

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÇOCUKLARDA 4 HAFTALIK YÜZME EGZERSİZİNİN
ANTİOKSİDAN ENZİMLER VE LİPİD
PEROKSİDASYONUNA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sevil GÖNENÇ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. İlgı ŞEMİN

Eylül 1995

İZMİR

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
Serbest oksijen radikallerinin kimyası	4
Serbest oksijen radikallerinin biyolojik kaynakları	7
Serbest oksijen radikalleri ile oluşan hücresel hasarlar	13
Lipid peroksidasyonu.....	14
Serbest radikaller ve proteinler.....	17
Karbohidratlar ve nükleik asitler ile serbest radikaller.....	18
Serbest oksijen sistemlerine karşı savunma sistemleri.....	19
Antioksidan enzimler.....	19
Sekonder antioksidan savunma sistemleri.....	27
Egzersiz ve oksidan stres.....	28
Egzersiz ve kasın metabolik sistemleri.....	28
Egzersiz ve oksijen kullanımı.....	31
Arteriyovenöz oksijen farkı.....	33
MATERYEL VE METOD	36
SOD aktivitesinin ölçümü.....	38
GPx aktivitesinin ölçümü.....	41
MDA ölçümü.....	43
BULGULAR	45
TARTIŞMA	54
ÖZET	60
LİTERATÜR	62

ÖNSÖZ

Tez olarak sunulan bu çalışma Anabilim Dalımız'da antioksidan enzimler ve lipid peroksidasyonuna yönelik araştırmalardan birini oluşturmaktadır. Tezin yürütülmesi sırasında yardım ve desteklerinden ötürü başta tez danışmanım Doç. Dr. İlgı ŞEMİN'e, özgür ve düzeyli bir akademik ortamda çalışmamı sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Hamit ÖZGÖNÜL'e teşekkürü bir borç bilirim. Fizyoloji uzmanlık eğitimime katkılarından dolayı Prof. Dr. Bedri ÖZEN, Prof. Dr. Ataman GÜRE, Yard. Doç. Dr. Giray YALAZ, Öğr. Gör. Uzm. Dr. Hayri GÜVEL'e; çalışmanın deney aşamalarında yardımları için Uzm. Dr. Muammer KAYATEKİN, Ar. Gör. Dr. Osman AÇIKGÖZ ve Lab. tek. Ferma KANDEMİR'e teşekkür ederim. Ayrıca bana çalışma bilincini aşılayan ve her konuda destek olan aileme teşekkürlerimi sunarım.

GİRİŞ VE AMAÇ

Atmosferin oksijenlenmesiyle gelişen aerobik organizmalar bir taraftan doğal metabolik işlevleri için oksijene ihtiyaç duyarken, diğer taraftan bu metabolizmanın ürünü olan toksik oksijen radikallerinin zararlı etkileriyle karşı karşıya kalmışlardır(111). Evrimsel süreçler, reaktif oksijen metabolitlerini nötralize etmek için antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmiştir (49,52). Normalde organizmada oluşan serbest oksijen türevleri ile antioksidan aktivite arasında hassas bir denge vardır, zararlı etkiler gözlenmez (75).

Şiddet ve süresi ile ilintili olarak egzersiz, metabolik süreçleri ve oksijen tüketimini artırarak daha fazla serbest radikal oluşumuna neden olmaktadır. Serbest radikallerdeki artış antioksidan savunma kapasitesini aşarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını tetikleyebilir (31,46). İnsanlarda egzersiz ve lipid peroksidasyonuna ilişkin veriler fazla olmayıp, sonuçlar çelişkilidir. Farklılıkların egzersizin türü, şiddeti ve/veya süresine bağlı olabileceği düşünülmektedir (3,59).

Kronik olarak ılımlı düzeyde oksidan stres ile karşı karşıya gelmenin antioksidan savunmayı güçlendirdiği bildirilmiştir (71,65,103). Egzersiz de, serbest radikaller oluşmasına karşın, ılımlı şiddette, düzenli olarak yapıldığında antioksidan savunmayı kuvvetlendirmektedir (60). Yapılan araştırmalarda, düzenli egzersiz ile değişik antioksidan enzimlerde artışlar bildirilmişse de (3,59,67) antioksidan savunmada yer alan hangi enzim/enzimlerin, hangi koşullar altında aktive olabileceği tartışmalıdır. Ancak

genel kanı, reaktif oksijen türevleri ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin; egzersizin tipi, şiddeti, süresi, ve bireyin fizyolojik adaptasyon kapasitesiyle ilişkili olarak önemli ölçüde değişebileceği yönündedir (60,63,70,71).

Son yıllarda, hareketsiz yaşayanlarda (sedanter) ve düzenli fiziksel aktivitesi olan (antrenmanlı) bireylerde egzersizin antioksidan maddeler ve lipid peroksidasyon düzeylerine etkisi araştırılmaktadır. Ancak çalışma sayısı az olup, sonuçlar çelişkilidir. Yapılan araştırmaların çoğunda, sedanter ve antrenmanlı bireylerde akut egzersizin etkileri araştırılmıştır (3,59,67). Sedanter bireylerde kronik egzersizin etkileri üzerine az sayıda çalışma vardır (80,82).

Bu çalışmada; 4 haftalık yüzme kursunun, çocuklarda intrasellüler antioksidan savunma sistemi ve lipid peroksidasyon düzeyleri üzerindeki etkilerinin araştırılması planlanmıştır. Bu amaçla, kursa katılan çocuklarda; kurs öncesi ve sonrasında eritrosit süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri ve plazma malondialdehit (tiyobarbitürik asit reaktif madde, TBARM) düzeyleri tayin edilmiştir.

GENEL BİLGİLER

Organizmanın yaşamı ve bütünlüğü homeostatik dengenin sürdürülmesine bağlıdır. Homeostaz hem internal hem de eksternal stresörlerle sürekli olarak tehdit edilir. Hücre bu stresörlere karşı kendini koruyucu mekanizmalar geliştirmiştir. Bu mekanizmalar, hücresel iç çevrenin bozulmasını azaltarak ve optimal hücresel aktiviteyi koruyarak eksternal stresörlerin zararlı etkilerini bastırır (111).

Aerobik organizmalar tarafından organik moleküllerden enerji açığa çıkarılmasında oksijenin kullanılması, bu organizmaları toksik oksijen ürünlerinin zararlı etkileri ile karşı karşıya bırakmıştır. İlginçtir ki, bu toksik oksijen ürünleri hücre için yaşamsal olan fizyolojik ve metabolik süreçlerden kaynaklanır (49,112). Evrimsel süreç içinde, reaktif oksijen metabolitlerini nötralize etmek için 'Antioksidan Savunma Sistemi' olarak tanımlanan koruyucu bir sistem gelişmiştir (49,52). Bu sistemin görevi hücreyi, oksijenin tam olmayan indirgenmesi sırasında oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerinden korumaktır. Normalde organizmada oluşan reaktif oksijen türevleri ile antioksidan aktivite arasında hassas bir denge vardır, zararlı etkiler gözlenmez (75).

SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN KİMYASI

Elektronlar orbit adı verilen yörüngelerde hareket ederler. Her orbitte daima iki elektron bulunur ve bunlar normalde ters yönde hareket ederler (55). Elektronlar orbitalde çiftleşmişse, elektronik yapı termodinamik olarak daha stabildir.

En dış orbitalinde çiftleşmemiş elektron bulunan atom yada moleküllere 'serbest radikal' denir. Bir çok inorganik bileşik, örneğin NO (Nitrik oksit) ve NO₂ (Nitrojen dioksit) dış orbitallerinde bir çiftleşmemiş elektron içerir ve bu tanımlamaya göre serbest radikaldir (96). Aynı şekilde moleküler oksijenin kendisi de bir radikaldir. Çünkü dış orbitallerinde iki çiftleşmemiş elektron taşır. Bu elektronların her biri farklı bir orbitalde yerleşmiştir ve paralel spin (dönme) konfigürasyonunda bulunurlar. Bu durum oksijen molekülüne aynı anda iki elektronun birden bağlanmasını önler. Oksijen molekülünün bir kimyasal bağ oluşturabilmesi için bu elektronlardan birinin zıt yöne değişmesine gerek vardır. Ancak spin değişimi hem enerji hem de zaman gerektirdiğinden seyrek olarak gerçekleşir ve oksijen molekülünün bir elektron almayı tercih ettiği kabul edilir (53,60).

Serbest radikaller reaktif yapılardır ve tek elektronlarını çiftlemek üzere diğer moleküller ile hızla reaksiyona girmeye, dolayısıyla onların yapılarını değiştirmeye eğilimlidirler. Serbest radikaller anyon, katyon ve nötral

durumda bulunabilirler. Kimyasal sembollerinin üst taraflarına, en dış orbitallerindeki çiftlenmemiş elektron sayısı kadar konulan nokta ile (R \cdot) gösterilirler (94).

Moleküler oksijenin metabolizması için olağan major yol, dört elektron alarak tümüyle suya indirgenmesidir. Tam olarak indirgenmemesi sonucunda ise serbest oksijen radikalleri meydana gelir.

Reaktiviteleri nedeniyle serbest radikallerin yarı ömürleri kısadır. Bu reaktivite radikallerin stabil olmayan konfigürasyonundan kaynaklanır. Kolaylıkla diğer moleküllerden elektronları koparılırlar ve bu molekül radikale dönüşür. Böylece reaksiyonlar zinciri başlar (55,56).

Süperoksit radikali (O $_2^{\cdot-}$)

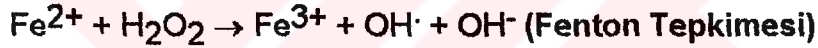
Süperoksit radikali, oksijenden kaynaklanan tüm radikaller içinde en çok ve en kolay oluşandır. Bunun nedeni, belki de oksijenin suya indirgenmesi sırasında ilk meydana gelen radikal olmasıdır. Süperoksit radikali diğer radikallerin oluşumuna neden olabilir (33). Örneğin, süperoksit radikalından, kendisinden çok daha reaktif olan perhidroksi radikali (HO $_2^{\cdot}$) oluşur. Ayrıca, asidik ortamda süperoksit radikali kolaylıkla hidrojen peroksit (H $_2$ O $_2$) dönüşür. Göreli olarak reaktivitesi diğerlerinden daha az olan süperoksit radikali hedef seçiminde yüksek spesifite gösterir. Negatif yüklü olması nedeniyle anyon kanallarını kullanarak ya da lipid tabakalardan difüzyon yolu

ile plazma membranlarını geçebilir. Böylece uzak mesafelere difüze olabilir (55,106).

