

- % 8,1 lik Sodyum dodesil sülfat

- *Asetat Tamponu (pH: 3.5, %20 asetik asit)*
- *Tiyobarbitürik asit solüsyonu (TBA) (% 0.8 lik)*
- *1,1,3,3, tetraetoksipropan (MDA Standartı)*

*MDA Tayin Yöntemi:*

Stok MDA standartından 4, 6, 8 ve 12 nmol/ml'lik standartlar hazırlandı. Yukardaki prosedüre uygun şekilde tüpler hazırlandıktan sonra vortekslenip 95 °C su banyosunda kapaklı tüplerde bir saat boyunca kaynamaya bırakıldı. Süre bitiminde tüpler soğutulup içerikleri santrifüj tüpüne aktarıldı ve 4000 rpm de 10 dk santrifüj edildi. Tüplerin üzerinde kalan berrak kısım (süpernatant) alınarak örnek ve standartların absorbansları 532 nm'de köre karşı okundu.

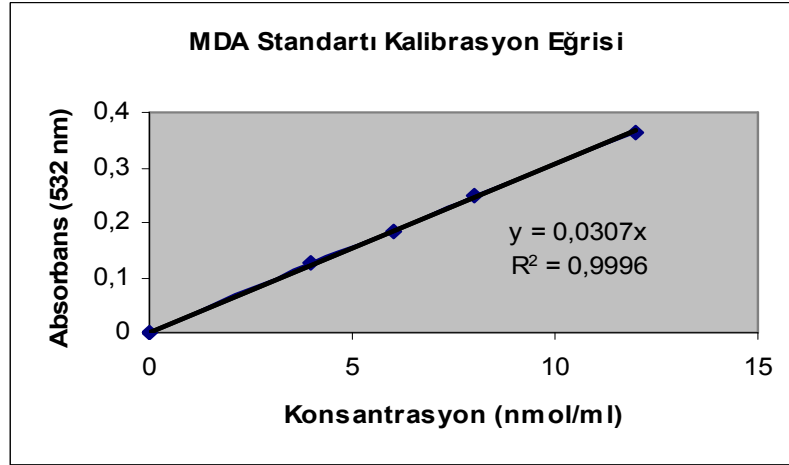
**Tablo 3.2** MDA Tayin Yöntemi

	Standart Tüpü	Örnek Tüpü	Kör
Plazma		0.5 ml	
Standart	0.5 ml		
Distile su	0.5 ml	0.5 ml	1 ml
TBA	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Asetik asit tamonu	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Na-dodesil sülfat	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml

*MDA Standart Kalibrasyon Eğrisi:*

MDA standartı kalibrasyon eğrisi MDA standartı stoğundan 4, 6, 8 ve 12 nmol/ml konsantrasyonlarda standart çözeltilerinin hazırlanıp spektrofotometrede 532 nm de ölçülmesiyle elde edilen absorbans değerlerinin grafiğe yerleştirilmesiyle elde edilmiştir. Bu grafikten elde edilen eğrinin eğimi hesaplanarak plazma MDA düzeylerinin hesaplanmasında kullanılmıştır.





