

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

AKUT YÜZME EGZERSİZİ SONRASI ERİTROSİT VE
KAS DOKUSU MALONDIALDEHYDE (MDA) VE
PLAZMA ASKORBİK ASİT DÜZEYLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ
Fzt.MİTAT KOZ

TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr.DENİZ ERBAŞ

ANKARA-1991

TEŐEKKÜR

Çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesindeki yardımlarından dolayı Gazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Fizyoloji Anabilim Dalı Baőkanı Prof.Dr.Bilge GÖNÜL'e tüm Fizyoloji Öğretim üye ve Araştırma Görevlilerine, Biokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Aysel ARICIOĐLU ile Araştırma Görevlisi Dr.Ayőe BİLGİHAN'a ve Ankara Üniversitesi Tıp Fakóltesi Fizyoloji Anabilim Dalı Baőkanı Prof.Dr.Sema YAVUZER ile Araştırma Görevlisi Dr.Murat ÇELEBİ'ye teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	3
1. Oksijen Biokimyası	3
2. Lipid Peroksidasyonu	4
3. Eritrosit Lipid Peroksidasyonu	7
4. Egzersiz ve Lipid Peroksidasyonu	9
5. Egzersiz ve C vitamini	11
III. MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
1. Araştırma Planı.....	12
2. Egzersiz Yöntemi.....	12
3. Gereçler.....	13
4. Tayin Yöntemleri.....	13
i. Doku Lipid Peroksidasyon Düzeylerinin Ölçümü.....	13
ii. Plazma Askorbik Asit Düzeylerinin Ölçümü.....	14
iii. Eritrosit Lipid Peroksidasyon Düzeylerinin Ölçümü.....	15
IV. BULGULAR	16
V. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	20
VI. ÖZET	28
VII. SUMMARY.....	29
VIII. KAYNAKLAR	30
IX. ÖZGEÇMİŞ.....	36

GİRİŞ VE AMAÇ

Miyonlarca yıldır insan yaşamının ilk koşulu başta gıda olmak üzere tüm ihtiyaçları için verdiği yoğun savaş olmuştur. İnsanların bu alışkanlıklarından günümüzde de duygusal, sosyal ve zihinsel tüm becerileri etkilenmektedir. Toprağa dayalı bir kültürden sonra kentleşmiş ve yüksek teknolojinin ürünü bir toplumda yaşanmaya başlanmıştır. Gerçekte pekçok sorunlarla dolu eski doğal yaşantıya dönülmenin imkansız olduğu gerçeği ile insan, kalıtsal özelliklerini anlayabildiği oranda yaşam tarzını değiştirebilme olanağına sahiptir ve yaşamının temeli vücudunun dinlenmede ve değişik hareketlerdeki durumunu bilmesine bağlıdır (5).

Organizmanın egzersiz sırasındaki durumu bugün için pekçok yönü ile bilinmektedir. Solunum, dolaşım ve hareket sistemi gibi egzersizden direkt olarak etkilenen sistemlerin çalışması normalin çok üstüne çıkabilmektedir. Egzersiz sürekli yapıldığında bu sistemler, yeni duruma kendilerini adapte edebilmektedirler (1,5,14,19,50).

Egzersiz sırasında organizmadaki mevcut enerji potansiyeli egzersizin derecesine göre ilgili organlara katkıları oranında dağıtılmaktadır. Organizmadaki bu düzenleme kan ve kanın büyük bir kısmını oluşturan eritrositler sayesinde oluşmaktadır (1,19,23).

Organizmada egzersizden ençok etkilenen hareketi yaptıran kaslardır. Özellikle iskelet kaslarında şiddetli egzersiz sırasında kan akımı normalin 100 katı kadar artabilmektedir (1,23).

Lipid peroksidasyonu moleküler oksijen ile doymamış yağ asitleri arasındaki ilişkiyi yansıtan ve doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı ile sonuçlanan bir olaydır. Bu reaksiyonlar için doğal hedefler yapısında bol miktarda doymamış yağ asidi bulunan biyolojik membranlardır (8,9,34). Membranlardaki doymamış yağ asidinin peroksidasyonu membran yapısını değiştirmekte, enzim inaktivasyonuna neden olmakta, özellikle eritrositlerde deformabilite, antijenite ve permeabiliteyi etkilemektedir (9,13,25,39).

Yeterli miktarlarda bulunduğunda askorbik asit bir antioksidan olarak görev yapmasının yanında performansı artırıcı bir madde olması nedeni ile egzersiz-lipid peroksidasyonu ilişkisinde gözönünde tutulması gereken önemli bir parametre olmaktadır (7,45).

Vücudun karşılaştığı en büyük streslerden olan akut egzersizin eritrositler ile çeşitli kaslar üzerinde lipid peroksidasyonu açısından etkisini ve plazma C vitamini düzeylerine olan etkisini belirlemeyi amaçladık.

II. GENEL BİLGİLER

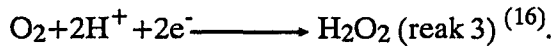
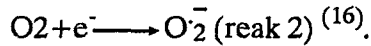
II.1. Oksijen Biokimyası

Yaşamsal önemi kaçınılmaz olan O₂, yıkılım ürünleri nedeniyle organizmalar için zararlı olabilmektedir ^(24,29,42).

Solunum ile alınan O₂ akciğer dokusunun lipid ve sıvı bölmelerinde erir, alveoler membranlardan kapillerler içine diffüze olur ve diğer dokulara dağıtmak üzere eritrositler içindeki hemoglobin tarafından alınır ya da plazmada çözünür. Oksijen, normal şartlar altında biokimyasal olayların bir çoğunda dokular tarafından farklı son ürünler vermek üzere kullanılır. Moleküler oksijenin büyük bir bölümü mitokondrial sitokrom enzim sistemi tarafından reaksiyon 1'deki gibi dört elektron indirgenmesi ile son ürün olarak suya dönüşmektedir ^(16,17,37).

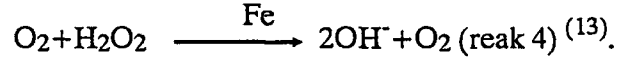


Diğer enzimatik reaksiyonlarda, reaksiyon 2'deki gibi bir elektron kaybı ile süper oksit radikali (O₂⁻) oluşumu ve reaksiyon 3'teki gibi iki elektron kaybı ile hidrojen peroksit (H₂O₂) oluşumu şeklindedir ^(16,48).



Süperoksit radikaller; tioller, hemoglobin, epinefrin, quinon gibi hücre sel komponentlerin oksidasyonundan da oluşmaktadır ^(16,29). Oluşan süperoksit radikali demir şelatlarının olduğu ortamda H₂O₂ ile hidrosil radikalleri

oluşturacak şekilde reaksiyon verir ⁽¹⁶⁾. Bu reaksiyon Haber-Weis reaksiyonu olarak bilinmektedir (reaksiyon 4) ⁽¹³⁾.



Oksijen radikalleri, radikal zincir reaksiyonlarına katılarak lipid peroksidasyonuna, mukopolisakkaritlerin depolimerizasyonuna, protein sülfhidril gruplarının oksidasyonuna, çapraz bağlanmalarla enzim inaktivasyonuna ve nükleik asit harabiyetine neden olurlar ^(16,24,29,42). Bunun yanısıra birbirleri ile de reaksiyona girerler ve yanlarına hidrojeni de alarak H₂O₂ oluşturabilmektedirler. Bu da dördüncü reaksiyonda gösterildiği gibi daha da reaktif hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olabilmektedir. Hidrojen peroksit, süperoksit radikali, hidroksil radikali tümü hiperoksik doku harabiyetinden sorumlu olarak görülmektedirler. Oksijen radikal deyimi bu türlerin hepsinin yerine lipid peroksidasyonunu göstermek amacı ile kullanılabilir ⁽¹⁶⁾.