Hidroksil radikali (OH·)

Oksijen radikalleri içinde en reaktif, dolayısıyla yarı ömrü en kısa olan radikaldir. Bu özelliği nedeniyle en toksik etkili radikal olup, kaynağından fazla uzaklaşmadan en yakın hedefleri etkiler (6).

Başlıca iki biyolojik kaynağı vardır (52,55,73,99).



.....

$O_2^- + H_2O_2 + \rightarrow O_2 + OH^- + OH\cdot$ (Toplam reaksiyon: Demirin katalizlediği Haber-Weiss reaksiyonu)

Hidroksil radikalleri, demir gibi diğer bir geçiş metali olan bakırın, indirgenmiş formlarının, hidrojen peroksitle etkileşmesi ile de oluşur.



Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Süperoksit radikalleri spontan olarak dismutasyona uğrayabilir. Bir antioksidan enzim olan süperoksit dismutaz (SOD), dismutasyon hızını 10⁴ kat artırır. Süperoksit radikalının bu enzim ile dismutasyonu, hidrojen peroksit için en önemli oluşum yoludur. Hidrojen peroksitin kendisi radikal değildir. Ancak

biyolojik olarak önemli bir oksidandır. Yukarıda açıklandığı şekilde; geçici metallere ile etkileşerek, reaktivitesi çok yüksek olan hidroksil radikalini oluşturur. Küçük, yüksüz bir molekül olduğu için; hücre membranlarının hidrojen peroksitide geçirgenliği suya olduğu gibidir. Böylece hücre membranlarından diğerlerine göre çok daha kolay difüze olabilir (6,52,96,106).

SERBEST RADİKALLERİN BİYOLOJİK KAYNAKLARI

Serbest oksijen radikallerinin açığa çıktığı biyolojik sistemlerin başında mitokondri elektron transport zinciri gelir (98,100). Solunum zincirinin son molekülü olan oksijen 4 elektron alarak suya indirgenir. Ancak oksijen her zaman tam olarak indirgenemez ve normal koşullarda %1-2 oranında süperoksit radikali ve hidrojen peroksit oluşur. Oksidatif fosforilasyon sırasında; mitokondriyal sitokrom oksidaz enzim sistemi, moleküler oksijenin 4 elektron alarak suya indirgenmesini kontrol eder. Bu süreçte; kısmen indirgenmiş serbest oksijen radikalleri, enzimin aktif bölgesine sıkıca bağlıdır ve hücreyi tehdit eden bir durum oluşturmazlar. Diğer basamaklarda (Sitokrom b-ubikinon) kısmen indirgenmiş serbest oksijen radikalleri bağlanamaz ve bu radikallerin reaktivitesi nedeni ile hücrenin normal fonksiyonları bozulabilir (96). Oksijen konsantrasyonunun arttığı veya solunum zincirinin geniş ölçüde baskılandığı durumlarda süperoksit radikali oluşma hızı mitokondri tarafından artırılabilir. İlki; hayvanların akciğerleri yüksek oksijen konsantrasyonuna maruz

bırakıldığında oluşur (75). İkincisi ise ADP yokluğunda ve substrat ile oksijenin varlığında (Evre 4) gerçekleşir (111).

Solunum zincirindeki süperoksit radikalinin kesin oluşum yerini saptamak için, mitokondriyal ve sub mitokondriyal preparasyonlar kullanılmıştır. Ubikinon-sitokrom b basamağının süperoksit için oluşum yeri olduğu gösterilmiştir (111). Bu basamakta ubisemikinon ara ürün olarak oluşur. Bu bölgede süperoksit radikali üretiminin, ubisemikinon oksidasyonu ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Ubisemikinon, oksijeni süperoksit radikaline indirgeyebilir. Süperoksit spontan olarak hidrojen peroksit oluşturabilir. NADH-dehidrogenaz da oto oksidasyona uğrayabilen elektron taşıyıcısı olup, mitokondriyal radikal oluşumunun bir bölümünden sorumludur (11,74,75).

Mitokondride üretilen süperoksitin çoğu, mitokondriyal SOD enzimi aktivitesi ile hidrojen peroksite çevrilir. Mitokondrilerde direkt olarak hidrojen peroksit üretimi olsa da, büyük bölümünün süperoksitin dismutasyonu ile oluştuğu gösterilmiştir (111).

Mitokondrilerde hidroksil radikali üretimi de bildirilmiştir. Bu radikal demir katalizli Haber-Weiss reaksiyonu ile oluşabildiği gibi, semikinonlar da hidrojen peroksit ile hidroksil radikali oluşturmak üzere reaksiyona girebilir (metal bağımsız yol) (11).

Mikrozomal ve nükleus membranları da elektron transport sistemleri içerirler (sitokrom P450 ve sitokrom b5). Bu iki enzim demetilasyon,

hidroksilasyon ve desaturasyon reaksiyonlarından sorumludur. Sitokrom P450 ve sitokrom b5 moleküler oksijeni indirgeyerek süperoksit ve hidrojen peroksit oluşumuna neden olurlar. Örneğin karaciğer mikrozomları NADPH oksidasyonu esnasında bu radikalleri oluşturabilir (41,94).

Serbest radikallerin bir diğer önemli kaynağı da fagositik aktivite ile görevli hücrelerdir. Normalde fagosite edilen mikroorganizmaları ortadan kaldırmak için sitotoksik oksijen radikalleri kullanılır. Nötrofiller ve makrofajlar aktive olduğu zaman büyük miktarlarda oksijen tüketiciler ve bunun hemen hemen hepsi süperoksit anyon radikaline çevrilir. Solunumsal patlama olarak adlandırılan bu işlemin nedeni redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz enziminin aktifleşmesidir. NADPH oksidaz hücre membranının dış yüzünde, fagositik vakuollerin sıralandığı yerdir (96). İmmunglobulinler, immün kompleksler, kemotaksik faktörler, opsonize olmuş bakteriler ve virüsler gibi çeşitli uyarılar solunumsal patlamayı başlatabilir. Sistem NADPH'ı NADP+'a okside ederken, 2 mol oksijenden 2 mol süperoksit radikali oluşumuna neden olur. Nötrofiller tarafından üretilen süperoksit radikali, hızla hidrojen peroksite dönüşür. Sistem süperoksit basamağı olmadan, moleküler oksijenin direkt divalan indirgenmesi ile hidrojen peroksit oluşturabilir. Genellikle aktive olmuş fagositik hücrelerin, esas olarak hidrojen peroksit oluşturduğuna inanılır. Hidrojen peroksit de, lokalize doku inflamasyonunda görülen sitotoksik potansiyelden sorumludur (103,11).

Fagositoz sırasında, Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikali de oluşabilir.

Nötrofiller yüksek miktarda, lizozomal bir enzim olan myeloperoksidaz içerirler. Hidrojen peroksitin sitotoksitesi, myeloperoksidaz varlığında önemli derecede artar. Myeloperoksidaz, NADPH oksidaz sistemi varlığında hidrojen peroksit üretimi ile aynı zamanda azurofil granüllerden fagositik vakuol içine salınır. Bu enzim; hidrojen peroksiti kullanarak klorid, bromid ve iyodid halidleri hipohalöz asitlere okside etme fonksiyonuna sahiptir.

$H_2O_2 + Cl^- \rightarrow HOCl + OH^-$ reaksiyonu ile oluşan hipokloröz asit (HOCl) güçlü bir bakterisidal etkiye sahiptir (19,55). Hipohalöz asitler güçlü oksidanlar olup çok çeşitli biyolojik moleküllerle reaksiyona girebilirler. Mekanizması henüz tartışmalı olmakla birlikte, nötrofillerin hidroksil radikal formasyonu için gerekli donanıma da sahip oldukları ileri sürülmüştür (97).

Organizmada prostaglandin sentezi sırasında da serbest radikaller oluşmaktadır. Hormonal, allejik, mekanik, infeksiyon, radyasyon, çeşitli toksinler ve iskemi gibi uyarılar membranda bulunan fosfolipaz A₂ enzimini aktive ederler. Bu durum hücre membranındaki fosfolipidlerin enzimatik hidrolizi ile araşidonik asit ve diğer öncül yağ asitlerinin açığa çıkmasına neden olur ve açığa çıkan yağ asitleri derhal sentezin ileri basamaklarına girerler. Böylece araşidonik asitten, siklooksijenaz etkisiyle siklik endoperoksitler (PG G₂ ve PG H₂) oluşmaktadır (55,96). Özellikle bu basamakta serbest radikallerin açığa çıktığı gösterilmiştir. Oluşan radikallerin siklooksijenaz üzerinde feedback

etkileri de vardır, prostaglandin sentez hızını ve miktarını modüle edebilirler (110).

Serbest radikal üreten diğer bir kaynak da, stoplazmada çözülmüş olarak bulunan enzimlerdir. Bu enzimlerden en çok inceleneni pürin metabolizmasında yer alan ksantin oksidazdır. Ksantin oksidaz normal dokuda (iskemik olmayan koşullarda) dehidrogenaz formunda bulunur. Hipoksantin ksantine, ksantin de ürik aside oksidasyonundan sorumlu olan bu enzim; elektron akseptörü olarak NAD^+ 'ı kullanır. Enzimin katalitik aktiviteden sorumlu aktif bölgesi molibden içerir (19,96).

Dokular çok miktarda ksantin dehidrogenaz içermektedir. Enzimin bu şekilde geniş dağılımının, çeşitli dokulardaki iskemik hasarlar gibi patolojik durumlarda potansiyel olarak önemli rol oynadığını düşünülmektedir.

İskemi sırasında, sitozolik serbest kalsiyumun artması sonucu hücre içi proteazlar aktive olurlar ve ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaz formuna dönüştürürler. Bu formda, elektron alıcısı moleküler oksijen olduğundan, sistem güçlü bir serbest radikal oluşturma potansiyeli kazanır (20,23,96,104). İskeminin başlamasıyla, adenozin trifosfatın (ATP) katabolizması sonucu oluşan adenozin inozine çevrilir, inozin de hipoksantine dönüşür. Böylece dokuda bol miktarda hipoksantin birikir. Hem aktif enzim (ksantin oksidaz) hem de substratın (hipoksantin) aşırı miktarlarda olmasına karşın, moleküler oksijenin olmaması nedeni ile iskemi periyodunda oksidasyon basamağı gerçekleşmez. Reperfüzyonla birlikte ortam bol miktarda oksijene kavuşunca

hipoksantin oksidasyonu ile serbest oksijen radikalleri hızla oluşmaya başlar. Büyük miktarda süperoksit radikali ve hidrojen peroksit üretimi olur (11,75). Ayrıca Fenton reaksiyonu ile, süperoksit radikali ve hidrojen peroksitten hidroksil radikali açığa çıkar. Böylece; iskemi-reperfüzyonda görülen doku harabiyeti, salt iskeminin direkt etkisine bağlı değildir. Hasarın önemli bir bölümünün nedeni reperfüzyon sırasında ksantin oksidaz aracılığı ile oluşan toksik oksijen metabolitleridir.