**Grafik 3.2** MDA Standartı Kalibrasyon Eğrisi

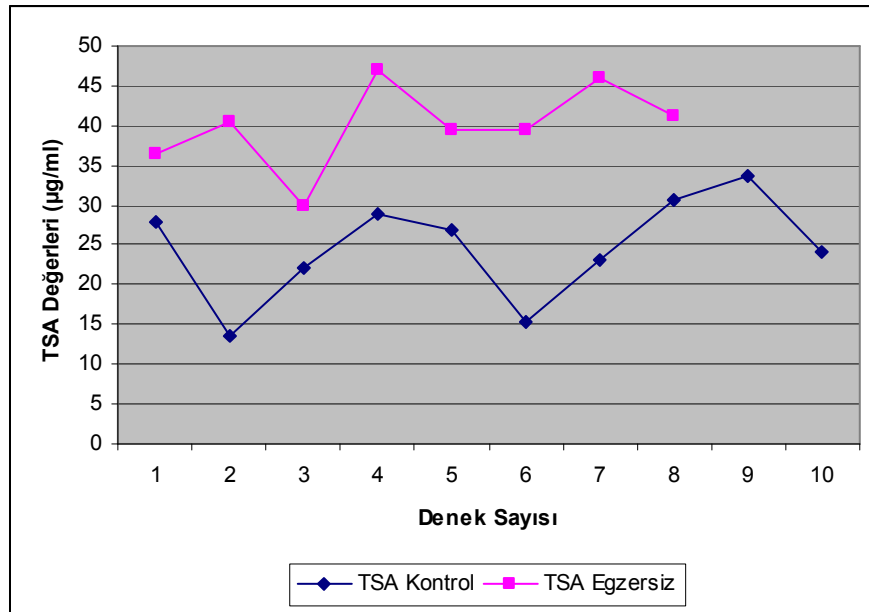
### 3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS (statistical package for social sciences) 10.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Bütün değerler ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde belirtilmiştir. Kontrol ve egzersiz gruplarının karşılaştırılmasında Mann-whitney U testi kullanılmıştır ve  $p < 0,05$  den küçük değerler anlamlı olarak kabul edilmiştir. Ayrıca MDA ve TSA değerleri arasındaki korelasyon, regresyon analizi yapılarak karşılaştırılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Sıyalik Asit Düzeyleri

Plazma TSA seviyeleri  $\mu\text{g TSA/ml}$  plazma cinsinden belirlendi. Buna göre kontrol grubu sıçanlarda plazma TSA seviyesi, ortalama  $24,6 \pm 6,37 \mu\text{g/ml}$  iken, egzersiz grubu sıçanlarda ortalama TSA seviyesi ortalama  $40 \pm 5,24 \mu\text{g/ml}$  olarak tespit edildi.

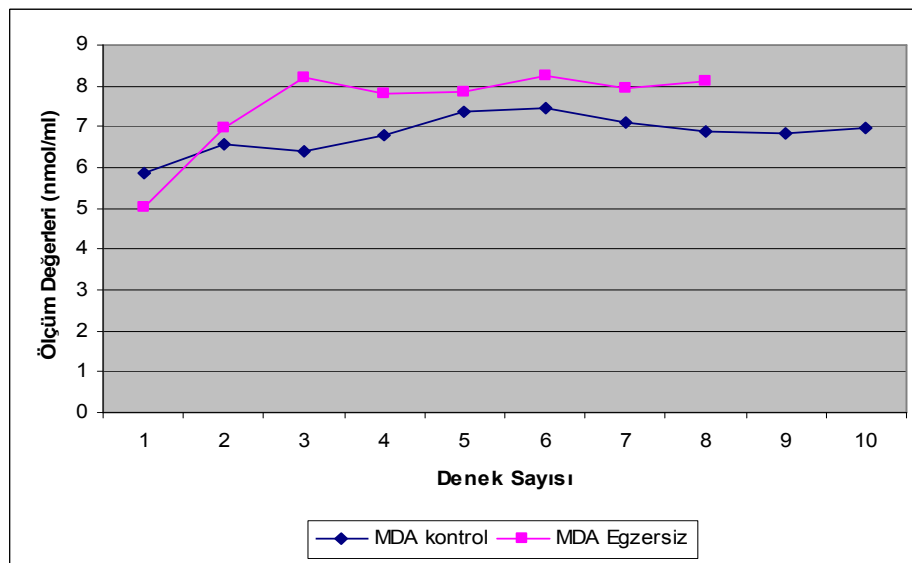


**Grafik 4.1** Kontrol ve egzersiz grubu TSA değerleri çizgi grafiği

Kontrol ve egzersiz grubu sıçanların plazmalarındaki TSA seviyeleri, egzersiz yapanlarda yapmayanlara oranla Mann-whitney U testine göre istatistiki olarak anlamlı  $p=0,01$  ( $p<0,05$ ) derecede yüksek bulundu.