II. 2. Lipid Peroksidasyonu

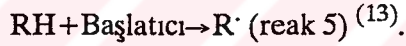
Aerobik hücrelerin normal metabolizmaları sırasında oksijen radikalleri oluşmaktadır. Ancak bu radikallerin üretimindeki artış veya dokularda bu radikalleri ortadan kaldıracı mekanizmaların azalması ya da yok olması serbest radikal harabiyetine bağlı bazı patolojik durumların ortaya çıkmasına yol açabilmektedir ^(29,53).

Artan lipid peroksitler akut myokard infarktüsü, travma, romatoik hastalıklar, diabetes mellitus, çeşitli hepatik hastalıklar, yanıklar, bazı hematolojik bo-

zukluklar ile ilaçlar, pestisidler ve metaller ile oluşan toksik reaksiyonlarda gösterilmiştir (31,52,53).

Doymamış yağ asitlerinin moleküler oksijen ile peroksidasyonu bir serbest radikal tarafından başlatılabilir. Radikaller oksidanlar veya redükthanlar gibi görev yapabilirler. Hücre membranları doymamış yağ asitlerinden zengin kaynaklardır ve serbest radikal atakları sonucu lipid peroksitlerini oluştururlar (42,53).

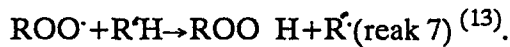
Lipid peroksidasyonu lipid molekülünün karbon atomunda çiftleşmemiş bir elektron bulunduracak şekilde metilen grubundan bir hidrojen çıkarılarak başlatılır (42). Başlangıç basamağında genellikle radikaller ışık, ısı, radyasyon veya metalin etkisi ile lipidlerden (RH) lipid radikallerini (R[•]) oluştururlar (reak 5) (13,53).



Lipid radikalleri oksijen ile hızla reaksiyona girerek lipid peroksi radikalini (ROO[•]) meydana getirirler (reak 6) (13,47,53).



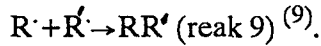
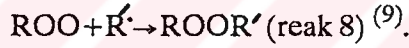
Lipid peroksi radikali diğer bir lipid molekülü ile etkileşir ve lipid molekülünden yeni bir hidrojen atomu alarak lipid hidroperoksit (ROOH) ve zincir reaksiyonu devam ettirecek olan yeni lipid radikalini oluşturur (reak 7) (13,47,53).



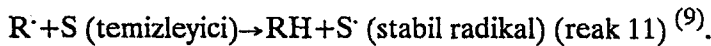
Uygun şartlar altında lipid radikali çeşitli radikal türlerini oluşturacak bir seri reaksiyonu tetikleyecektir. Bu serbest radikal reaksiyonlarında ilerleme basamağı olarak bilinmektedir ⁽⁹⁾.

Lipid peroksidasyonu olgusunda doymamış yağ asitlerinin yakındaki iki çift bağ arasındaki metilen gruplarından hidrojen atomunun çıkarılışı, lipid molekülünün diğer parçalarından çıkarılışından kolaydır. Bu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyona özellikle duyarlı olduklarını açıklamaktadır ⁽⁹⁾.

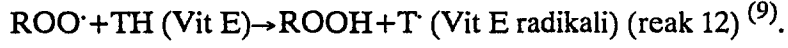
Serbest radikal reaksiyonlarının son basamağı bitiş reaksiyonlarından oluşmaktadır. Bitiş reaksiyonları çiftleşmemiş iki elektronun çiftleşmiş elektronlar oluşturmak üzere biraraya gelmesinden ibarettir. Bu da aktif olan serbest radikallerin inaktif hale gelmesine neden olmaktadır (reak 8,9,10). Yüksek oksijen konsantrasyonu nedeniyle eritrositlerde reaksiyon denklem 10'daki gibi olacaktır ⁽⁹⁾.



Bitiş reaksiyonları alternatif olarak radikal temizleyiciler tarafından da sonlandırılmaktadır. Radikal temizleyicileri serbest radikale bir elektron vererek etkisiz hale getirmekte ve inaktif stabil radikal oluşmaktadır (reak 11) ⁽⁴⁷⁾. Stabil temizleyiciler radikali radikal zincir reaksiyonlara katılmadığı için zararsızdır ⁽⁹⁾.



Vitamin E önemli bir serbest radikal temizleyicisidir ve reaksiyon 12'deki gibi etkileşime girer^(9,47).



II.3. Eritrosit Lipid Peroksidasyonu

Eritrositler, yapısında yüksek konsantrasyonlarda doymamış yağ asitleri, moleküler oksijen ve ligand durumunda ferrous (Fe^{++}) iyonlar içeren bütün biyolojik yapılardır⁽¹³⁾.

Yüksek oksijen basıncına maruz kalan, doymamış lipidlerden ve demirden (serbest radikal reaksiyonları için güçlü bir katalizör) zengin olan eritrositler serbest radikallerin intrasellüler ve ekstrasellüler kaynaklarının her ikisinde sürekli olarak maruz kaldıkları bir ortamda zorunlu olarak bulunmaktadır⁽⁹⁾.

Organizmada hergün total hemoglobinin %3'ü methemoglobine çevrilmektedir. Methemoglobin ise NADH bağımlı methemoglobin redüktaz tarafından tekrar oksihemoglobine indirgenmektedir. Oksihemoglobinden methemoglobine geçiş sonucunda sürekli olarak düşük düzeylerde süperoksit radikalleri üretilmektedir⁽¹³⁾. Eritrositler dışında granülositler, makrofajlar ve benzeri metabolik olarak aktif hücreler, ekstrasellüler ortama diffüze olabilen ve eritrositler ile etkileşebilen hidrojen peroksit ve süperoksit anyon üretmektedir^(9,13).

Eritrositler düzenli olarak serbest radikal riski altında bulduklarından, bu toksik türlere karşı kendilerini koruyacak mekanizmalar ile donatılmışlardır^(9,13). Bu sistemler katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz

gibi hücre içi enzim sistemleri ile okside proteinleri ortamdaki uzaklaştıracak proteolitik enzimler (α_2 , makroglobulin, C reaktif proteini, seruloplazmin, transferrin, apotransferrin, haptoglobulin), E ve C vitaminlerinden oluşmaktadır (9,13).

Olgun eritrositlerde lipid tamir olayları bulunmasına karşılık okside proteinleri tamir ya da yerine koyma sınırlıdır (9,10,25).

Serbest radikal etkilerine karşı eritrosit kendisini yeterince koruyamazsa eritrositin membran permeabilitesi ve yüzey antijenitesi değişmekte, hücresel deformabilite özelliği kaybolabilmektedir. Bütün bunlar sonuçta normal eritrositlerin hassaslaşmasına, değişik hemolitik anemiler ve hemoglobinopatilerde eritrositin parçalanmasının hızlanmasına neden olabilmektedir (9,11,12,27,36,39,51).

Hemoglobin, oksihemoglobini oluşturmak üzere oksijen bağlar. O_2 , hem'deki Fe^{2+} 'e reversible olarak bağlanır. İnvitro ya da invivo farklı ilaçlara ya da okside edici ajanlara maruz kalındığında moleküldeki ferrous demir (Fe^{2+}) ferrik demire (Fe^{3+}) dönüşür, methemoglobin oluşur. Süperoksit radikali ve peroksit oluşan sistemlerde hidroksil radikal oluşumu için uygun bir metal iyonun olayı başlatması gerekmektedir. İnvitro birçok metal iyonu (Cu, Ti,Co) etkili olmasına karşın invivo olarak demir iyonları çok daha fazla etkilidir. Bu nedenle hemoglobin, eritrosit lipid peroksidasyonunda ortama demir iyonu sağlayan ajan olarak görev yapmaktadır (13,25,31).