Ksantin oksidazın dışında, aldehit oksidaz, flavaprotein dehidrogenaz ve triptofan dioksijenaz gibi oksijeni kullanan sitoplazmik enzimler de benzer şekilde serbest radikal oluşumuna katkıda bulunurlar (54). Katekolamin metabolizmasının hızlandığı durumlarda monoamin oksidaz (MAO) aktivitesi sırasında da serbest oksijen radikalleri üretilmektedir (20).

Ayrıca çözünebilir özelliği olan ve nötral sıvı ortamda oksidasyon-redüksiyon reaksiyonu verme yeteneğine sahip pek çok hücre komponentinin (tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidropteridin, hemoglobin) serbest radikal oluşumunda önemli katkısı vardır. Hepsi de moleküler oksijenin redüksiyonu ile primer olarak süperoksit radikallerinin oluşmasına neden olurlar. Süperoksit radikallerinin spontan ya da enzimatik dismutasyonu ile hidrojen peroksit oluşur (29,38,89).

Peroksizomlar yüksek konsantrasyonlarda, çeşitli oksidan enzimler (D-amino oksidaz, urat oksidaz, yağ açıl Koa oksidaz gibi) içerirler. Bu enzimler

süperoksit basamağı olmadan hidrojen peroksit oluşumuna neden olurlar. Peroksizomlarda hidrojen peroksitin zararlı etkilerini nötralize edebilen katalaz çok miktarda bulunur. Katalazın hidrojen peroksitin çoğunu metabolize etmesine rağmen bir miktar hidrojen peroksit sitoplazmaya difüze olur (38).

Demir ve bakır gibi iki değerlikli geçiş metalleri Fenton ve Haber-Weiss tepkimeleri ile hidroksil radikali gibi daha reaktif radikallerin üretimine neden olurlar (11,20,107).

Serbest oksijen radikalleri sözü edilen biyolojik kaynaklardan başka eksojen faktörler tarafından da oluşturabilirler. Sigara, hava kirliliği, çeşitli kimyasal maddeler, ilaçlar ve hiperoksijenasyon bunlar arasında sayılabilir. Gerek elektromagnetik radyasyon, gerekse parçacık radyasyonu (alfa ve beta ışınları) suyun hidrolizi ile hidroksil radikali oluşumuna yol açar (73,96).

SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ İLE OLUŞAN HÜCRESEL HASARLAR

Lipid peroksidasyonu

Serbest radikallerin lipidlerle reaksiyonundan doğan lipid peroksidasyonunun organizmada yaygın olduğu düşünülmektedir. Biyomembranlar, membran fosfolipidlerinin içerdiği poliansatüre yağ asitleri (PUFA) nedeniyle oksidatif etkiye özellikle duyarlıdır. Ancak in vivo koşullarda lipid moleküllerinin peroksidasyonu tam olarak açıklanamamıştır. In vitro çalışmalar, poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonunun genellikle üç ana safhada oluştuğunu

göstermiştir: Başlangıç, gelişim ve sonlanma (49). Peroksidasyonun başlangıç safhasında; serbest radikal, PUFA molekülünden bir hidrojen atomunu ayırarak, geriye karbon atomu üzerinde bir çiftleşmemiş elektron olan bir serbest lipid radikali (alkil radikal) bırakır. Hidrojen atomunun uzaklaştırılması ve alkil radikal oluşumunu takiben, moleküler bir düzenleme ile lipid radikali hızla stabilize edilir (diene konjugasyon). Bu lipid radikali daha sonra moleküler oksijen ile reaksiyona girerek lipid peroksi radikalini oluşturur (gelişim basamağı). Güçlü bir radikal olan peroksi radikali, komşu PUFA'nin hidrojenini etkiler. Böylece lipid hidroperoksit ve yeni bir lipid radikali oluşur. Yeni oluşan lipid radikali, daha sonra diğer bir oksijen molekülü ile kombine olur ve zincir reaksiyonu devam eder (19,49,96).

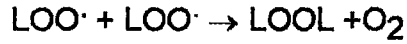
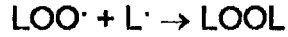
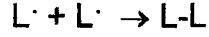
Adı geçen reaksiyonlar aşağıdaki gibi özetlenebilir:

1- Başlangıç:



2- Gelişme:



3- Sonlanma:

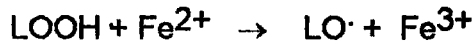
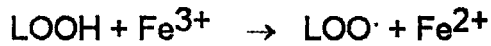
Lipid peroksidasyonunu, hidroksil ve hidroperoksil radikalleri başlatabilirken, daha az reaktif olan süperoksit radikali ve hidrojen peroksit başlatamaz. Ayrıca mitokondri solunum zincirindeki elektron transportunda yer alan semikinonlar ile de peroksidasyon başlayabilir (107).

Lipid peroksidasyonunu başlatan serbest radikallerin oluşmasında demir, bakır gibi geçiş metallerinin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Geçiş metallerinin varlığında meydana gelen Fenton ve Haber-Weiss tepkimeleri ile, çok reaktif olan hidroksil radikali oluşur (78). Metal yokluğunda veya metal şelatların varlığında in vitro lipid peroksidasyonu baskılanır, demir ve bakırın vasatlara eklenmesi bu baskılanmayı engeller (99). Metal katalizinin, en güçlü radikal olan hidroksil radikali ile oluşan peroksidasyon için esas olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Minotti Aust (158) liposom preparasyonu ile birlikte hidrojen peroksiti kullanarak; metal iyonları yokluğunda lipid peroksidasyonunu başlatamamıştır. Bir başka çalışmada lipid peroksidasyonu için gerekli optimal Fe^{3+}/Fe^{2+} oranını 1/1 olarak saptanmıştır (111).

Askorbik asit, NADPH veya süperoksit radikali gibi redükleyici ajanlar, demiri indirgeyerek metal bağımlı peroksidasyon reaksiyonlarını

hızlandırırlar. Bazı tiol bileşikleri de (sistein gibi) metal bileşiklerini indirgeyerek benzer etki gösterir (19,55).

Demirin lipid peroksidasyonundaki yeri sadece başlangıç basamağına sınırlı değildir. Daha sonraki gelişme safhasında lipid hidroperoksitlerin dekompozisyonu için de demir gereklidir (49,100).



Hemoglobin, EDTA-Fe³⁺ gibi demir taşıyan kompleksler de kataliz olayında etkilidir (22,49).

Lipid peroksidasyonunun son ürünleri; aldehitler (malondialdehit "MDA", 4-hidroksinonenal) ve hidrokarbon gazlar (etan, pentan)dır. 1-6 araşidonik asid peroksidasyonunun temel yan ürünü olan 4-hidroksinonenal, hem sitotoksik hem de mutojeniktir (29,33,68). Bu aldehitlerin potansiyel sitotoksitesine karşı koruyucu olarak, hücreler onları detoksifiye edecek mekanizmalar geliştirmiştir (29). Aldehit dehidrogenaz ile malondialdehitin mitokondrial oksidasyonu, detoksikasyon işlemine güzel bir örnektir.

Biyolojik membranların peroksidasyona duyarlılığı birbirinden farklıdır. Mitokondriyal ve mikrozomal membranlar, fosfolipidlerdeki yüksek PUFA içeriğinden dolayı serbest radikallere karşı özellikle duyarlıdır. Lizozomal membranların bozulması, hücre içi sindirime aracılık eden hidrolitik enzimlerin salınmasına neden olur. Hücre membranında peroksidasyona uğrayan en

önemli yağ asitleri linoleik asit, araşidonik asit ve diğer poliansatüre yağ asitleridir (53,111).

Plazma düşük dansiteli (LDL) ve çok düşük dansiteli (VLDL) lipoproteinleri de lipid peroksidasyonundan etkilenebilir. Okside olan lipoproteinler hücre fonksiyonlarını inhibe edebilirler (34,51,86). Plazma lipid peroksidasyon düzeyinin, yaş artıka yükseldiği bildirilmektedir. Bu yükselme VLDL ve LDL fraksiyonlarındaki lipid peroksitlerin artışına bağlanmakta, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) fraksiyonundakiler ise yaşla değişmemektedir (110).

Serbest radikaller ve proteinler:

Protein molekülleri oksidatif reaksiyonlar ile önemli modifikasyonlar gösterirler. Peptid ve protein makromoleküllerin yapıtaşı olan amino asitler; serbest radikallerin hedefleridir. Proteinleri oluşturan amino asitlerin hasarlanması, proteinin kendisinde kalıcı değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler parçalanma, agregasyon ve proteolitik sindirime duyarlılık olarak gruplandırılır. Doymamış ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallere karşı duyarlılığı en fazla olduğundan; sistin, sistein, histidin, metiyonin, triptofan, ve tirozin içeren proteinler oksidasyona karşı en duyarlı olanlardır. Hücre fonksiyonları ile yakından ilgili olan Ca^{2+} -ATPaz ve Na^{+} - K^{+} ATPaz enzimleri içerdikleri tiyol gruplarının serbest radikaller ile oksidasyonu sonucu aktivitelerini kaybedebilirler. Bu da, hücre içi ve dışı iyon dağılımının bozulması ile hücre hasarına neden olabilir (24,74,83,109).

Karbohidratlar ve serbest radikaller: Glukoz ve diğler monosakkaritler uygun koşullar olduğunda oksidasyona uğrayabilir. Wolff tarafından; basit monosakkaritlerin kolayca oksidasyona uğrayabildiği, dikarbonil bileşikleri ve hidrojen peroksit oluşturduğu gosterildi (111).

Nukleik asitler ve serbest radikaller: Radyasyon ve bazı kimyasal maddeler gibi ekstrensek faktörler yanında; serbest oksijen radikalleri gibi intrinsek etkenler de DNA hasarlanmasına neden olabilir (105). Mitokondriyal DNA hasarı pek çok nedenle en fazla ilgiyi görmüştür; 1- Mitokondri serbest oksijen radikalleri açısından önemli bir kaynak olduğu için, DNA bu radikallere yüksek oranda maruz kalır. 2- Mitokondri DNA tamir işlemleri açısından fakirdir. 3- Mitokondri DNA'sı pek çok kimyasal karsinojenin tercih ettiği hedefdir (28).