## 4.2. MDA Düzeyleri

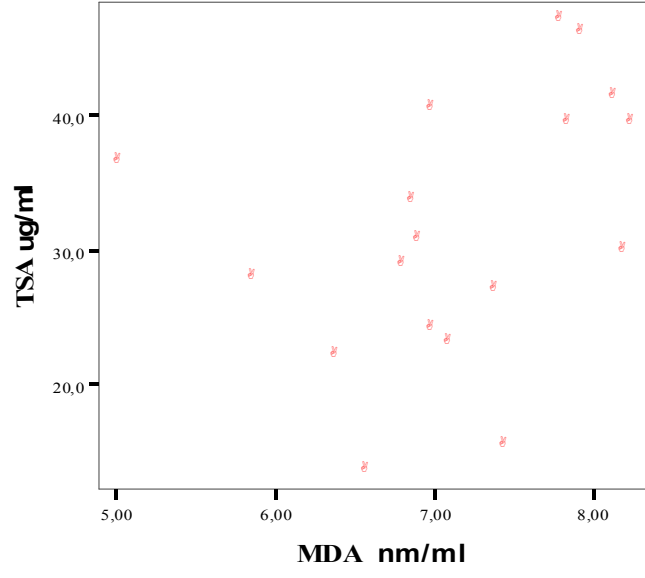
Plazma MDA seviyeleri nmol MDA/ml plazma cinsinden hesaplanmıştır. Buna göre kontrol grubu ortalama MDA değeri  $6,82 \pm 0,39$  nmol/ml iken egzersiz grubu MDA değeri  $7,5 \pm 0,82$  nmol/ml olarak hesaplandı. Egzersiz grubu MDA değerleri, kontrol grubu MDA değerlerinden, Mann-Whitney U testine göre istatistiksel olarak anlamlı  $p=0,018$  ( $p<0,05$ ) derecede yüksek bulundu.



**Grafik 4.2** Kontrol ve egzersiz grubu MDA değerleri çizgi grafiği

## 4.3 Regresyon Analizi

Plazma MDA konsantrasyon artışı ile TSA artışı arasında korelasyon olup olmadığı incelendi ve aralarında anlamlı  $p=0,150$  ( $p>0.05$ ) bir korelasyon saptanmadı ( $R^2=0.125$ ), (Grafik 4.3).



**Grafik 4.3** MDA ve TSA değerlerinin regresyon grafiği

## 5.TARTIŞMA

Düzenli fiziksel egzersizin, şeker, osteoporoz, kanser ve kardiyovasküler hastalıkların riskini azaltmadaki faydaları iyi bilinmektedir. Egzersiz aynı zamanda oksidatif stres olarak bilinen oksidan/antioksidan arasında dengesizliğe yol açabilir. Egzersiz sırasında oksidatif stres ve serbest radikallerin gelişimi, sağlık, iyileşme ve iyi bir performans için önemli bir faktördür. Akut egzersiz oksidan düzeylerini ve oksidatif stresi artırır fakat uzun süreli egzersizler oksidan ürünlerini azaltıp, antioksidan enzim aktivitelerini artırarak bu durumu karşılayabilir (Leeuwenburgh and Heinecke 2001).

Serbest radikaller, hücre zarlarındaki fosfolipit tabaka ile reaksiyona geçerek hücresel hasara neden olur. Bu reaksiyonlar sonucunda ölçülebilir son ürünler açığa çıkar ve en öncelikli olarak ortaya çıkan son ürün MDA'dır. Birçok çalışma sportif yüklenmeye bağlı serbest radikal üretimini ölçmek için malondialdehiti kullanmış ve farklı sonuçlara ulaşmışlardır. Bu çalışmaların sonuçları arasındaki farklılık ölçüm yöntemlerinin veya uygulanan sportif yüklenme protokollerinin farklılığından kaynaklanmaktadır (Hamilton vd 2003).

Alessio vd (2000) maksimal kas kasılmasının (MVC) %50 ile 45 sn çalışma, 45 sn dinlenme olacak şekilde uygulanan izometrik handgrip egzersizden hemen sonra ve egzersizden bir saat sonrasında LOOH (lipid peroksidasyon) ta artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. MDA seviyesinde bir değişim saptanmamıştır.

Atalay ve Laaksonen (2002) çalışmalarında veriler henüz kesin olmamasına rağmen diyabetik mikro ve makrovasküler hastalıkların patogeneğinde oksidatif stresin önemli olduğunu bildirmişlerdir. Bazı kanıtlar lipit peroksidasyonunun azalmasında fiziksel

egzersizin rolünü destekler. Eğer düzenli fiziksel egzersiz diabetes mellitus'ta oksidatif strese karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilebilirse, şeker hastalığının kesin tedavisinde fiziksel egzersizin kullanımı etkili olabileceğini bildirmişlerdir (Atalay ve Laaksonen 2002).