Lipid peroksidasyonuna duyarlı olduğu iyi bilinen membranların duyarlılıkları doymamış yağ asidi oranına bağlıdır. Örneğin mikrozomların doymamış yağ asidi miktarı artışı peroksidasyona duyarlılığı artırmaktadır. Lipozomlarla yapı-

lan çalışmalarda bu görüşü desteklemekte, bunun yanında kolesterol konsantrasyonunun artışı, peroksidasyonu baskılayıcı etki göstermektedir ⁽¹³⁾.

Arakidonik asit ve dokasoheksoneik asitin nisbi konsantrasyonları artışına bağlı olarak, eritrosit lipid peroksidasyonunda anlamlı artış bulunmaktadır (13,27).

II.4. Egzersiz ve Lipid Peroksidasyonu

Egzersiz vücut sistemlerinin bazal seviyedeki aktivite düzeylerinden daha fazla fonksiyon yapmak zorunda oldukları bir çalışmadır. Egzersizde en önemli faktör aktivitenin devamı için gerekli olan enerjinin elde edilmesidir. Egzersizin şiddetine göre enerji temini için kullanılan yöntemler değişmektedir ^(1,19). Egzersizde enerji temininde kullanılan en önemli yollardan birisi mitokondrial oksidatif fosforilasyondur ⁽¹⁹⁾.

Mitokondrial oksidatif fosforilasyon sırasında moleküler oksijene tek elektron bağlandığında süperoksit radikaller oluşmaktadır. Bazal metabolizma sırasında mitokondriden kaynaklanan bazı süperoksit radikalleri, oldukça reaktif hidroksil benzeri radikallerin oluşumunu başlatabilen demir ya da bakır katalizörlerinin bulunduğu sitozol içine sızabilmektedir ⁽¹⁷⁾.

Fiziksel egzersiz sırasında aerobik metabolik hız 10 katına ⁽¹⁸⁾, iskelet kasının oksijen kullanımını ise 100-200 katına kadar çıkabilmektedir ⁽²⁰⁾.

Yapılan çalışmalar; akut yüzme ve treadmill ile yapılan koşu egzersizi sonrası iskelet kasında, eritrositlerde, karaciğerde ve serumda lipid peroksidasyon

ürünlerinin arttığını göstermiştir (2,3,15). Özellikle hipoksik dokuların yeniden oksijenlenmesi sırasında membran lipidlerinin peroksidasyonu hücre fonksiyonlarında birçok değişikliklere yol açmaktadır. Membran permeabilitesinde artma, sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} transportunda azalma, mitokondrial fonksiyonlarda değişme, diğer toksik metabolitlerin oluşması ve hücrel glutatyon metabolizmasında değişiklikler olmaktadır (18,22,28,33).

Egzersizde kanın yeniden dağılımı ile bazı dokular hipoksik olabilmekte yeniden kanlanma sırasında bu dokular peroksidasyona daha duyarlı duruma gelmektedirler (33).

Egzersizde serbest radikallerin ve lipid peroksidasyonunun oluşmasında enerji temininde kullanılan maddelerin (glukoz gibi) tükenmesi ve hücrenin oksidasyon-redüksiyon olaylarındaki değişiklikler sorumlu tutulabilir. Çünkü serbest radikal temizleyici enzimlerin bir çoğunun NADH ya da NADPH bağımlı oldukları bilinmektedir (33).

Kas dokusunda egzersiz nedeni ile oluşan lipid peroksidasyonunun derecesi kasın lif tipine göre değiştiği birçok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (2,3,41).

Kırmızı iskelet kası, önemli oranlarda beyaz kas tipinden daha fazla peroksidasyona uğrayan lipid ihtiva etmektedir. Bu muhtemelen kırmızı iskelet kasının daha fazla mitokondri ihtiva etmesi nedeniyledir, çünkü mitokondri, yüksek oranlarda doymamış yağ asitleri ihtiva eden fosfolipidlerden zengin bir kaynaktır (2,8,41).

Akut egzersizin lipid peroksidasyonu artışına neden olduğu belirtilmesine karşın, kronik aerobik çalışmanın vücudun savunma kapasitesini artırarak lipid peroksidasyonunu azaltıcı yönde etkilediği iddia edilmektedir (2).

II.5. Egzersiz ve C vitamini

Askorbik asit olarak bilinen C vitamini insan sağlığı için son derece gereklidir. Askorbik asit yetersizliğinin yol açtığı skörbüte benzer bir hastalık ilk olarak eski Mısır'lılar tarafından tanımlanmasına karşın bu vitaminin önemi ancak 1753'lerde ortaya çıkmıştır (32).

Askorbik asit birçok metabolik olayda rol oynamaktadır. İkinci Dünya Savaşı'nda yapılan çalışmalarda yetersiz C vitamini alınımının fiziksel aktivite sırasında performansın düşmesine, anoreksiya ve kas ağrılarında artışa neden olduğu ortaya çıkmıştır (7).

Endurans tipteki egzersiz sırasında ve kısa süreli şiddetli egzersizde C vitamini alınımı kanda laktik asit üretimini düşürmektedir. Yeterli C vitamini alanlarda enfeksiyonlara duyarlılık azalmakta sıcaklığın tolere edilebilmesi ve oksijen kullanımı artmaktadır (7,45).

Askorbik asit aynı zamanda güçlü antioksidanlardan olan E vitaminin oksidasyonu sonucu oluşan vitamin E radikallerini tekrar E vitaminine indirgeyerek bir antioksidan olarak da görev yapmaktadır. Oluşan C vitamini radikalleri NADH bağımlı enzimler tarafından enzimatik olarak tekrar vitamin C'ye indir-

genebilmektedir ^(9,13). 0,5 mmol/L'den düşük konsantrasyonlardaki askorbik asit doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu başlatabilmektedir. 0,5 mmol/L'den fazla değerlerde güçlü antioksidan etkiye sahiptir ⁽²⁵⁾.

III. MATERYAL VE YÖNTEM

III.1. Araştırma Planı

Çalışmamızda ağırlıkları 182-212.4 gram arasında değişen ($\bar{X}=196.2 \pm 14.2$) 28 adet sıçan kullanıldı. Sıçanlar yedişerli dört gruba ayrıldılar.

Birinci grubu oluşturan yedi denek kontrol (K) grubu olarak seçildi ve hiçbir işlem uygulanmadı. 2., 3. ve 4. gruba seçilen denekler sırasıyla 1 saatlik (A), 1.5 saatlik (B) ve 2 saatlik (C) egzersiz gruplarını oluşturdular.

Denekler eter anestezisi altında bayılarak dekapite edildiler. Heparinli tüplere alınan kan numuneleri plazma C vitamini ve eritrosit MDA tayinleri için hemen çalışıldı. Deneklerin gastrokinemius (kas I), quadriseps femoris (vastus medialis) (kas II) ve triseps braki kasları çıkartıldıktan sonra serum fizyolojik ile yıkandı ve soğutulmuş %1.15'lik KCl içerisinde %10'luk doku homojenatları hazırlandı. Doku homojenatları çalışılincaya kadar derin dondurucuda saklandı.

III.2. Egzersiz Yöntemi

Deneklere yüzme egzersizi olarak Young ve arkadaşlarının yöntemi uygulandı ⁽⁵⁴⁾. Kısaca: 44 cm derinliğindeki silindirik kabın içi 34°C su ile dolduruldu

ve kuyruğuna vucut ağırlığının %2'si oranında ağırlık takılan denekler sırasıyla suya bırakıldılar. Denekler yuzme surelerini tamamladıktan sonra sudan cıkartıldılar ve dekapite edilerek kan ve doku 6rnekleri alındı.

III.3. Gereçler

Santrifuj: Nufefuj

Benmari: Nufe SB-100

Homojenizat6r: Vibromix

Spektrofotometre: Multin-Roy

Bu araştırmada kullanılan: Tiyobarbiturik asit (TBA), 2,4 dinitrofenilhidrazin, tiyo6re Sigma Chemical Company'den sağlandı. Deneylerde adı geçen diğer kimyasal maddelerin tamamı Merck firmasından sağlandı.