Başta hidroksil radikali olmak üzere serbest radikallerin etkisi, büyük oranda nukleik asit bazlarının modifikasyonu ve DNA zincirinin kırılması şeklinde görülür. 5 esas DNA komponentinden timin ve sitozin hidroksil radikal hasarına en duyarlı olanlarıdır (19,28). Ayrıca DNA polimerazın inhibisyonu ile DNA sentezi bloke olabilir.

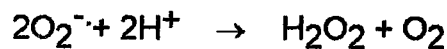
SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNE KARŞI SAVUNMA SİSTEMLERİ

Hücreler, serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerini önleyen ya da sınırlayan koruyucu mekanizmalara sahiptir. Oksidatif strese karşı hücreyel korunmadan sorumlu antioksidan sistemler, serbest radikaller kadar çeşitlidir. Antioksidan savunma, genel bir tanımlama ile primer ve sekonder savunma olarak sınıflandırılmıştır. Primer savunma; oksijenden doğrudan oluşan serbest radikaller (süperoksit radikali) ile etkileşir. Sekonder savunma, süperoksit radikalının dismutasyonundan doğan radikalleri temizler (111). Antioksidan savunma sistemi daha geniş olarak şu şekilde sınıflandırılmıştır (11,73); Primer savunma: 1- Antioksidan bileşikler: E,C,A vitaminleri, glutatyon, Ürik asit gibi, 2- Antioksidan enzimler: Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT). Sekonder savunma: Lipolitik enzimler, proteolitik enzimler, fosfolipazlar, proteazlar, peptidazlar, DNA tamir enzimleri, endonükleazlar, lipaz gibi.

ANTİOKSİDAN ENZİMLER

Süperoksit dismutaz (SOD):Süperoksit radikalının hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir.

SOD



Süperoksit radikalleri spontan dismutasyona da uğrayabilirse de, SOD spontan dismutasyon hızını 10^4 kat artırır. Süperoksit dismutaz enziminin bakır-çinko SOD ve mangan SOD olmak üzere iki tipi vardır. Bunların hücre içindeki dağılımı; tetramerik Mn formunun esas olarak mitokondrial matrikste, kısmen sitoplazmada; dimerik Cu-Zn formunun ise esas olarak sitoplazmada ve kısmen mitokondri intermembranöz alanda bulunması şeklindedir. Karaciğer hepatositlerinde yaklaşık %70'i sitoplazmada bulunmaktadır (13,26,76). Cu-Zn SOD enziminin aktivitesi Cu'a, konformasyonu ise Zn'ya bağlıdır (76).

Süperoksit dismutaz aktivitesi bakımından dokular arasında fark vardır. Karaciğer, adrenal bez, böbrek ve dalakta en yüksek düzeydedir. Enzimin aktivitesi, doku oksijenasyonuna duyarlı olan biyosentezi aracılığı ile düzenlenmektedir (97). Yüksek oksijen konsantrasyonlarına maruz bırakılan sıçanlarda biyosentezi artmıştır. Süperoksit radikali oluşturan bir madde olan paraquat verildiğinde enzim aktivitesinin arttığı görülmüştür (58). Süperoksit dismutazın biyolojik önemi, enzimi taşımayan bakterilerde açıkça gösterilmiştir. SOD geninin bakterilere reintrodüksiyonu ile oksidatif zararlara karşı daha dirençli olduğu bildirilmiştir (56). Reveillaud ve arkadaşlarının çalışması da bu bulguları destekler tarzdadır. Drosofilada SOD eksprese ederek, SOD sayesinde paraquat ile olan oksidatif hasara daha büyük bir direnç olduğunu yayınlamışlardır (88).

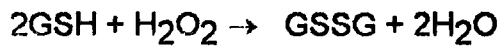
Süperoksit dismutaz, süperoksit radikallerinin potansiyel substratlarla reaksiyona girmesini ve böylece hidroksil radikali gibi daha toksik ürünlerin oluşmasını önler (55,96).

Ekstrasellüler alanda süperoksit radikalının konsantrasyonu çok sıkı kontrol altında değildir. Plazma Cu-Zn SOD aktivitesi çok düşük seviyededir (76).

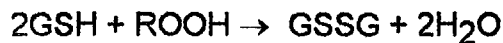
Glutasyon peroksidaz (GPx): GPx ve katalaz hidrojen peroksidin suya dönüştürülmesinden sorumlu olan enzimlerdir (96). Glutasyon peroksidaz hücre içinde sitozolde ve mitokondriyal matrikste lokalizedir. Enzimin selenyuma (Se) bağımlı ve bağımsız iki tipinin de hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlerin indirgenme reaksiyonlarını katalizlediği gösterilmiştir. Se bağımlı glutasyon peroksidaz sitozolde bulunur ve daha düşük hidrojen peroksit konsantrasyonlarında etkilidir. Se bağımsız olan ise aşırı hidrojen peroksiti substrat olarak tercih eder (44,102,103).

Glutasyon peroksidaz enzimi, indirgeyici güç olarak sülfür içeren bir tripeptid olan glutasyonu (GSH) kullanır. Glutasyon tüm memeli hücrelerinde en bol bulunan düşük molekül ağırlığına sahip tiyoldür (5,11).

GPx

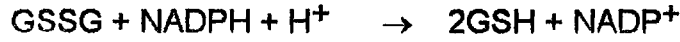


GPx



Reaksiyona giren glutasyonlar, disülfid bağları ile birbirlerine bağlanarak indirgeyici özelliklerini yitirirler. Ancak glutasyon peroksidaz enziminin fonksiyonunu sürdürebilmesi için okside glutasyonun (GSSG) tekrar redükte forma dönüştürülmesi gereklidir. Bu işlem NADPH bağımlı bir enzim olan glutasyon redüktaz tarafından gerçekleştirilir.

GSSG redüktaz



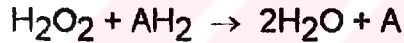
Bu reaksiyonda kofaktör olarak kullanılan NADPH'ın yeniden sentezi için, heksomonofosfat şantı ve bu şantın anahtar enzimi olan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimi gereklidir. Bu nedenle glutasyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimleri de antioksidan savunma sistemi içinde yer alır (58).

Hem glutasyon peroksidaz hem katalaz hücre içi hidrojen peroksit konsantrasyonunun düzenlenmesinden sorumlu olmakla birlikte, normal koşullarda hücrede oluşan hidrojen peroksitin detoksifikasyonunda esas olarak glutasyon peroksidaz yer alır. Bu enzim düşük düzeyde hidrojen peroksitten hücrelerin korunmasında, katalazdan daha büyük bir role sahiptir. Ayrıca glutasyon peroksidaz, katalazdan farklı olarak, hidroperoksitleri de indirgeyebilir (17). Süperoksit radikalleri GPX'ı inaktive edebilir, CAT'ı ise daha az inhibe eder (52). Ekstrasellüler ortamda ise hidrojen peroksiti indirgeyen bir enzim sistemi bulunmamaktadır. Ekstrasellüler hidrojen peroksitin dolaşımdaki eritrositler tarafından metabolize edildiği kabul edilmektedir.

Katalaz (CAT): Yukarıda söz edildiği gibi, bu enzim glutatyon peroksidaz ile beraber hücre içi hidrojen peroksitin detoksifiye edilmesinde rol alır. Katalazın doku dağılımı süperoksit dismutaz gibi geniştir. Ancak karaciğer, böbrek ve eritrositler rölatif olarak bu enzimi daha yüksek düzeylerde bulundurlar. Hücre içinde sitozolde de bulunmakla birlikte, daha çok peroksisomlarda lokalizedir (111).

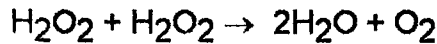
Katalaz daha çok hidrojen peroksitin arttığı durumlarda etkilidir. Hidrojen peroksit düzeyi düşük olduğunda veya elektron donörü konsantrasyonu yüksek olduğunda peroksidatik reaksiyonla:

CAT



Hidrojen peroksitin oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik reaksiyonla:

CAT



hidrojen peroksiti suya dönüştürerek ortadan kaldırır (11).

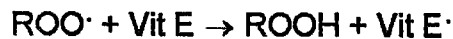
Katalaz daha çok peroksisomlarda, glutatyon peroksidaz sitozol ve mitokondride lokalize olarak birbirlerini tamamlayıcı bir yerleşim gösterirler. Böylece hücre içi hidrojen peroksit konsantrasyonunu etkin bir şekilde düzenlerler (17).

Organizmada hidroksil radikali ve hipohalöz asitleri detoksifiye eden enzim sistemleri yoktur. Kuvvetli okside edici potansiyelleri nedeniyle hiç bir

enzim, kendisi oksidatif harabiyete uğramadan bu ürünleri ortadan kaldıramaz. Bu nedenle; hücreler temel strateji olarak, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerini kullanarak daha toksik ürünlerin oluşmasını önlerler (96).

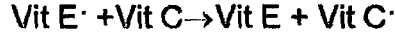
Antioksidan savunmanın diğer önemli bir bölümünü lipid peroksidasyon reaksiyonlarının ilerlemesini önleyen antioksidanlar oluşturur.

E Vitamini : Lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kıran başlıca antioksidandır. Tokoferolün en azından 8 yapısal izomeri içinde, en güçlü antioksidan aktiviteye sahip olan alfa tokoferoldür (55). Lipofilik özelliği nedeniyle; E vitamini, lipofilik çevrede (örneğin plazma lipoproteinlerinde) major serbest radikal zincir sonlandırıcısıdır. Tokoferolün adrenal bez, kalp, testis, karaciğer gibi dokularda yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir. Bu tercihi dağılımı, onun yüksek lipid çözünürlük özelliğinden kaynaklanabilir. Hücre içinde, E vitamini mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi lipidden zengin membranlar ile ilişkilidir. Bu nedenle; lipid peroksi (ROO·) ve alkoksi radikalleri (RO·) ile reaksiyona giren tokoferol membranı lipid peroksidazlara karşı korur (34). E vitamini lipid radikali ile reaksiyona girerek onu radikal olmayan bileşik haline dönüştürürken, kendisi radikal haline gelir.



E vitamini radikali nisbeten stabil ve reaktivitesi az olan bir radikaldir.

C vitamini, bu radikali E vitaminine indirger.



C vitamini radikali (semiaskorbat radikali) daha sonra semiaskorbat redüktaz ile indirgenir (11).

C Vitamini: Hidrofilik bir molekül olan C vitamini, serbest radikaller ile doğrudan reaksiyona girebilir. Ayrıca radikal haldeki E vitaminini indirgeyerek, antioksidan özelliklerini yeniden oluşturur (40).