Graeme vd (2004) ise aynı şekilde %65 VO<sub>2</sub>max şiddetinde yapılan 30 dk.'lık koşu sonrasında MDA değerlerinde anlamlı bir değişiklik bulamamışlardır. 24 ve 48 saat sonra alınan kan örneklerinin değerlendirilmesi sonucu istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulamazlarken 72 saat sonra MDA değerinin anlamlı olarak arttığını tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra hasar verici sportif aktiviteler esnasında üretilen serbest radikallerin, hasar almış miyositlerin tamir edilmesi için sinyal veren moleküller gibi davranarak, hücresel yenilenme için gerekli olduğunu bildirmişlerdir.

Bazen oksidatif stres reaksiyonlarının ürünleri sportif yüklenmelerden sonra direkt olarak artmaz ve maksimal seviyelerine ancak sportif yüklenme bittikten saatler veya günler sonra ulaşır. Bu nedenle sportif yüklenmeden hemen sonraki oksidatif stres işaretçilerinin eksikliği oksidatif hasar oluşmadığını ciddi olarak ifade etmez (Cooper vd 2002).

Miyazaki vd (2001) yoğun dayanıklılık antrenmanının aerobik kapasiteyle beraber eritrositlerde antioksidan enzim aktivitesini de yükseltebileceğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte dayanıklılık antrenmanları; bitkinliğe varan sportif aktiviteyi takiben nötrofillerin O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretim yeteneğini azaltır. Böylece, bu antioksidan sisteminin etkisinin artırılması; eritrosit zarında, sportif aktivitelere bağlı lipid peroksidasyonunun azalmasıyla sonuçlanır. Bu nedenle 12 haftalık koşu egzersiz programının eritrositlerde antioksidan savunma sistemini kuvvetlendirmede etkili bir strateji olduğu bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda sıçanlar 4 hafta boyunca hergün 30 dk. koşturuldular ve 4 hafta sonunda alınan kan örneklerinden elde edilen plazmalarda oksidatif stres oluşumunu belirlemek amacıyla MDA ölçümleri yapıldı. Egzersiz yapan sıçan grubunda MDA değerleri kontrol grubuna göre (p=0,018 yani p<0,05) anlamlı derecede yüksek çıktı. Bu sonuç bize 4 hafta sonunda sıçanların oksidatif strese maruz kaldığını ve antioksidan savunmanın plazmada yeterli gelmemiş olabileceği ihtimalini

göstermektedir. Miyazaki ve arkadaşlarının çalışmasında 12 haftalık bir süreçte antioksidan sistemin kuvvetlendiğinden söz edilmiştir. Buna göre bizim sıçanlarımızın da koşu süresi daha uzun tutulsaydı oluşan oksidatif stresi antioksidan savunma sistemlerini geliştirerek yenebilecekleri düşünülebilirdi.

Cavas vd (2005) çalışmasında da judo sonrası atletlerin tükürüklerinde antioksidan enzim aktiviteleri ve FSA seviyeleri ölçülmüş sonuçta tükürükte antrenman sonrası bütün antioksidan enzimlerin aktivitelerini önemli derecede arttığı gözlenmiştir. İlginç olarak, çalışmalarında antioksidan enzim aktivitelerinin artış hızının birbirinden farklı olduğunu görmüşlerdir. CAT ve SOD enzimleri GPx enzimine göre daha hızlı bir artış göstermiştir. Ayrıca CAT seviyesindeki artışla FSA seviyesindeki artış arasında da bir uyum olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu durumda SA in bir oksidatif stres belirteci olabileceği düşüncesine varmışlardır.

Glikoproteinlerin ve glikolipidlerin sializasyon ve desializasyonunu etkileyen birçok faktör SA'in serum, idrar veya diğer vücut sıvılarındaki düzeylerinde artma veya azalmaya yol açabilir (Waters vd 1992).

Crook ve arkadaşları çalışmalarında plazma siyalik asit konsantrasyonunun, diyabetik mikro ve makrovasküler hastalıkların gelişimi için bilinen risk faktörleri; diyabet, glisemik kontrol (HbA<sub>1c</sub>), hiperlipidemi, bel-kalça oranı, yüksek tansiyon ve sigara içimi (erkeklerde), düşük seviyede egzersiz (kadınlarda) ile önemli bir ilişki içerisinde olduğunu göstermişlerdir (Crook vd 2001).