III.4. Tayin Y6ntemleri

III.4.i Doku Lipid Peroksit D6zeylerinin 6lçümü

Lipid peroksidasyon 6rünü olan MDA d6zeyleri Tiyobarbiturik asit (TBA) testi ile spektrofotometrik olarak belirlendi⁽⁴⁹⁾.

Rekatifler:

%0,6'lık TBA

%1'lik fosforik asit

n-butanol

%1,15'lik KCl

%1,15'lik soğuk KCl'deki %10'luk doku homojenatlarından 0,5 ml alınıp üzerine 3 ml %1'lik fosforik asit ve 1 ml %0,6'lık TBA solüsyonu ilave edildi. Karıştırıldıktan sonra 45 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. Tüpler soğutuldu, 4 ml n-butanol ilave edilip karıştırılarak 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra tüpün üst kısmındaki n-butanol fazı 535-520 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. İki absorbans arasındaki fark nmol/gr doku MDA düzeyi olarak kullanıldı (49).

III.4.ii Plazma Askorbik Asit Düzeylerinin Ölçümü

0,01 ml kanda askorbik asidin saptanması için tanımlanan 2,4 dinitrofenil hidrazin metodunun bir adaptasyonu kullanıldı(40).

Reaktifler:

2,4 dinitrofenilhidrazin-tiyüre-bakır sülfat solüsyonu

%65'lik H₂SO₄

%5'lik TCA

40 µl %5'lik TCA üzerine 10 µl plazma eklenip karıştırıldıktan sonra 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildi. 30 µl üst faz alınıp üzerine 10 µl 2,4 dinitrofenilhidrazin tiyüre-bakır sülfat solüsyonu eklendi ve iyice karıştırıldıktan sonra tüplerin üzeri parafilm ile kapatılıp 37°C su banyosunda 4 saat bekletildi. Her bir tüp soğuk su altında soğutulduktan sonra 50 µl soğuk %65'lik H₂SO₄ eklenip karıştırıldı. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 520 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüm yapıldı. Standart olarak 100 ml içinde 1 mg askorbik asit içeren solüsyon kullanıldı (40).

$$\text{Hesap; Askorbik Asit} = \frac{\text{Numune Optik Dansite}}{\text{Standart Optik Dansite}} \times \text{Standart Konsantrasyonu} = \text{mg AA/100 ml}$$

III.4.iii Eritrosit Lipid Peroksit Düzeylerinin Ölçümü

Reaktifler:

Tamponlanmış tuzlu su

%26'lik Azitli tampon

TCA-Arsenit

%0,033'lük 9M Hidrojen peroksit

%1'lik TBA solüsyonu

Taze olarak alınan heparinli kan 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Plazma, C vitamini ölçümü için ayrıldı. Geriye kalan hücresel kısım %0,9 NaCl ile birkez yıkandı ve tekrar santrifüj edildi. Hücre süspansiyonundan 1,5 ml alındı, hemoglobin tayini yapıldı ve 30 mg/ml hemoglobin olacak şekilde azitli tampon ile sulandırıldı. Bu karışımdan 5 ml alındı, üzerine 5 ml hidrojen peroksit eklendi ve 37C° su banyosunda 2 saat bekletildi. Su banyosundan sonra hücre süspansiyonundan 3 ml alınıp üzerine 2 ml TCA-Arsenit solüsyonu ilave edildi. Karışım daha sonra santrifüj edilerek oluşan üst fazdan 3 ml alınıp 1 ml TBA solüsyonu kondu. Karışım 15 dakika kaynar su banyosunda bekletildikten sonra tüpler soğutuldu ve 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Okunan değeri x 950 = nmol MDA/gr Hb olarak kullanıldı^(43,44).

Sonuçlar "Student's t-test" ile değerlendirildi.

IV. BULGULAR

Kontrol, 1,1.5 ve 2 saatlik yüzme egzersizi sonrası eritrosit Malondialdehyde (MDA) değerleri tablo 1'de görülmektedir. Tabloda da görüldüğü gibi 1,1.5 ve 2 saatlik yüzme egzersizi sonrası lipid peroksidasyon göstergesi olarak kabul edilen eritrosit MDA düzeylerinde kontrollere oranla bir değişiklik gözlenmemektedir.

Grupların plazma C vitamini değerleri Tablo 2'de görülmektedir. Tabloda da görüldüğü gibi plazma C vitamini değerlerinde her üç egzersiz grubunda da kontrollere oranla egzersiz süresi ile orantılı bir düşme gözlenmektedir. A grubunda %10.2, B grubunda %37.2 ve C grubunda da %59.58'lik düşüşler saptandı. A grubundaki düşüş istatistiksel olarak ($p>0.05$) anlamsız iken B ve C gruplarındaki düşüşler (sırasıyla: $p<0.025$ ve $p<0.001$) anlamlı bulundu. B grubunda A grubuna oranlarda %30'luk bir düşme vardı ve bu sonuçta ($p<0.025$) anlamlı idi. C grubundaki düşüşler A grubuna oranla %55, B grubuna oranla %36 olarak gözlemlendi ve her iki sonuçta istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.005$ ve $p<0.05$).

Grupların hemoglobin değerleri Tablo 3'de görülmektedir. Tabloda da görüldüğü gibi hemoglobin değerlerinde A grubunda %4.2, B grubunda %14.6, C grubunda %9.2'lik artışlar gözlemlendi. A grubundaki artış anlamsız ($p>0.05$), B ve

C grubundaki artışlar istatistiksel olarak anlamlı (sırasıyla: $p < 0.025$ ve $p < 0.05$) bulundu.

Kontrol, A,B ve C grubu kas dokusu MDA değerleri Tablo 4'de görülmektedir. Tabloda da görüldüğü gibi, gastrokinemius (kas I), quadriseps femoris vastus medialis (kas II) ve triseps braki (kas III) olmak üzere her 3 kas grubunda da egzersiz sonrası MDA düzeylerinde egzersiz süresi ile orantılı bir şekilde artış görülmektedir.

	K	A	B	C
MDA (nmol MDA/g Hb)	$\bar{X} \pm SD$ 1782 \pm 212* (n=7)	$\bar{X} \pm SD$ 1727 \pm 154* (n=7)	$\bar{X} \pm SD$ 1797 \pm 177* (n=7)	$\bar{X} \pm SD$ 1766 \pm 231* (n=7)
	*p>0.05			

Tablo 1. Kontrol (K), 1 saatlik (A), 1.5 saatlik (B) ve 2 saatlik (C) yüzme grupları ortalama eritrosit Malondialdehyde (MDA) değerleri

	K	A	B	C
C vitamini (mg /100 ml)	$\bar{X} \pm SD$ 1.37 \pm 0.21 (n=6)	$\bar{X} \pm SD$ 1.23 \pm 0.206 (n=6)	$\bar{X} \pm SD$ 0.86 \pm 0.24* (n=6)	$\bar{X} \pm SD$ 0.55 \pm 0.19** (n=6)
	*p<0.025		**p<0.001	

Tablo 2. Kontrol (K), 1 saatlik (A), 1.5 saatlik (B) ve 2 saatlik (C) yüzme grupları ortalama plazma C vitamini düzeyleri

	K	A	B	C
Hemoglobin	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
(g /dl)	10.6 ± 1.07	11.05 ± 0.6	12.48 ± 0.9*	11.58 ± 0.5**
	(n=7)	(n=6)	(n=6)	(n=6)
	*p<0.025	**p<0.05		

Tablo 3. Kontrol (K), 1 saatlik (A), 1.5 saatlik (B) ve 2 saatlik (C) yüzme grupları ortalama Hemoglobin değerleri

Kas I MDA değerleri A grubunda %21, B grubunda %45, C grubunda %64 artma gösterirken bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı (sırasıyla: $p < 0.01$, $p < 0.005$, $p < 0.001$) bulundu.

Kas II MDA değerlerinde A grubunda %15, B grubunda %36.87, C grubunda %48.27'lik artışlar gözlemlendi ve bu sonuçlarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla: $p < 0.05$, $p < 0.005$, $p < 0.005$).