C vitamini rölatif olarak adrenal ve hipofizde yüksek; karaciğer, dalak, pankreas ve beyinde ise düşük miktarlarda bulunur.

Diğer suda eriyen antioksidanlar ile karşılaştırıldığında, C vitamini plazma lipid peroksidasyonuna karşı en etkili korumayı gösterir (39,40,62). Ancak bu antioksidan özellikleri yanında, askorbik asit aynı zamanda prooksidandır (11,1101). Bunu Fe^{3+} 'ü Fe^{2+} 'ye indirgeyerek yapar (22).

A Vitamini : Karotenler de lipid peroksidasyona karşı koruyucu etkiye sahiptir. Beta karoten, ksantin oksidaz aracılığı ile oluşan lipid peroksidasyonunu inhibe eder (73).

Beta karoten, C vitamini gibi, hem antioksidan hem prooksidan özelliktedir. Düşük oksijen parsiyel basınçlarında antioksidan aktivite gösterirken, yüksek basınçlarında bu özelliğini kaybeder ve prooksidan etki gösterir (73,111).

Antioksidan savunmanın diğer bir kesimini de Haber-Weiss reaksiyonlarını katalize eden metalleri bağlayan bileşikler oluşturur. Bunlar başlıca seruloplazmin, transferrin, haptoglobin ve albümin olup, ekstrasellüler antioksidanlar olarak da adlandırılırlar (111).

Transferrin ve ferritin: Plazmada demiri bağlayan bir glikoprotein olan transferrin, en önemli demir taşıyan bileşiktir. Asidik pH demirin transferrinden salınmasına neden olur ve serbest demir feritine bağlanır. Hücre içi demirin önemli bir kısmı, ya sitozolde ferritine bağlı olarak, ya da lizozomal organeller içinde tutulur (11,99).

Fizyolojik koşullarda demirin biyoyararlılığı dolaşan transferrinin durumuna bağlıdır (52). Transferrin serbest demiri bağlayarak dokuları lipid peroksidasyon reaksiyonlarına karşı korur. Ancak, transferrin bu antioksidan etkiyi demirle kısmen satüre olduğu zaman gösterebilir. Tam satüre olduğu anda ise, demiri plazmaya serbestleyerek Fenton reaksiyonunu arttırabilir. Dolayısıyla prooksidan olarak da etki gösterebilir (100).

Seruloplazmin: Seruloplazmin iyi bilinen bir prooksidan olan bakırı bağlayarak radikal oluşumunu engeller. Yanısıra Fe^{2+} 'in Fe^{+3} formuna oksidasyonunu katalizleyen ferooksidaz enzimi gibi fonksiyon görerek demirin transferrine bağlanmasını kolaylaştırır (20). Etkisi nisbeten zayıf olmasına karşın,

ekstrasellüler kompartmanın antioksidan aktivitesinde önemli bir rol oynar (107).

Ayrıca demir gibi davranabilen serbest hemoglobini bağlayan haptoglobin ile bakırı bağlayan albümin de ekstrasellüler antioksidan olarak fonksiyon görürler (49).

SEKONDER ANTIOKSIDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Lipolitik enzimler: Hücreler, hasarlanmış membran yapılarını onaran çeşitli enzimlere sahiptir. Van Deenen, fosfolipaz ile hasarlı yağ asidi partiküllerinin membran lipidlerinden uzaklaştırılmasının, membran bütünlüğünü sürdürmede en etkili yol olabileceğini ileri sürmüştür. Araştırmalar membran lipid peroksidasyonunun, fosfolipaz A₂'nin lipolitik etkisini stimüle edebileceğini göstermektedir. Yakın zamanda; fosfolipidin perokside formunun, fosfolipaz A₂'nin tercihli substratı olduğu gösterilmiştir (110).

Proteolitik aktivite: Çeşitli proteolitik enzimler de, oksidatif olarak değişmiş bir çok proteini tercihli olarak parçalar ve sekonder savunmada yer alır. Bu şekilde, değişmiş ve hasarlanmış proteinlerin hücrede birikmesi önlenir (41,84). Ayrıca, hücre içi proteolitik aktivitenin serbest radikal oluşumunu takiben arttığı bilinmektedir (24).

EGZERSİZ VE OKSİDAN STRES

Egzersiz ve kasın metabolik sistemleri: Organizmanın canlılığını devam ettirebilmesi, enerji üretimi ve kullanımı ile mümkündür. İstirahatte enerji gereksinimi en düşük düzeyde iken, maksimal bir egzersiz sırasında bu gereksinim büyük oranda artar (2,50,93). İstirahat halinde kaslar bütün organizmanın kullandığı toplam enerjinin ancak % 20'sini kullanır. Kısa süreli maksimal bir egzersiz sırasında ise bu oran %90'a kadar yükselebilir. Kas aktivitesi, miyoflamentlerin ATP şeklinde depolanmış kimyasal enerjiyi mekanik enerjiye dönüştürmesi ile sağlanır (7,47). ATP'nin yıkılması ile açığa çıkan enerji, kas kasılması için hemen kullanılabilen, hazır bir enerji kaynağını oluşturur (36). Ancak, kaslarda depolanmış ATP çok kısa süre gereksinimi karşılayacak düzeydedir. Performansı yüksek olan kasta bile, maksimal kas gücünü sadece 5-6 saniye sürdürebilecek miktarda ATP bulunabilir. Bu nedenle fiziksel aktivite sırasında ilk bir kaç saniyeden sonra ATP'nin sürekli olarak yeniden yapılması gereklidir ve bundan 3 enerji sistemi sorumludur (1,35,36,64,106).

1. ATP-fosfokreatin sistemi (ATP-PC) → Hemen kullanıma hazır depo sistemi

2. Anaerobik glikoliz

3. Aerobik glikoliz

Anaerobik ve aerobik glikoliz temel enerji sistemlerini oluşturur.

ATP resentezinden sorumlu anaerobik metabolizmayı ATP-PC sistemi ve anaerobik glikoliz oluşturur. Fosfokreatin, ATP gibi kasta depolanmış ve yüksek enerji bağı içeren bir diğer kimyasal bileşiktir. Bu bileşik kreatin ve fosfat gruplarına ayrışabilir . Bu sırada açığa çıkan enerji ile, kas kasılmaları sırasında yıkılan ATP'nin bir kısmı yeniden sentezlenir (14,32,36,50). Kasların çoğunda ATP'nin 2-3 katı kadar fosfokreatin bulunur. Fosfokreatinden ATP'ye enerji transferi saniyenin küçük bir bölümü içinde gerçekleşebilir. Bu nedenle fosfokreatinde depo edilen enerji ATP'deki enerji gibi kas kasılmasında hemen kullanılabilen, hazır enerji kaynağını temsil eder (36,50). ATP ve fosfokreatinin oluşturduğu sisteme fosfojen enerji sistemi denir (1,36,50). Ancak fosfojen sistemin verdiği enerji, maksimal aktivite sırasında yaklaşık 10 saniyede tamamen tükenir (7,32,36,50). Bununla beraber fosfojen sistem olmaksızın hızlı ve güçlü hareketler oluşturulamaz. Çünkü bu tür hareketler büyük miktarlarda ATP enerjisinden çok, kullanıma hazır ATP enerjisine gereksinim gösterirler. Fosfojen sistem kas aktivitesi için, kullanıma hazır en hızlı ATP kaynağını oluşturur (36).

Kasta ATP resentezinden sorumlu diğer bir sistem anaerobik glikolizdir. Bu sistem ile glukoz laktik aside yıkılır. Anaerobik glikoliz yolu sadece karbohidratları kullanır ve 1 molekül glukoz başına 2 molekül ATP oluşturur. Anaerobik metabolizma ürünü olarak, kas yorgunluğunda ve metabolik asidozun oluşumunda önemli rol oynayan, laktik asit açığa çıkar (7,36,50). ATP molekülleri anaerobik glikoliz ile oksidatif metabolizmaya göre

2.5 kat daha hızlı oluşturulur. Normal koşullarda glikojen-laktik asit sisteminin sağladığı ATP desteği, fosfojen sistemin sağladığı süreye ek olarak 30-40 saniyelik maksimal kas aktivitesine yetecek düzeydedir (36,50).

Aerobik metabolizma yolu ile besin maddeleri karbondioksit ve suya kadar yıkılır. Aerobik glikoliz aşamasında, glukoz önce bir seri reaksiyonla pirüvik aside yıkılır. Daha sonra pirüvik asid 2 karbonlu bir bileşiğe (bir asetil grubu) dönüşür. Bu asetil grubu, koenzim-A ile birleşerek asetil Co-enzim A oluşur. Bu aşamadan sonra olay Krebs siklusu ile devam eder. Krebs siklusunda oluşan karbondioksitin tümü kana diffüze olur ve akciğerlerden atılır. Siklusta ayrıca 4 aşamada, 4 adet hidrojen atomu ayrılır. Hidrojen atomu pozitif yüklü bir proton (hidrojen iyonu) ve negatif yüklü bir elektrona sahiptir. Hidrojen iyonları ve elektronlar, $FADH_2$ ve $NADH$ yolu ile elektron transport sistemine girer ve bir seri enzimatik reaksiyon şeklinde elektron taşıyıcıları ile oksijene taşınır. Solunum zincirinde elektronlar taşınırken enerji açığa çıkar ve ATP şeklinde depolanır. 1 molekül glukoz başına 38 ATP elde edilir. Aerobik yol ile yalnız karbohidratlar değil, yağlar da metabolize olurlar (2,36). Dinlenim koşullarında ve egzersizde proteinlerin enerji metabolizmasındaki rolleri oldukça küçüktür. Bununla beraber starvasyon ya da karbohidrat mahrumiyeti gibi bazı özel durumlarda protein katabolizması önemli hale gelir (36).