Cavas ve arkadaşları SA'in oksidatif stres belirteci olarak kullanılıp bazı kanser tipleri ve miyokard enfarktüs belirteci olarak kullanılıp kullanılmayacağı konusu ve egzersiz sonrası SA düzeyindeki artışın hidrojen peroksit artışıyla ilişkili olup olmayacağı konusu üzerinde durmuşlardır. Judo eğitimi sonrası tükürükte FSA seviyesinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Tükürüğe salgılanan fazla FSA' nın süperoksit radikal anyonu ve hidrojen peroksit gibi ROS türlerinin neden olabileceği düşünülmüştür (Cavas vd 2005).

Yeni yapılan bir çalışmada fizyolojik kondüsyon altında Neu5Ac tarafından toksik  $H_2O_2$ 'in tüketildiği gösterilmiştir (Iijima vd 2004).

Ljungberg ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada da yorucu ve ağır bir egzersiz sonrasında maraton koşucularından alınan tükürükte bazı parametreler incelenmiştir. Üçü kadın 20 kişinin tükürüklerinden üç numune; Birinci, yarışmanın hemen öncesi, ikinci, yarışmadan hemen sonra, üçüncü, yarışmadan bir saat sonra olacak şekilde toplanmıştır. Yarışmanın sonunda öncesine göre tükürükteki klorür, fosfat, potasyum, amilaz, hekzamin, siyalik asit ve tükürük peroksidazında önemli bir yükseliş olduğunu gözlemlemişlerdir (Ljunberg vd 1997).

Bizim çalışmamızda plazma siyalik asit konsantrasyonunda egzersiz ve kontrol grupları arasındaki değişim gözlendi ve bu değişimin oksidatif stresle bir bağlantısı olup olmadığı aynı gruplarda MDA seviyeleri de ölçülerek gözlenmeye çalışıldı. Ölçümler sonucunda egzersiz grubunda plazma SA düzeyleri kontrol grubuna göre ( $p=0,01$  yani  $p<0,05$ ) anlamlı derecede yüksek çıktı. Aynı şekilde plazma MDA seviyesi de egzersiz yapan sıçanlarda anlamlı derecede  $p<0,005$  yüksek çıktı. Egzersiz grubunda kontrol grubuna göre her iki parametre için de anlamlı artış gözlenmesine rağmen, plazma MDA konsantrasyonu ile, plazma SA konsantrasyonu arasında bir korelasyon gözlenmedi ( $p=0,353$  yani  $p>0,05$ ). Dolayısıyla bizim çalışmamızda, SA düzeyi ile oksidatif stres belirteci MDA arasında bir bağlantı kurulamadı. Bunu gözlemek için daha kapsamlı bir çalışma yapılması antioksidan enzimlerinde ölçülerek sonuçların karşılaştırılması daha uygun olacağı görüşündeyiz.



## 6. SONUÇ

- Kontrol ve egzersiz grubu sıçanlarda plazma MDA değerleri ölçüldü ve egzersiz yapan sıçanlarda MDA değerleri anlamlı derecede ( $p<0,05$ ) yüksek bulundu. Bu bize sıçanların 4 haftalık egzersiz sürecinde oksidatif strese maruz kaldıklarını göstermektedir.
- Kontrol ve egzersiz grubu sıçanlarda aynı şekilde plazma TSA değerleri ölçüldü. Egzersiz grubunda TSA değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede ( $p<0,05$ ) yüksek çıktı. Bu durumda egzersiz ile plazmada TSA salınımının arttığı gözlemlendi.
- Plazma MDA ve TSA düzeyleri her iki grupta da anlamlı derecede artış göstermesine rağmen, bu iki parametre arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmedi.
- Sonuç olarak SA bir oksidatif stres belirteçidir demek elimizdeki sonuçlara bakarak mümkün olmamaktadır. Daha kapsamlı çalışmalar çerçevesinde bu konunun geliştirilmesi uygun olacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