Kas III MDA değerlerinde A grubunda %40.47, B grubunda %46.6, C grubunda ise %107.3'lik artışlar gözlemlendi. Bu sonuçlarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla: $p < 0.005$, $p < 0.005$, $p < 0.001$).

Gruplar	Kas I	Kas II	Kas III
	(nmol MDA/gr doku) $\bar{X} \pm SD$	(nmol MDA/gr doku) $\bar{X} \pm SD$	(nmol MDA/gr doku) $\bar{X} \pm SD$
K	29.58 \pm 3.14 (n=7)	32.54 \pm 3.33 (n=7)	29.6 \pm 3.99 (n=7)
A	36 \pm 4.95** (n=6)	37.5 \pm 4.4* (n=6)	41.58 \pm 5.7*** (n=6)
B	43.02 \pm 10.6*** (n=5)	44.54 \pm 4.07*** (n=5)	43.41 \pm 5.17*** (n=5)
C	48.75 \pm 3.94**** (n=6)	48.25 \pm 3.9*** (n=6)	61.38 \pm 8.9**** (n=6)

K= Kontrol, A= 1 saatlik, B= 1.5 saatlik, C= 2 saatlik yüzme grupları.

Kas I= Gastrokinemius, kas II= quadriseps femoris (vastus medialis), kas III= Triseps braki.

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.005, ****p<0.001

Tablo 4. Kontrol, A, B ve C grubu Kas I,II ve III MDA düzeyleri

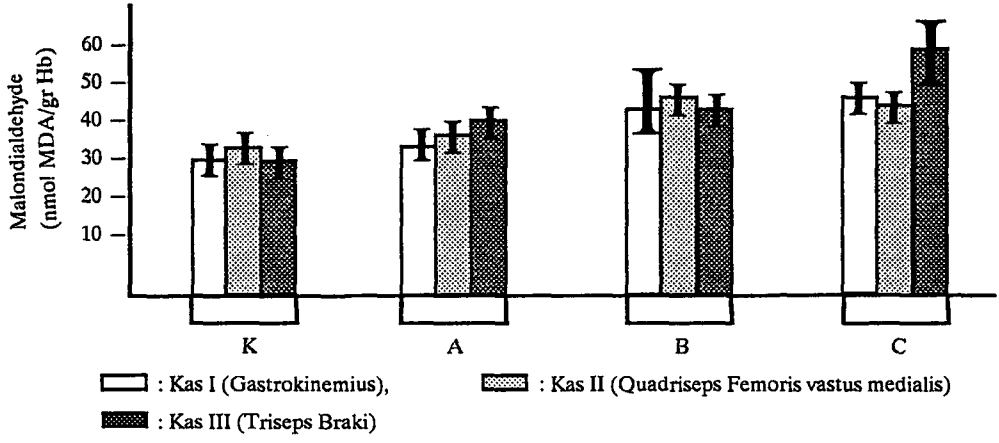
TARTIŞMA VE SONUÇ

Şekil 1'de de görüldüğü gibi bu çalışma sonunda A,B,C olmak üzere her 3 egzersiz grubunda da kas dokusu MDA düzeylerinde egzersiz sonrası, kontrol- lere oranla anlamlı artışlar bulunmuştur. Çalışmamızda kullanılan TBA testi dokulardaki lipid peroksit miktarlarının belirlenmesi amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır^(3,15). MDA düzeylerinin ölçümü lipid peroksidasyon açısından önemli bir göstergedir⁽³⁾.

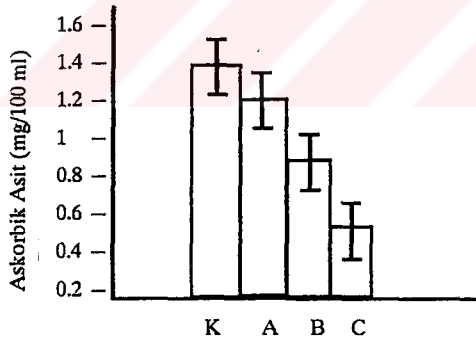
İskelet kaslarında egzersiz sonrası MDA düzeylerinin arttığına ilişkin yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır^(3,6,15,33,41,46). Alessio ve arkadaşları sıçanlarda orta şiddetteki bir koşu egzersizinden sonra beyaz-hızlı kaslarda %90, kırmızı-hızlı kaslarda %62'lik MDA artışı bulmuşlar, kırmızı-yavaş kaslarda ise artış saptamamışlardır. Aynı çalışma grubu yüksek şiddetteki egzersiz sonrası beyaz-hızlı kaslarda %157, kırmızı-hızlı kaslarda %167, yavaş-kırmızı kaslarda %83'lük MDA artışı bulmuşlardır⁽³⁾.

Davies ve arkadaşlarında maksimal bir koşu egzersizi sonrası gastrokine- mius, soleus ve plantar kaslarında ortalama %80'lik MDA artışı bulmuşlardır⁽¹⁵⁾. Brady ve arkadaşları kas ve karaciğerde yüzme egzersizi sonrası lipid pe- roksidasyonunda anlamlı artışlar bulmuşlardır⁽⁶⁾.

Salminen ve Vihko'da koşu egzersizi sonrası kas dokusu MDA miktarlarının da anlamlı artışlar bulmuşlar ve artışın beyaz kaslarda daha fazla olduğunu göstermişlerdir⁽⁴¹⁾.



Şekil 1. Kontrol (A), 1 saatlik (A), 1.5 saatlik (B) ve 2 saatlik (C) yüzme grubu kas I,II,IIIMDA düzeyleri



Şekil 2. K,A,B ve C grubu plazma C vitamini düzeyleri

Literatür bulguları ve sonuçlarımız göstermiştir ki akut maksimal egzersiz lipid peroksidasyonu hızlandırmaktadır. Bunun yanında egzersiz nedeni ile

oluşan lipid peroksidasyonun derecesi; kullanılan metodun farklılığına, egzersizin yoğunluğuna, süresine ve deneğin kondüsyon durumuna göre de değişebilmektedir⁽³³⁾.

Yapılan çalışmalarda ve çalışmamızda bulunan artışların derecesinin farklı olması yukarıdaki görüşü desteklemektedir.

Genel olarak deney hayvanlarında egzersiz yöntemi olarak yüzme ve treadmill kullanılmaktadır. Treadmil ile yapılan çalışmalarda MDA artışları daha fazla bulunmaktadır. Sonuçlarımızın literatür bulgularına oranla daha düşük düzeylerde artışlar şeklinde oluşu egzersiz metodundan kaynaklanabilmektedir.

Akut egzersizde lipid peroksidasyonu artışı için biribiri ile ilişkili birçok neden ileri sürülmektedir. Egzersiz sırasında artan oksijen kullanımı artmış mitokondrial O_2^- üretimine ve hemoglobin otooksidasyonuna neden olmaktadır^(15,18). Akut egzersizde kimi dokularda iskemi meydana gelmektedir. Bu dokuların yeniden kanlanması sırasında ksantin oksidaz sistemi tarafından serbest radikallerin üretilebildiği Kellog ve Fridowich tarafından gösterilmiştir. Bu nedenle akut egzersizde mitokondrial solunum zinciri yanında ksantin oksidaz sistemi tarafından da O_2^- üretilebilmektedir^(30,35,38,46).

Artan süperoksit radikalleri lipid peroksidasyonuna ve sonuçta doku harabiyetine neden olabilmektedir⁽¹⁸⁾.

Egzersiz şiddeti arttıkça çalışan kaslar tarafından daha fazla laktik asit üretilmektedir. Maksimal iş yükünde laktat oluşum hızı, ortamdan uzaklaştırılma

hızından daha fazla olduğu için sitoplazmik NADH ve NADPH konsantrasyonlarında bir düşüş görülmektedir. Sonuç olarak maksimal egzersizde serbest radikal temizleyici katalaz, SOD ve glutatyon peroksidaz gibi hücre içi enzimlerin aktivitesi azalmakta ve serbest radikal oluşturucu maddeler ortamda birikebilmektedir⁽³³⁾.