Istirahatte ATP gereksiniminin hemen tamamı aerobik sistem tarafından sağlanır ve yağların kullanımı ağırlıktadır. Egzersiz sırasında ise, enerji sistemlerinin ATP oluşumundaki katkıları egzersizin tipine, kondisyon

düzeyine ve diyet özelliklerine göre değişir. 2-3 dakika süren kısa süreli ve şiddetli eforlarda enerji büyük oranda fosfojen sistem ve anaerobik glikolizden sağlanır (36,50). Yağlara oranla karbohidratların kullanımının ön planda olduğu bu tür anaerobik aktivitelerde, büyük miktarda laktik asit birikimi de olur (36). Düşük şiddette (submaksimal) ve uzun süreli egzersizlerde, başlangıçta, yeterli oksijen donanımı sağlanıncaya kadar anaerobik glikolizin katkısı bulunmakla beraber, predominant ana enerji yolu aerobik metabolizmadır (55,106). Bu tür aerobik egzersizlerde çok miktarda laktik asit birikimi oluşmaz. Egzersiz süresi uzadıkça, ATP resentezi için gerekli enerjinin sağlanmasında yağların katkı oranları artar. Ancak çoğu egzersiz; kesin bir şekilde aerobik veya anaerobik olarak ayrılabilen, her iki metabolik yolun birlikte katkısını gerektiren aktivitelerdir.(36)

Egzersiz ve oksijen kullanımı: Kasal aktivite, enerji tüketimi ve üretimini, dolayısıyla çalışan kasa kan akımını ve oksijen kullanımını önemli derecede artırır (7,95,50). Enerji tüketimi kasların aktivite derecesi ile orantılıdır. Bireye giderek artan şiddette bir iş yaptırıldığında kullandığı oksijen miktarı da linear bir şekilde artar ve belirli bir düzeye ulaşır. Bu noktadan itibaren iş yükü artsa bile, oksijen kullanımı değişmez. Bu noktada kişinin kullandığı oksijen maksimaldir ve 'maksimal oksijen kullanımı' ya da 'maksimal aerobik kapasite' olarak adlandırılır. Fiziksel iş kapasitesi ile de sinonim olarak kullanılır (9,90,92).

Kullanılan oksijenin organizmaya alınması ve dokulara taşınması solunum ve dolaşım sistemlerinin görevi olduğundan, bu iki sistem maksimal oksijen kullanımı üzerinde etkilidir. Normal koşullarda, organizmanın kullandığı oksijen miktarı esas olarak atım volümüne (kalbin kasılma gücüne) bağlıdır. Bununla beraber, kalp frekansını, arteriyel oksijen içeriğini veya arteriyovenöz oksijen farkını azaltan durumlar da VO_2max değerini düşürürler (42,15,37).

Organizmanın maksimal oksijen kullanma özelliği önemli oranda genetik faktörlere bağlı olmakla birlikte düzenli antrenmanlarla artırılabilir (15,37,69). VO_2max bireyin yaşına, cinsine, vücut yapısına, kondisyon düzeyine göre değiştiği gibi çevresel faktörlerin de etkisi altındadır (2,10). Doğumdan itibaren yaşla birlikte artarak, 18-20 yaş dolayında en yüksek değerine ulaşır. 12 yaşına kadar belirgin bir cinsiyet farkı olmamasına karşın, bu yaştan sonra fark belirmeye başlar ve erişkin kadınlarda erkeklere göre %25-30 daha düşüktür.

Egzersiz ve kan akımı: Egzersizde kalp debisi gereksinimle orantılı olarak artar. Dinlenim halinde iskelet kaslarına giden kan, kalp debisinin %15-20'sini oluştururken, egzersizde bu oran %85-88'e dek yükselir. Diğer taraftan karın organlarına giden kan miktarı azalırken, beyine giden miktar değişmez. Koronerlerden geçen kan miktarı ise gereksinim oranında artar. Deri dolaşımı, ısı düzenlenmesinde oynadığı rol gereği hafif ve orta şiddetli

egzersizde artar, ağır egzersizde azalsa da istirahat değerinin altına düşmez (8,37,64).

Arteriyovenöz oksijen farkı: Dinlenme koşullarında %4-5 kadar olan arteriyovenöz (A-V) oksijen farkı, egzersizin şiddeti ile linear bir şekilde artarak, maksimal egzersizde yaklaşık %15-17'ye yükselir (8,15,50). Maksimal A-V oksijen farkı dayanıklılık antrenmanları ile hafifçe artar. Belirgin olmayan bu artıştan; hemoglobin disosiyasyon eğrisinde sağa kayma, mitokondriyal uyumlar, miyoglobin konsantrasyonunda ve/veya kas kapiller yoğunluğunda artış gibi faktörlerin sorumlu olduğu kabul edilmektedir (15,37).

Egzersiz metabolik süreçleri hızlandırarak serbest radikal oluşumunu artırabilmektedir. Serbest radikallerdeki artış antioksidan savunma kapasitelerini aşarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını tetikleyebilir (31). Serbest radikal üretim hızının, doku kan akımı veya oksijen kullanımının bir fonksiyonu olarak gerçekleştiği bildirilmiştir (7,50,60,95). Şiddetli bir egzersizde iskelet kaslarının oksijen kullanımı 100-200 kat artabilmektedir (2,82,95). Mitokondriyal solunum zincirinde normalde de %1-2 oranında süperoksit radikali oluşmaktadır. Bu radikalin, ubikinon-sitokrom b basamağında, ubisemikinon oksidasyonu ile ilişkili olarak meydana geldiği gösterilmiştir (111). NADH dehidrogenaz da otooksidasyona uğrayabilen elektron taşıyıcısı olup, mitokondri radikal oluşumunun bir bölümünden sorumlu tutulmaktadır (11,75). Egzersiz mitokondri elektron transport zincirinde

indirgenmiş ekivalanların akışını hızlandırarak ve ubikinonların oksidasyonunu artırarak daha fazla süperoksit radikalinin üretimine neden olmaktadır (45,12).

Oksijen kullanımının düşük olduğu durumlarda süperoksit radikali ve onun türevleri antioksidan savunma ile zarasızlaştırılır. Ancak oksijen tüketim hızı ve elektron transport zincirinin önemli derecede arttığı durumlarda (egzersiz sırasında kasta olduğu gibi), bu savunma mekanizmaları serbest radikal oluşumuna ayak uyduramayarak hücre hasarına neden olabilir (57).

Oksijenin yetersiz olduğu durumlarda, ATP'nin ADP'ye yıkımındaki artış nedeniyle pürin metabolizması hızlanır. Buna bağlı olarak ksantin oksidaz aktivasyonu ile ürik asit miktarı artar. Maksimal şiddetteki bir egzersizde serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyon olaylarının, ürik asit oluşturan ksantin oksidaz ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (38). Egzersizden sonra plazmada saptanan yüksek ürik asit ve hipoksantin düzeyleri, kas pürin oksidasyonundaki artışın göstergesi olabilir (31). Ksantin dehidrogenaz enziminin oksidaz formuna dönüşmesi için; ısı artışı, proteoliz, anaerobik koşullar, tiol gruplarının oksidasyonu gibi belirli faktörler gereklidir. Egzersiz esnasında ısı artışı, kalp aktivasyonu ile endotel hücrelerindeki kalsiyum homeostazında bozulma, reaktif oksijen ürünleri ile enzimin tiol gruplarının oksidasyonu gibi koşullar nedeniyle ksantin oksidaz artmaktadır. Özellikle egzersizden 48 saat sonra ksantin oksidaz miktarlarında belirgin artış bildirilmiştir (30).

Diğer taraftan egzersiz hemoglobinin otooksidasyonunu artırmaktadır (21). Normalde Hb'nin Met Hb'ne oksidasyonu sırasında süperoksit radikali oluşur. Eritrositlerdeki Cu-Zn SOD ile süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürülür. Hidrojen peroksiti de CAT veya GPx temizler. Heksozmonofosfat şantında oluşan NADPH, Met Hb'in Hb'e çevrilmesinde rol alır (80,89). Egzersiz sırasında, kassal aktivitenin şiddeti ile ilişkili olarak dolaşımdaki eritrosit miktarı, dolaşım hızı ve arteriyo-venöz oksijen farkı; yani aktif kasa bırakılan oksijen miktarı ve metabolik hız artmaktadır (8,15,50). Bu ise serbest radikal oluşumunun hızlanmasına yol açmaktadır. Diğer yandan egzersiz şiddeti ile orantılı olarak hızlanan aerobik metabolizma sırasında artan serbest oksijen türevleri Hb'i etkileyerek, Hb kaynaklı serbest radikal oluşumunu daha da artırabilmektedir (18).

Değişik egzersiz tipi ve antrenman düzeylerinin kateşolamin yanıtlarının farklı olduğu ve kateşolaminlerin serbest radikal prosesleri ile etkileşiminin dikkate alınması gerektiği ileri sürülmüştür. Bununla birlikte, sıçanlarda yüzme ve koşma antrenmanlarına plazma kateşolamin yanıtlarının farksız olduğu bildirilmiştir (4).

MATERYEL VE METOD

Çalışma, 4 haftalık yüzme eğitim kursuna katılan, 6-11 (ort 8.3 ± 1.7) yaşları arasında 5'i kız, 6'sı erkek toplam 11 gönüllü çocuk üzerinde yapıldı. Başlangıçta 17 çocuk çalışmaya alınmışken, kursu tamamlamayan 5 çocuk ile kan örneklerinin alındığı gün enfeksiyonu (lökositoz) olan 1 çocuk çalışmadan çıkarıldı.

Eğitim programı sırasında çocuklar, bir öğünde ortalama 670-800 kalori içeren bir diyet almıştır. Diyet, yeterli vitamin ve minerali içermektedir.

Günlük antrenman programı :

09.30 - 10.00 Oyun saati

10.00 - 10.45 Kondüsyon salonu

(Isınma, dikey sıçrama, esnetme, gerdirme, çekme, döndürme hareketleri)

11.00-11.45 Yüzme (Su ile tanışma, kol ve bacak ısınmaları, nefes koordinasyon çalışmaları, stilli yüzme)

15.00-16.00 Kapalı spor salonu

(Küçük koşular, sıçramalar, aletle veya topla oyunlar, boşalma koşusu)

16.15-17.00 Yüzme (kol-kalça-omuz başı-el ve ayak bileklerinin ısıtılması şeklinde ön ısınma hareketleri; su ile tanışma, stil çalışması)

Çalışmaya alınan çocukların, yüzme eğitim kursuna başlamadan önce sağlık kontrolleri yapıldı. Boy ve ağırlıkları ayakkabısız ve şortla N.A.N marka baskül kullanılarak ölçüldü. Vücut yağ ölçümleri 0.2 mm'lik bölümleri bulunan Holtain skinfold kaliper kullanılarak yapıldı. Ölçümler ayakta ve vücudun sağ tarafından alındı. Triceps, subscapula, abdomen ve suprailiak bölgelerden elde edilen değerlerden aşağıda belirtilen Yuhasz Metodu kullanılarak vücut yağ oranları (VYO) hesaplandı.

% Vücut yağ oranı = (Triceps+subscapula+abdomen+suprailiak deri katmanları mm) x 0.153 + 5.783

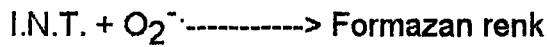
Kan örnekleri dinlenim durumunda ve saat 9:00' da antekübital venden alındı. Heparinize tüplere alınan kan örneklerinde aynı gün, eritrosit süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri saptandı. MDA düzeyleri için plazma ayrılarak -70 derecede saklandı ve ölçümler 1 hafta sonra yapıldı.