- Aktaş M., Değirmenci U., Yıldırım H., Ercan S. K., Tamer L., Atik U. (2004) Mda Ölçümünde Hplc Ve Spektrofotometrik Yöntemlerin Karşılaştırılması., Mersin Üniv. Tıp Fak. Dergisi, 4: 365-370
- Alessio H. M., Hagerman A., Fulkerson B., Ambrose J., Rice R., Wiley R., (2000) Generation Of Reactive Oxygen Species After Exhaustive Aerobic And Isometric Exercise., Med Sci Sports Exerc, 32(9): 1576-1581
- Altıntaş S., (2006) Kahramanmaraş'ta Bazı İş Kollarında Çalışan Boya İşçilerinde Plazma Ve Eritrosit Membranı Siyalik Asit, Glutasyon, Plazma Nitrik Oksit Ve Lipit Peroksidasyonu Düzeylerinin Değerlendirilmesi., Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, 62s
- Ando, T., Ando, H. And Kiso, M. (2001) Sialic Acid And Glycobiology: A Chemical Approach. Trends In Glycoscience And Glycotechnology, 13: 573-586
- Apel K., Hirt H., (2004) Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, And Signal Transduction. Annu., Rev. Plant Biol., 55: 373-399
- Atalay M., Laaksonen D., (2002) Diabetes, Oxidative Stress And Physical Exercise., J Sports Sci Med; 1: 1-14
- Belviranlı M., Gökbel H. (2006), Acute Exercise Induced Oxidative Stress And Antioxidant Changes., Eur J Gen Med; 3(3): 126-131
- Bilazer C. A., (2006) Mekonyum Boyalı Yenidoğanlarda Kordon Kanı MDA Konsantrasyonları Ve Perinatal Döneme Ait Faktörlerle İlişkisi., Uzmanlık Tezi, Dr.Sadi Konuk Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 59s
- Carlberg I., Mannervik, B. (1985) Glutathione Reductase. Methods Enzyme., 113: 448-490
- Cavas L., Arpinar P., Yurdakoc K., (2005) Possible Interactions Between Antioxidant Enzymes And Free Sialic Acids In Saliva: A Preliminary Study On Elite Judoists Sports Med, 26: 832-835
- Champe P. C., Harvey R. A. (1997) Glikozaminoglikanlar. A. Tokullugil, M. Dirican, E. Ulukaya. Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden: Biyokimya. İkinci Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, S. 147-156
- Chevion S, Moran D, Heled Y, (2003) Plasma Antioxidant Status And Cell Injury After Severe Physical Exercise., Proc Natl Acad Sci USA, 100: 5119-5123
- Cooper C, Vollaard N, Choueiri T, Wilson M., (2002) Exercise, Free Radicals And Oxidative Stress. Biochem Soc Trans, 30(2): 280-285
- Crook M., Constable S., Lumb P., Rymer J., (1997) Elevated Serum Sialic Acid In Pregnancy Clin Pathol, 50: 494-495