Maraton yarışından sonra kasta okside glutatyon (GSSG) düzeylerinde anlamlı artışlar bulmuşlar ve NADPH yetersizliğini olası bir neden olarak göstermişlerdir⁽³³⁾.

Hipoksik dokular gibi sistemlerde glikolitik yoldaki maddelerin tükenmesine neden olan herhangi bir stres NADH ve NADPH oluşumunda azalmaya neden olabilmektedir⁽³³⁾.

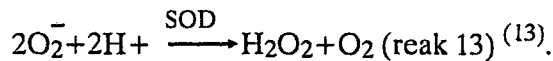
Kas dokusunda oluşan lipid peroksidasyonun derecesi kasın lif tipine göre değişmektedir. Alessio ve arkadaşları beyaz kaslarda MDA miktarlarını kırmızı kaslardan daha yüksek bulmuşlardır⁽³⁾. Salminen ve Vihko'da beyaz kaslarda lipid peroksidasyon hızını kırmızı kaslardan daha yüksek bulmuşlardır⁽⁴¹⁾. Çalışmamızda kullanılan her 3 kasın lif tipi oranı şu şekildedir: Gastrokinemius'ta %27 hızlı-oksidatif glikolitik (beyaz-kırmızı lif) %60 hızlı-glikolitik (beyaz lif), %13 oranında yavaş-oksidatif (kırmızı lif); quadriceps femoris vastus medialis'te %12 hızlı-oksidatif-glikolitik (beyaz-kırmızı lif), %86 hızlı glikolitik (beyaz lif), %2 yavaş oksidatif (kırmızı lif); triceps braki'de ise beyaz liflerin oranı diğer kol kaslarından %20-30 daha fazladır^(1,4). Görüldüğü gibi her 3 kastada aynı lif türü (beyaz lif) çoğunlukta olmasına karşın MDA artışları birbirinden farklıdır. Bu da yüzme egzersizinde kasların aktivite derecelerinin farklı olmasına bağlanabilir. Bu durumda sıçanlarda yüzme egzersizinde üst extremite kasları alt

extremiteden daha aktif denilebilir. Bu belkide üst ekstremitenin toplam kas kitlesinin küçük olması nedeni ile su üzerinde kalmak için birim zamanda yapılması gereken hareket sayısının fazla olmasından kaynaklanabilir.

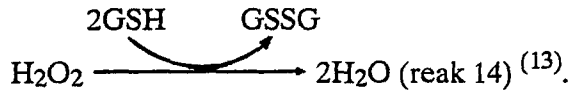
Kırmızı kaslar membranlarında peroksidasyona uğrayacak yüksek konsantrasyonlarda doymamış yağ asidi içeren çok sayıda mitokondriye sahiptir. Ancak beyaz kaslarda mitokondri sayısının az olmasına karşılık peroksidasyonun daha yüksek bulunduğu gösterilmiştir (33,41). Bu farklılığın nedeni, kırmızı kaslarda egzersiz sırasında kasa yeterli oksijen ve besin maddeleri sağlayacak ve kasta oluşan laktik asit gibi metabolitleri ortamdaki uzaklaştırarak kapiller dolaşımın iyi gelişmiş olmasına bağlanabilir. Yapılan çalışmalar sonunda laktik asitin ortamdaki uzaklaştırılma hızının kırmızı liflerin dağılımı ile etkilendiği gösterilmiştir(26,33,41).

Eritrosit lipid peroksidasyonunda egzersizi takiben bir değişiklik gözlenmedi. Bunun nedeni olarak eritrositlerin otooksidasyonu *invivo* olarak durdurabilen son derece etkili koruyucu antioksidan savunma mekanizmalarına sahip olmaları gösterilebilir (13). Bunlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz gibi hücre içi enzimleri ile plazmada bulunan vitamin E,C, seruloplazmin, transferrin, apotransferrin ve haptoglobulindir(13).

Süperoksit radikallerinin spontan yıkılımı süperoksit dismutaz enzimi tarafından oldukça hızlandırılmaktadır (reak 13) (13).



Oluşan H₂O₂ redükte glutatyon ve katalaz tarafından elimine edilmektedir, ancak eritrositlerde katalazın rolü kesin değildir (reak 14) ⁽¹³⁾.



Redükte/okside glutatyon (GSH/GSSG) oranları arasında egzersiz sonrası azalma birçok çalışmada bildirilmiştir^(18,22). Bu azalma antioksidan savunmada redükte glutatyonun son derece fonksiyonel olduğunu göstermektedir⁽¹⁸⁾.

Akut egzersiz sonrası SOD miktarlarında herhangi bir değişiklik gözlenmemekle birlikte düzenli ve uzun süreli egzersiz eğitimi sonrası SOD miktarlarında bir artış meydana gelmektedir ⁽²⁾.

Duthie ve arkadaşları 21.1 km'lik yarı maraton sonrası eritrosit lipid peroksidasyonunda yarıştan sonraki 5. dakikada herhangi bir değişiklik gözlememişler fakat 48. saatte maksimal olmak üzere 24. saatten itibaren artışlar bulmuşlardır ⁽¹⁸⁾. Çalışmamızda egzersizden hemen sonra alınan kan örneklerinden elde edilen bulgular bu çalışma ile uyumluluk göstermektedir.

Egzersiz sonrası hemoglobin değerlerinde B ve C gruplarındaki anlamlı artışlar literatür ile uyumlu bulundu ^(1,18). Bu artışın nedeni; "Egzersiz sırasında bir kısım sıvı damarları terkederek dokular arasına çıkar ve kanda eritrosit, hemoglobin ve plazma proteinleri yoğunluğu artar ⁽¹⁾" şeklinde açıklanabilir. Özellikle şiddetli egzersizlerde sistolik kan basıncının artması ve böylece kılcal damarların arteriyel tarafından dokulara sıvı filtrasyonunun çoğalmasında sıvı çıkışı belirgin bir şekilde artırır ⁽¹⁾. Fakat B grubundaki hemoglobin artışının

%14.6 olmasına karşın C grubunda %9.2 olarak bulunuşu egzersizin süresi ile açıklanabilir. Egzersizin süresi arttığı oranda organizmada kompanse edici mekanizmalar harekete geçerek damar dışına çıkan sıvı tekrar damar içine dönmektedir ⁽¹⁾.

Çalışmada bulunan plazma askorbik asit kontrol grubu değerleri Levine ve Morita'nın bildirdikleri rat plazma askorbik asit değerleri ile uygunluk göstermektedir ⁽³²⁾.

Şekil 2'de de görüldüğü gibi egzersiz gruplarında egzersizden hemen sonra plazma C vitamini konsantrasyonlarında kontrollere oranla egzersiz süresine bağlı anlamlı düşüşler gözlenmektedir.

Yapılan çalışmalar özellikle yoğun endurans aktivitesinin sonucu olarak vücut C vitaminin tükenebildiğini göstermiştir ^(7,21). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda askorbik asitin egzersizden sonra karaciğer ve adrenal bezlerden tekrar salındığı gösterilmiştir ⁽⁷⁾.

Düzenli egzersiz eğitimi sonrası antrene edilen deneklerde plazma, iskelet kası ve karaciğer lipid peroksit düzeyleri antrene olmayan deneklerden daha düşük bulunmaktadır ^(2,41).

Sonuç olarak akut yüzme egzersizi; quadriseps femeris vastus medialis, gastrokinemius ve triseps braki kaslarında MDA düzeyini artırmakta, plazma C vitamini düzeyini düşürmekte, eritrosit MDA düzeyinde değişiklik yaratmamaktadır. Literatür bulguları ve sonuçlarımız göstermiştir ki; insan sağlığı açısından yapılması kaçınılmaz gibi görünen egzersizin yol açtığı serbest radikal kaynaklı

doku harabiyetinin önlenmesi ve egzersizden beklenen faydanın sağlanabilmesi için düzenli ve devamlı olarak, orta şiddette yapılması, E ve C vitamini gibi güçlü antioksidanların diyet ile yeterli miktarlarda alınması gerekmektedir.