Hemoglobin miktarı 540 nm'de cyanmethemoglobin prensibine göre spektrofotometrik ölçümlerle saptandı. Hematokrit değerleri santrifügasyonla, eritrosit sayısı Cell-Dyn 400 hematology analyser cihazında belirlendi. MCV ve MCHC değerleri hesaplandı.

1- Eritrosit SOD aktivitesinin ölçülmesi:

Eritrosit SOD aktivitesi Randox'un RANSOD (Kat. No. SD 125) kiti ile araştırıldı. SOD'ın rolü, oksidatif enerji süreçleri sırasında oluşan toksik süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu sağlamaktır. Çalışma metodu, süperoksit radikalleri oluşturmak üzere ksantin ve ksantin oksidazı kullanır. Oluşan süperoksit radikalleri 2-(4-iodophenil)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.) ile reaksiyona girerek, kırmızı formazan renk oluşturur. Yöntemin esası, bu reaksiyonun SOD tarafından inhibisyon derecesine dayanır.

Ksantin Oksidaz



SOD



Spektrofotometrik prosedür:

Dalga boyu: 505

Küvet : 1 cm ışık yolu

Sıcaklık : 37 derece

Ölçüm : Havaya karşı

A- Örneklerin Hazırlanması:

0.5 ml heparinize tam kan 3000 rpm'de 10 dakika santrifüje edilerek plazması uzaklaştırıldı. Daha sonra eritrositler, 3 ml % 0.9 NaCl ile dört kez yıkandı. Yıkanmış eritrositlere 2 ml soğuk redistile su eklenip, +4 derecede 15 dakika bekletildi. Elde edilen hemolizat 0.01 molar fosfat tampon (pH:7.0) ile dilüe edildi. 25 kat dilüsyon (dilüsyon katsayısı: 100) ile, örneklerin % inhibisyonu 30-60 arasında olacak şekilde ayarlandı.

Dilüe örneğe 1.7 ml mixed substrat eklenip iyice karıştırıldı. Kör için, 0.05 ml fosfat tampona 1,7 ml mixed substrat eklendi. Daha sonra örnekler ve köre 0.25 ml ksantin oksidaz eklendi ve aynı anda süre başlatıldı. 30 saniye sonra başlangıç absorbansı (A1) ve bundan 3 dakika sonra son absorbans (A2) Shimadzu UV-1201V spektrofotometrede okundu.

B- Standartların hazırlanması:

Standart eğri için, standart solusyonun (S6) ard arda dilusyonları, 0.01 molar fosfat tampon (pH:7.0) ile aşağıdaki şekilde yapıldı:

S5	5ml S6	5ml fosfat tampon
S4	5ml S5	5ml fosfat tampon
S3	5ml S4	5ml fosfat tampon
S2	5ml S3	6ml fosfat tampon
S1:	Kör (fosfat tampon)	

Daha sonra apsis standart konsantrasyonu, ordinat % inhibisyonu gösterecek şekilde grafik çizildi.

C- Sonuçların hesaplanması:

Standart ve örnekler için ΔA hesaplandı.

$$\frac{A_2 - A_1}{3} = \Delta A \text{ standart veya örnek}$$

$$100 - \frac{\Delta A \text{ std./dak.}}{\Delta A \text{ kör /dak.}} \times 100 = \% \text{ inhibisyon}$$

Her bir standart konsantrasyonu için % inhibisyon hesaplandı ve grafikte işaretlendi.

Aynı formül ile örneklerin % inhibisyonu hesaplandı. Bu % inhibisyonlar kullanılarak örneklerin SOD Ünite/ml olarak değerleri standart eğriden bulundu.

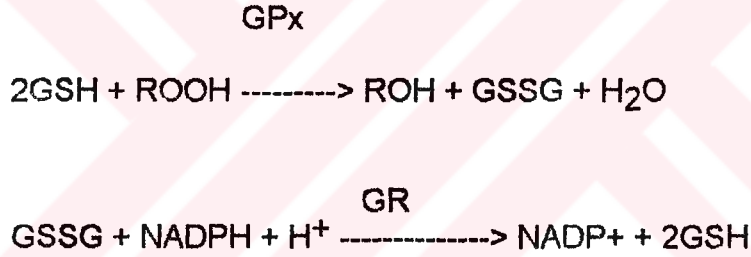
SOD Ü/ml x dilüsyon faktör = SOD Ü/ml tam kan değeri hesaplandı.

Ölçülen hemoglobin miktarına göre, enzim aktivitesi SOD Ü/g.hemoglobin olarak ifade edildi.

$$\frac{\text{SOD Ü/ml}}{\text{g Hb/ml}} = \text{SOD Ü/g.Hb}$$

2- Glutasyon peroksidaz aktivitesinin ölçülmesi:

GPx aktivitesi Randox'un RANSEL (Kat. No.RS 504) kiti ile saptandı. Bu metod Paglia ve Valentine'in tanımladığı metoda dayanır (85). GPx, kümen hidroperoksit ile glutasyonun (GSH) oksidasyonunu katalizler. Glutasyon redüktaz (GR) ve NADPH varlığında, okside glutasyon (GSSG) süratla indirgenmiş formuna çevrilir, bu sırada NADPH, NADP+'e okside olur. Spektrofotometrede 340 nm'de absorbandsdaki azalma ölçülür.



Spektrofotometrik prosedür

- Dalga boyu: 340
- Küvet : 1 cm ışık yolu
- Sıcaklık : 37 derece
- Ölçüm : Havaya karşı

A- Örneklerin hazırlanması:

Heparinize tam kan kullanıldı.

İnsan kan örneklerinin dilüsyonu için Drabkin miyarı kullanıldı. Bu işlemin nedeni, insan kanında yanlış olarak yüksek değerler verebilen peroksidazların pozitif interferansını önlemektir. 0.05 ml heparinize tam kana 1 ml dilüe edici ajan eklenip 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra 1 ml Drabkin miyarı eklendi ve bu işlemten sonra 20 dakika içinde örnekler değerlendirildi.

Dilüe örneğe 1.00 ml miyar eklenip karıştırıldı. Kör için 0.02 ml distile suya 1.00 ml miyar eklendi. Daha sonra köre ve örneklere 0.04 ml kümen hidroperoksit eklenip, 1 dakika sonra kör ve örneğin başlangıç absorbanları Shimadzu UV-1201V spektrofotometrede okundu; aynı anda süre başlatıldı. Bundan 1(A1) ve 2 dakika(A2) sonra absorbanlar tekrar okundu.

B- Sonuçların hesaplanması:

Gpx konsantrasyonu aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\text{Ü/L hemolizat} = 8412 \times \Delta A \text{ 340 nm/dk}$$

$$\Delta A = \Delta \text{ örnek} - \Delta \text{ kör}$$

$$\Delta A \text{ (örnek veya kör için)} = \frac{A1 + A2}{2}$$

Ü/L hemolizat x 41 = Ü/L tam kan hesaplandı. (Ü/L hemolizat dilüsyon faktörü ile çarpıldı.)

GPx aktivitesi Ü/g.Hb. olarak ifade edildi.

3-MDA ölçümü:

MDA (Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler:TBARM) Satoh ve Yagi'den modifiye yöntemle saptandı (79).

1- Kapalı santrüj tüplerine 0.5 ml örnek, 4 ml N/12 H₂SO₄ eklenip karıştırıldı.

2- Üzerine % 10'luk fosfotungstik asit eklendikten sonra oda ısısında 5 dakika bekletildi.

3- 3000/dk'de 10 dakika santrifüjlenip süpernatant atıldı.

4- Presipitata 2.5 ml H₂SO₄ eklenip karıştırıldıktan sonra yeniden santrifüjlenip süpernatant atıldı.

5- Örnek ve köre 2.5 ml, standarda (0.5 ml) 2 ml N/12 H₂SO₄ ve her birine 3'er ml tiyobarbitürik asit konulup karıştırıldı.

6- Örnek, standart ve kör tüpleri 60 dakika kaynar su banyosunda tutuldu, sonra soğutuldu.

7- Oluşan pembe renk 3 ml n-bütül alkol ile ekstrakte edildi.

8- Örnek ve standartların absorbanları, köre karşı 530 nm'de okundu.

9- Apsis standart konsantrasyonunu, ordinat absorban değerlerini gösterecek şekilde grafik çizildi. Örneklerin MDA miktarları grafikten bulunup sonuçlar nmol/ml olarak ifade edildi.

İstatistiksel değerlendirme

Yüzme eğitim kursu öncesi ve sonrasında alınan değerler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

BULGULAR

4 haftalık yüzme kursuna katılan 6-11 yaşları arasında, ortalama boyları $131 \pm 8,97$ cm olan çocukların ağırlıkları kurs öncesinde ortalama 28.86 ± 1.21 kg, sonrasında ise 28.83 ± 6.48 kg; % VYO ise kurs öncesinde $\% 12.73 \pm 4.27$, sonrasında $\% 12.80 \pm 3.80$ olarak saptandı. Kurs öncesi ve sonrası ağırlıkları arasında anlamlı bir değişiklik yoktu. Tablo 1'de çalışmaya katılan çocukların antropometrik özellikleri gösterilmektedir.

Kurs öncesi ortalama hemoglobin (Hb) ve hematokrit (Hct) değerleri sırası ile 12.98 ± 1.21 ve 39.12 ± 3.11 olarak saptandı. Kurs sonrasında bu değerler 12.38 ± 0.96 ve 36.79 ± 2.39 olarak bulundu. Her iki parametredeki azalma $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı idi. Hematolojik değerler Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 3'de görüleceği gibi SOD Ü/ml tam kan değerleri kurs öncesi 74.59 ± 15.22 , kurs sonrası 97.52 ± 26.51 olarak saptandı. Bu artış $p=0.02$ düzeyinde anlamlı idi. SOD Ü/gHb düzeyleri de anlamlı artış gösterdi ($p < 0.01$). Kurs öncesinde 581.07 ± 146.23 iken kurs sonrasında 791.11 ± 221.88 olarak bulundu.

Gpx'in (Ü/l tam kan ve Ü/gHb) kurstan önceki ortalama değerlerine kıyasla sonraki değerleri artmış olmakla birlikte aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Kurs öncesinde ortalama Gpx; 5991.83 ± 2234.13 Ü/l tam kan, 45.48 ± 16.50 Ü/gHb iken kurs sonrasında bu değerler sırası ile 6192.92 ± 2044.13 ve 50.28 ± 14.83 olarak bulundu. GPx'e ilişkin sonuçlar Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 5'de görüleceği gibi plazma MDA miktarı yüzme kursu öncesinde 1.14 ± 0.37 nmol/ml, sonrasında ise 0.91 ± 0.33 nmol/ml olarak saptandı. MDA'daki bu azalma $p=0.02$ düzeyinde anlamlı idi.