- Crook M. A., Pickup J. C., Lumb P. J., Webb D. J., Fuller J. H., (2001) Relationship Between Plasma Sialic Acid Concentration And Microvascular An Macrovascular Complications In Type I diabetes; *Diabetes Care.*, 24: 316–322
- Dadük Y., (2006) Mide Kansersinde Total Siyalik Asit, Glutasyon, Malondialdehit Seviyeleri Ve Bu Parametrelerin Birbirleriyle Ve Kanser Evresiyle İlişkisinin İncelenmesi., *Uzmanlık Tezi, Haseki Eğitim Ve Araştırma Hastanesi I. Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul*, 58s
- Deaton C. M., David J. M., (2003) Exercise-Associated Oxidative Stres., *Clinical Techniques In Equine Practice*, 2(3): 278-291
- Graeme L., Ashton T., Cable T., Doran D., (2004) Maclaren Dpm. Eccentric Exercise, Isokinetic Muscle Torque And Delayed Onset Muscle Soreness : The Role Of Reactive Oxygen Species, *Eur J Appl Physiol*, 91: 615-621
- Güngör Ö., Sunar B., Özçelik F., Aktaş Z., Gökmen S. S., (2004) Akut Miyokart İnfarktüsünde Siyalik asit Düzeyleri ve Seruloplazmin ile İlişkisi., *Turk Biyokimya Dergisi (Turksih Journal Of Biochemistry- Turk J Biochem)*, 29 (3); 226-231
- Halifeoğlu İ., Karataş F., Çolak R., Canatan H., Telo S., (2005) Tip 2 Diyabetik Hastalarda Tedavi Öncesi Ve Tedavi Sonrası Oksidan Ve Antioksidan Durum., *Fırat Tıp Dergisi*, 10(3): 117-122
- Halliwell, B., Chirico, S., (1993). Lipid Peroxidation: Its Mechanism, Measurement, And Significance. *Am. J. Clin. Nutr.*, 57(5): 715-724
- Hamilton K., Staib J., Phillips T., Hess A., Lennon S., Powers S., (2003) Exercise, Antioxidants, And Hsp72: Protection Against Myocardial Ischemia /Reperfusion., *Free Radic Biol Med*, 34(7): 800-809
- Iijima R., Takahashi H., Namme R., Ikegami S., Yamazaki M., (2004) Novel Biological Function Of Sialic Acid (N-Acetylneuraminic Acid) As A Hydrogen Peroxide Scavenger., *Febs Lett*, 561: 163-166
- Jackson B., (1987) Muscle Damage During Exercise: Possible Role Of Free Radicals And Protective Effect Of Vitamin E., *Proc Nutr Soc*, 46: 77-80
- Jenkins R. R., (2000) Exercise And Oxidative Stress Metodology: A Critique., *Am J Clin Nutr*, 72: 670-674
- Jenkins R., (1988) Free Radical Chemistry. Relationship To Exercise., *Sports Med*, 5: 156–170
- Jens L., (2007) Malondialdehyde As Biomarker Of Oxidative Damage To Lipids Caused By Smoking., *Clinica Chimica Acta*, 380: 50-58
- Karapehlivan M., Uzlu E., Kaya N., Kankavi O., Ural K., Citil M., (2007) Investigation Of Some Biochemical Parameters And The Antioxidant System In Calves With Dermatophytosis., *Turk. J. Wet. Anim. Sci.*, 31(2): 85-89
- Karataş F., Aşkın U., Halifeoğlu İ., Dönder E., (2006) Guatr'lı Hastalarda Antioksidan Vitaminler (A, E Ve C), Selenyum ve Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeylerinin Araştırılması., *Fırat Üniversitesi Tıp Fak.*, 20(4): 277-280
- Leeuwenburgh C., Heinecke W., (2001) Oxidative Stress And Antioxidants In Exercise Current *Medicinal Chemistry*, 8: 829-838
- Ljungberg G., Ericson T., Ekblom B., Birkhed D., (1997) Saliva And Marathon Running., *Scand J Med Sci Sports.*, 7(4): 214-219
- Mannervik B., (1985) Glutathione Peroxidase. *Methods Enzymol*, 113: 490-495
- Mark P., (1998) *Antioxidants.*, Advanced Nutrition Publications, Inc. Revised, 1-4