VI. ÖZET

Akut egzersiz aerobik hücrelerin bazal metabolizmaları sırasında mitokondri tarafından üretilen serbest radikallerin daha fazla oluşmasına neden olabilir. Serbest radikaller radikal zincir reaksiyonlarına katılarak lipid peroksidasyonuna ve serbest radikal hasarından kaynaklanan bazı patolojik durumlara neden olurlar.

Malondialdehyde (MDA) düzeylerinin ölçümü oksidatif doku hasarının bir kriteri olarak dokuların lipid peroksit miktarlarını hesaplamada kullanılmaktadır. Kaslar ve kırmızı kan hücreleri egzersizde çok önemli rollere sahiptirler ve her ikisi de serbest radikal ataklarına maruz kalmaktadırlar. Askorbik asit güçlü bir antioksidan ve performansı artırıcı özelliğindedir.

Bu çalışmanın amacı gastrokinemius, quadriseps femoris vastus medialis, triseps braki kaslarının ve eritrositlerin MDA düzeylerine akut egzersizin etkilerini incelemektir. MDA düzeylerine ilaveten akut yüzme egzersizi sonrası askorbik asit düzeylerini araştırdık.

Akut yüzme egzersiz periyodları ile orantılı olarak kas MDA düzeyleri anlamlı olarak arttı, plazma askorbik asit düzeyleri anlamlı olarak düştü ve eritrosit MDA düzeyleri değişmedi.

Çalışmada sonuç olarak akut yüzme egzersizinin kaslarda lipid peroksidasyonu artırdığı, plazma askorbik asit düzeylerini düşürdüğü fakat eritrositlerde lipid peroksidasyonunu etkilemediği sonucuna varıldı.

VII. SUMMARY

Acute exercise may induce a greater generation of free radicals that may be produced in mitochondria during basal metabolism of aerobic cells. In turn, free radicals participate in radical chain reactions that lead to lipid peroxidation and to some pathological cases which result from free radical damage.

The measurement of Malondialdehyde (MDA) levels are used to estimate lipid peroxide content of tissues as a criterion of oxidative tissue damage. Muscles and red blood cells have very important roles in exercise and both are exposed to free radical attacks. Ascorbic acid is a strong antioxidant agent which also increases performance.

The purpose of this study is to investigate the effects of acute exercise on MDA levels of gastrocnemius, quadriceps femoris vastus medialis and triceps brachii muscles and erythrocytes. In addition to MDA levels we have investigated the ascorbic acid levels of rats following acute swimming exercise.

Acute swimming exercise periods were found significantly proportional to the increased levels of muscle MDA, and to the decreased levels of plasma ascorbic acid but the levels of erythrocyte MDA did not change.

As a result we conclude that acute swimming exercise increases lipid peroxidation and decreases plasma ascorbic acid levels in muscles but does not affect lipid peroxidation in erythrocytes.

KAYNAKLAR

1. AKGÜN N.: Egzersiz Fizyolojisi, 3. Baskı, Cilt II, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir (1989).
2. ALESSIO, H.M., GOLDFARB, A.H.: Lipid Peroxidation and Scavenger Enzymes During Exercise: Adaptive Response to Training, *J. Appl. Physiol.*, 64(4), 1333-1336 (1988).
3. ALESSIO, H.M., GOLDFARB, A.H.: MDA Content Increases in Fast and Slow-Twitch Skeletal Muscle With Intensity of Exercise in a Rat, *Am. J. Physiol.*, 255(24), C874-C877 (1988).
4. ARMSTRONG, R.B., PHELPS, R.O.: Muscle Fiber Type Composition of The Rat Hindlimb, *Am. J. Anatomy*, 171,259-272 (1984).
5. ASTRAND, P.O., RODAHL, K.: *Textbook of Work Physiology: Physiological Bases of Exercise*, Third Edition, McGraw-Hill Book Company, Singapore (1986).
6. BRADY, P.S., BRADY L.S., ULLREY, D.E.: Selenium, Vitamin E and The Response to Swimming Stress In the Rat, *J. Nutr.*, 109, 1103-1109 (1979).
7. BROUNS, F., SARIS, N.: How Vitamins Affect Performance, *J. Sport Med.*, 29(4), 400-404 (1989).
8. CHANG, B., SIES, H., BOVERIS, A.: Oxygen Toxicity and Defence Against Oxygen-Reduction Products, *Physiol. Rev.*, 59, 574-605 (1979).
9. CHIU, D., KUYPERS, F., LUBIN, B.: Lipid Peroxidation in Human Red Cells, *Sem. Hematol.*, 26(4) 257-276 (1989).
10. CIANCARELLI, T., DIMANSSIMO, M.G., D'ORAZIOL, L., MASCIOLI, M.C., DIGIULIO, A., TOZZI, E.: Effect of Exogenous Hydrogen Peroxide on Human Erythrocytes, *Cell. Mol. Biol.*, 36(1), 57-64 (1990).

11. CLEMENS, M.R., EINSELE, H., REMMER, H.: Alcohol Consumption and Hepatic Fibrosis Affect the Fatty Acid Composition of Red Blood Cells and Their Susceptibility to Lipid peroxidation. *Arch. Toxicol.*, 60, 167-169 (1987).
12. CLEMENS, M.R., EINSELE, H., REMMER, H., WALLER, H.D.: Decreased Susceptibility of Red Blood Cells to Lipid Peroxidation In Patients With Alcoholic Liver Cirrhosis, *Clin. Chim. Acta.*, 145, 283-288 (1985).
13. CLEMENS, M.R., WALLER, H.D.: Lipid Peroxidation In Erythrocytes, *Chemistry and Physics of Lipids*, 45, 251-268 (1987).
14. DAVIES, K.J.A., PACKER, L., BROOKS, G.A.: Biochemical Adaptation of Mitochondria, Muscle and Whole-Animal Respiration to Endurance Training, *Arch. Biochem. Biophys.*, 209(2), 539-554 (1981).
15. DAVIES, K.J.A., QINTANILHA, A.T., BROOKS, G.A., PACKER, L.: Free Radicals and Tissue Damage Produced by Exercise, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 107(4), 1198-1205 (1982).
16. DENEKE, S.M., FANBURG, B.L.: Normobaric Oxygen Toxicity of the Lung. *The N. Eng. J. Med.*, 303(2), 76-86 (1980).
17. DILLARD, C.J., LITOV, R.E., SAVIN, N.M., DUMELIN, E.E., TAPPEL, A.L.: Effect of Exercise, Vitamin E, and Ozone on Pulmonary Function and Lipid Peroxidation, *J. Appl. Physiol.*, 45(6), 927-932 (1978).
18. DUTHIE, G.G., ROBERTSON, J.D., MAUGHAN, R.J., MORRICE, P.C.: Blood Antioxidant Status and Erythrocyte Lipid Peroxidation Following Distance Running, *Arch. Biochem. Biophys.*, 282(1), 78-83 (1990).
19. FOX, L.E., BOWERS, R.N., FOSS, M.L.: *The Physiological Basis of Physical Education and Athletics*, Fourth Edition, W.M.C.Brown Publishers Dubuque, Iowa (1989).