- Matés J. M., Jiménez F. S., (1999) Antioxidant Enzymes And Their Implications In Pathophysiologic Processes, *Frontiers In Bioscience* 4: 339-345
- Meister A., Anderson M. E., (1983) Glutathione., *Annu Rev Biochem*, 52: 711–760
- Miles B., (2003) Oxygen Metabolism And Oxygen Toxicity, <http://www.tamu.edu/classes/bich/bmiles/lectures/Oxygen%20Metabolism%20and%20Oxygen%20Toxicity.pdf>
- Miyazaki H., Oh-Ishi S., Ookawara T., Kizaki T., Ha S., Haga S, Ji L., (2001) Strenuous Endurance Training In Humans Reduces Oxidative Stress Following Exhausting Exercise., *Eur J Appl Physiol*, 84: 1-6
- Montgomery R., Conway T. W., Spector A. A., Chappel D., (2000) *Biyokimya Olgu Sunumlu Yaklaşım.*, Altan N., Palme Yayıncılık, Ankara, 683s
- Murray R. K., Granner D. K., Mayes R. A., Rodwell V. W., (1996) *Fizyolojik Öneme Sahip Lipidler.* N. Dikmen, T. Özgünen. Harper'ın *Biyokimyası*, Yirmidördüncü Baskı, Barış Kitabevi, İstanbul
- Nissen H. P., Kreysel H. W., (1983) Superoxide Dismutase In Human Semen., *Kurze Wissenschaftliche Mitteilungen*, 61: 63-65
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. (1979) Assay For Lipid Peroxides In Animal Tissues By Thiobarbituric Acid Reaction., *Anal Biochem*, 95: 351-358
- Powers S. K, Lennon S. L., (1999) Analysis Of Cellular Responses To Free Radicals: Focus On Exercise And Skeletal Muscle., *Proc Nutr Soc*, 58(4): 1025-1033
- Pönniö M., Alho H., Nikkari T. S., Olsan U., Rydberg U., Sillanaukee P. (1999) Serum Sialic Acid In A Random Sample Of The General Population., *Clinical Chemistry*, 45:1842-1849
- Schauer R., Traving C., (1998) Structure, Function And Metabolism Of Sialic Acids Cmls, *Cell. Mol. Life Sci.*, 54: 1330–1349
- Schwarzkopf M., Knobloch, K. P., Rohde E., Hinderlich S., Wiechens N., Lucka L., Horak I., Reutter W., Horstkorte R., (2002) Sialylation Is Essential For Early Development In Mice. *Pnas*, 99(8):5267-5270
- Souza T. P., Oliviera P. R., Pereira B., (2005) Physical Exercise And Oxidative Stress Effect Of Intense Physical Exercise On The Urinary Chemiluminescence And Plasmatic Malondialdehyde., *Rev Bras Med Esporte*, 11(1): 97-101
- Şinforoğlu T., (2007) Akut Ve Düzenli Antrenmanın Hentbolcülerde Oksidatif Stres Üzerine Etkisi., *Doktora Tezi*, Gazi Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 90s
- Tosun İ., Karadeniz B., (2005) Çay Ve Çay Fenoliklerinin Antioksidan Aktivitesi., *Ondokuz Mayıs Üniv. Zir. Fak. Dergisi*, 20(1): 78-83
- Tüközkan N., Erdamar H., Seven I., (2006) Measurement Of Total Malondialdehyde In Plasma And Tissues By High-Performance Liquid Chromatography And Thiobarbituric Acid Assay., *Fırat Tıp Dergisi*, 11(2): 88-92
- Urso M. L., Clarkson P. M., (2003) Oxidative Stress, Exercise, And Antioxidant Supplementation *Toxicology.*, 189: 41-54
- Uslu E. (2002) Effect Of Curcumin On Stress Ulcers., *Cerrahpaşa J Med*; 33: 93-96.

- Ünalacak M., Atmaca H., Gürel A., Armutcu F., Demircan N., Aktunç E., (2005) Hiperglisemik Glukoz Metabolizma Bozukluğu Olan Hastalarda Serum Malondialdehit, A-Tokoferol Ve B-Karoten Düzeyleri., *Fırat Tıp Dergisi*, 10(3): 113-116
- Wagner B. A., Buettner G. P., Burns C. P., (1994) Free Radical-Mediated Lipid Peroxidation In Cells: Oxidizability Is A Function Of Cell Lipid Bis-Allylic Hydrogen Content7 *Biochemistry.*, 33: 4449-4453
- Warren L., (1959) The Thiobarbituric Acid Assay Of Sialic Acids. *J Biol Chem*, 234(8): 1971-1975.
- Waters P. J., Lewry E., Pennock C. A., (1992) *Ann Clin Biochem*; 29: 625-637
- Wongkhom S., Bhudhisawasdi V., Chau-In S., Boonla C., Muisuk K., Kongkham S., Wongkham C., Boonsiri P., Thuwajit P., (2003) Clinical Sgnificance Of Serum Total Sialic Acid In Cholangiocarcinoma., *Clin Chim Acta*, 327:139-147
- Yazıcı C., Köse K., (2004) Melatonin: The Antioxidant Power Of Darkness., *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (E.Ü.Journal Of Health Sciences)*, 13(2): 56-65
- Young I. S., Mceneny J., (2001) Lipoprotein Oxidation And Atherosclerosis., *Biochemical Society Transactions*, 29(2): 358-362

## 8. ÖZGEÇMİŞ

28.07.1981 yılında Çorum'da dünyaya gelen Kadriye Hekim, ilköğrenimini Çorum Zafer İlkokulunda, orta ve lise öğrenimini Çorum İmam Hatip Lisesinde okudu. 2000 yılında Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazanıp 2004 yılında mezun oldu. 2005 yılında Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Medeni hali bekar, yabancı dili İngilizcedir.