20. GANONG, W.F.: Review of Medical Physiology, Fourteen Edition, Middle East Edition, ISBN:0-8385-8429-2, Appleton and Lange, Los Altos, California (1989).
21. GOHIL, K., ROTHFUSS, L., LANG, J., PACKER, L.: Effect of Exercise Training on Tissue Vitamin E and Ubiquinone Content. *J. Appl. Physiol.*, 63(4), 1638-1641 (1987).
22. GOHIL, K., VIGUIE, C., STANLEY, N.C., BROOKS, G.A., PACKER L.: Blood Glutathione Oxidation During Human Exercise, *J. Appl. Physiol.*, 64(1), 115-119 (1988).
23. GUYTON, A.L.: Textbook of Medical Physiology, Eighth Edition, ISBN: 0-7216-3994-1, N.B. Saunders Company(1991).
24. HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C.: Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. *Biochem. J.*, 219, 1-14 (1984).
25. HERSKO, L.: Mechanism of Iron Toxicity and Its Possible Role in Red Cell Membrane Damage, *Sem. Hematol.*, 26(4), 277-288 (1989).
26. HOCHACHKA, P.V., NEELY, J.R., DRIEDZIC, W.R.: Integration of Lipid Utilization With Krebs Cycle Activity in Muscle, *Fed. Proc.*, 36, 2009-2014 (1977).
27. JAIN, S.K.: Hyperglycemia Can Cause Membrane Lipid Peroxidation and Osmotic Fragility in Human Red Blood Cells, *J. Biol. Chem.*, 284(35), 21340-21345 (1989).
28. KANTER, M.M., LESMEN, G.R., KAMINSKY, L.A., SAEGER, J.L.H., NEURIN, N.D.: Serum Creatine Kinase and Lactate Dehydrogenase Changes Following an Eighty Kilometer Race, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 57, 60-63 (1988).
29. KAPPUS, H., SIES.H.: Toxic Drug Effects Associated With Oxygen Metabolism: Redox Cycling and Lipid Peroxidation, *Experientia*, 37(12), 1233-1358 (1981).
30. KELLOG, E.W., FRIDOWICH, I.: Superoxide, Hydrogen Peroxide, and Singlet Oxygen in Lipid Peroxidation by Xanthine Oxidase System. *J. Biol. Chem.* 250 (22), 8812-8817 (1975).

31. KO, K.M., GODIN, D.U.: Ferric Ion-Induced Lipid Peroxidation in Erythrocyte Membranes: Effects of Phytic Acid and Butylated Hydroxytoluene. *Moll. Cell. Biochem.*, 95, 125-131 (1990).
32. LEVINE, M., MORITA, K.: Ascorbic Acid in Endocrine Systems, Vitamins and Hormones, Vol, 42, 1-64 (1985).
33. LOVLIN, R., COTTLE, W., PYKE, I., KAVANAGH, M., BELCASTRO, A.N.: Are Indices of Free Radical Damage Related to Exercise Intensity, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 56, 313-316 (1987).
34. MCCAY, P.B.: Physiological Significance of Lipid Peroxidation, *Fed. Proc.*, 40(2), 1173 (1981).
35. MCCORD, J.M.: Oxygen Derived Free Radicals In Post Ischemic Tissue Injury, *N. Engl. J. Med.*, 312(3), 159-163 (1985).
36. MIGUEL, A., LINARES, M., LINARES, M., PEREZ, A., MOLL, R., SANHIS, J., ESCOBEDO, J.M., BORJA, J.M.: Evidence of an Increased Susceptibility to Lipid Peroxidation in Red Blood Cells of Chronic Renal Failure Patients, *Nephron*, 50, 64-65 (1988).
37. MURRAY, R.K., MAYES, P.A., GRANNER, D.K., RODWELL, V.W.: *Harper's Biochemistry, Twenty-Second Edition*, Appleton and Lange, Los Altos, California, ISBN: 0-8385-3654-9 (1991)
38. OHMORI, H., KOMORIYA, K., AZUMA, A., HASHIMOTO, Y., KUROZUMI, S.: Xanthine Oxidase-Induced Foot Edema in Rats: Involvement of Oxygen Radicals, *Biochem. Pharmacol.*, 27, 1397-1400 (1978).
39. PFAFFEROTT, C., MESIELMAN, H.J., HOCHSTEIN, P.: The Effect of Malondialdehyde on Erythrocyte Deformability, *Blood*, 50(1), 12-15 (1982).
40. ROE, H.R.: Ascorbic Acid in "The Vitamins" (GYORGY, D., PEARSON, W.N., ED.) Vol. VII, Academic Press, New York and London (1967).

41. SALMINEN, A., VIHKO, V.: Endurance Training Reduces the Susceptibility of Mouse Skeletal Muscle Lipid Peroxidation in Vitro, *Acta Physiol. Scand.*, 117, 109-113 (1983).
42. SALTMAN, P.: Oxidative Stress: A Radical View, *Sem. Hematol.*, 26(4), 249-256 (1989).
43. STOCKS J., DORMANDY, T.L.: The Autoxidation of Human Red Cell Lipids Induced by Hydrogen Peroxide, *British Journal of Haematology*, 20, 95-109 (1971).
44. STOCKS, J., OFFERMAN, E.L., MODELL, C.B., DORMANDY, T.L.: The Susceptibility to Autoxidation of Human Red Cell Lipids in Health and Disease, *British Journal of Haematology*, 23, 713-724 (1972).
45. STRYDOM, N.B., KOTZE, H.F., VADERVALT, W.H.: Effect of Ascorbic Acid on Rate of Heat Acclimatization, *J. Appl. Physiol.*, 41(2), 202-205 (1976).
46. SUMIDA, S., TANAKA, K., KITAO, H., NAKADOMO, F.: Exercise Induced Lipid Peroxidation and Leakage of Enzymes Before and After Vitamin E Supplementation, *Int. J. Biochem*, 21(8), 835-838 (1989).
47. TAPPEL, A.L., DILLARD, C.J.: In Vivo Lipid Peroxidation: Measurement Via Exhaled Pentane and Protection by Vitamin E, *Fed. Proc.*, 40(2), 174-178 (1981).
48. TIEN, M., SVINGEN, B.A., AUST, S.B.: Superoxide Dependent Lipid Peroxidation, *Fed Proc.*, 40(2), 179-181 (1981).
49. UCHIYAMA, M., MIHARA, M.: Determination of Malondialdehyde Precursor in Tissues by Thiobarbituric Acid Test, *Analytical Biochemistry*, 86, 271-279 (1978).
50. VIHKO, V., SALMINEN, A., RANTAMAKI, J.: Oxidative and Lysosomal Capacity in Skeletal Muscle of Mice After Endurance Training of Different Intensities, *Acta. Physiol. Scand.*, 74-81 (1978).

51. YALÇIN, A.S., YURTKURAN, M., DILEK, K., KILINÇ, A., TAGA, Y., EMERK, K.: The Effect of Vitamin E Therapy on plazma and Erythrocyte Lipid Peroxidation in Chronic Hemodialysis Patinets, Clin. Chim. Acta., 185, 109-112 (1989).
52. YAGI, K.: Lipid Peroxidase and Human Disease, Chem. Physic of Lipids., 45, 337-351 (1987).
53. YENİKAYA, E.: Beyin Tümörlü Hastalarda Serum ve Doku Lipid Peroksidasyonu ile Serum Askorbik Asit ve Demir Düzeylerinin İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, Gazi Üniv. Tıp Fakültesi, Biokimya Anabilim Dalı, Ankara (1990).
54. YOUNG, D.A., HERIKSSON, H.N., SLEEPER, M.D., HOLLOSZY, J.O.: Reversal of the Exercise-Induced Increase in Muscle Permeability to Glucose, Am. J. Physiol., 253(16), E 331-335 (1987).

IX. ÖZGEÇMİŞ

1968 yılında Çiçekli Köyü-İZNİK'te doğdum. İlk öğrenimimi Çiçekli Köyü İlk okulu'nda yaptım. Orta ve lise öğrenimimi İznik'te tamamladım. 1985 yılında Hacettepe Üniversitesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu'na girdim, 1989 yılında mezun oldum. Aynı yıl Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans programına başladım. 1990 yılında aynı enstitü ve anabilim dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladım ve halen bu göreve devam etmekteyim.

Fzt.Mitat KOZ