TABLO 1: Antropometrik Özellikler

No	Yaş	Boy(cm)	Ağırlık(Kg)		%VYO	
			K. öncesi	K.sonrası	K.öncesi	K.sonrası
1	11	144	40	41	15,58	16,22
2	10	139	30	29,7	10,04	10,45
3	7	126	25	24,1	12,27	12,07
4	11	142	33,5	34,5	10,51	11,34
5	8	121	27	26,3	18,96	17,81
6	9	136	28	28,5	10,22	11,77
7	7	125	26	26,2	10,20	10,46
8	7	126	30	29,1	11,64	11,43
9	6	116	19	18,3	10,31	10,01
10	9	135	36	36,5	21,94	20,84
11	7	131	23	23	8,43	8,42
Ort. ± SD	8,36±1,74	131±8,97	28,86±5,98	28,53±6,48	12,74±4,27	12,80±3,80

TABLO 2: Hematolojik Parametreler

No	Hb (g/dl)		Htc (%)	
	K. öncesi	K. sonrası	K. öncesi	K. sonrası
1	14,1	13	42,7	38,1
2	11	10,9	35,3	33,6
3	10,7	10,5	32,8	31,8
4	14,3	13,7	42,7	39,6
5	12,6	13,1	37,4	39,3
6	13,9	12,7	40,7	37
7	13,4	12,5	40,2	36,9
8	13,4	12,3	39,8	36,9
9	12,4	11,8	37,7	35,2
10	13,9	12,7	41,9	38,1
11	13,1	13	39,2	38,2
Ort. \pm SD	12,98 \pm 1,21	12,38 \pm 2,39	39,12 \pm 3,11	36,79 \pm 2,39

TABLO 3: SOD aktivitesi

Denekler	SOD Ü/ml tam kan		SOD Ü/gHb	
	K. öncesi	K. sonrası	K. öncesi	K. sonrası
1	85,5	61,5	606,38	473,07
2	105	115,5	954,54	1059,63
3	63	66	588,78	628,57
4	69	93	482,51	678,83
5	69	102	547,61	778,62
6	88,5	130	636,69	1023,62
7	81	102	604,47	816
8	68,25	147	509,32	1195,12
9	54	88,5	435,48	750
10	56,25	69,75	404,67	549,21
11	81	97,5	618,32	750
Ort ± SD	74,59 ± 15,22	97,52 ± 26,52	581,07 ± 146	791,11 ± 221,88

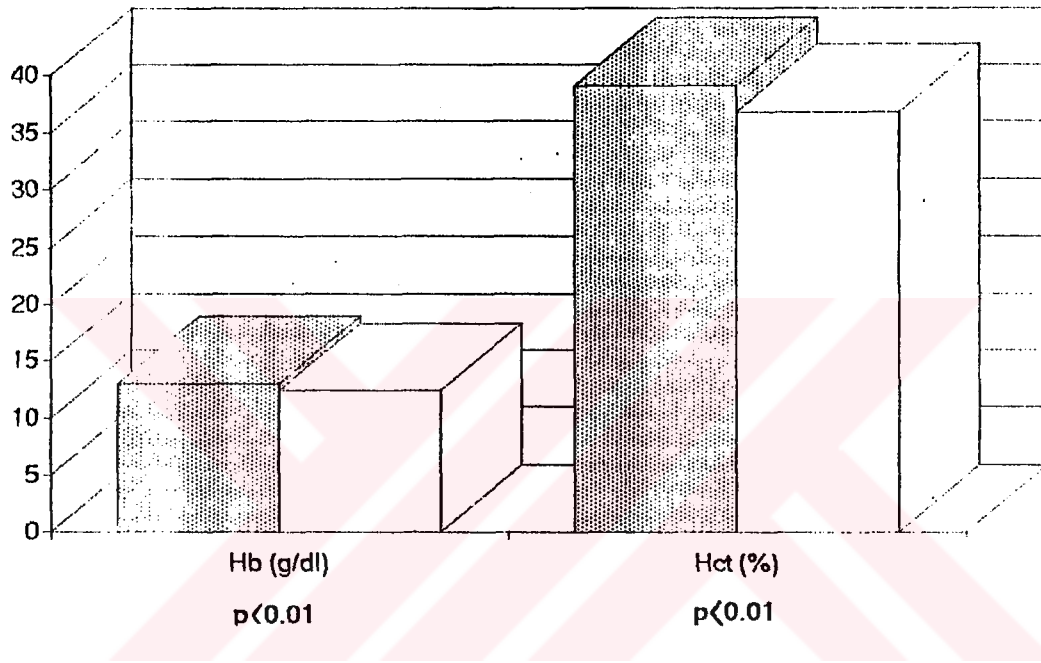
TABLO 4: GPx aktivitesi

Denekler	Gpx Ü/l tam kan		Gpx Ü/gHb	
	No	K. öncesi	K. sonrası	K. öncesi
1	5345,82	3621,36	37,91	30,68
2	2412,24	5518,27	21,94	50,62
3	8104,96	5563,16	75,74	55,83
4	8967,19	9829,42	62,7	71,74
5	2414,24	4828,48	19,16	36,85
6	6552,94	7766,07	47,14	61,1
7	7760,07	6897,84	57,91	55,18
8	6562,948	6035,61	48,9	49,07
9	5345,82	6208,05	43,11	52,61
10	5518,27	2931,58	39,69	23,08
11	6035,61	8622,3	46,07	66,32
Ort. ± SD	5991,8 ± 2234,1	6192,9 ± 2044,4	45,48 ± 16,50	50,28 ± 14,83

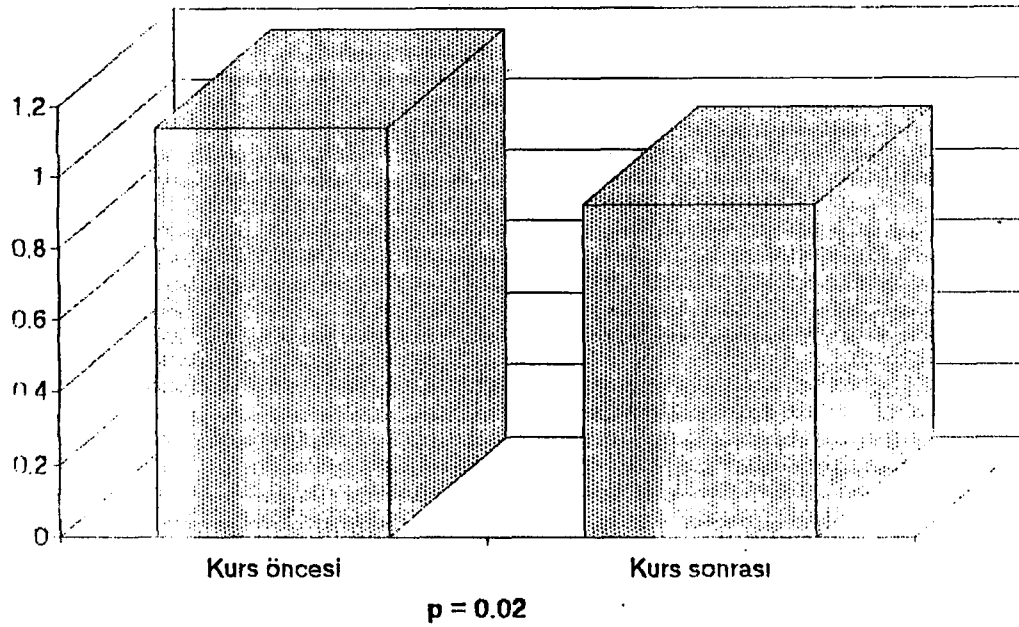
TABLO 5: MDA Düzeyleri

Denekler	MDA nm/ml	MDA nm/ml
No	K. öncesi	K. sonrası
1	1	0,8
2	1,5	1
3	1,25	1,3
4	0,5	0,6
5	0,8	0,3
6	1,2	0,8
7	0,7	0,6
8	1,6	1,4
9	1,5	1
10	1,5	1,2
11	1	1,1
Ort. \pm SD	1,14 \pm 0,37	0,91 \pm 0,33

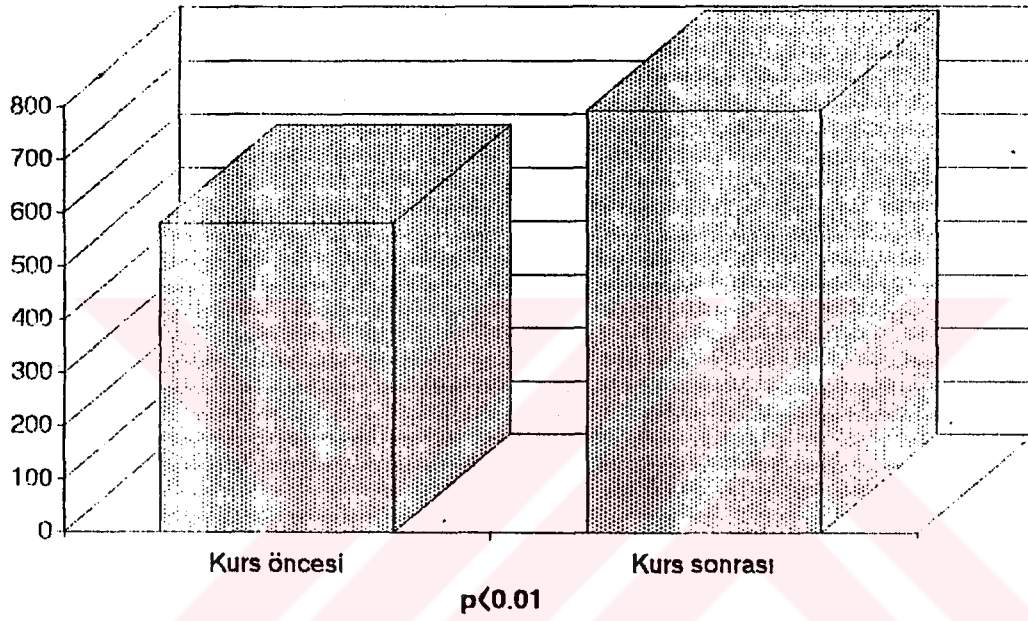
Şekil 1: Kurs öncesi ve sonrası Hb. ve Hct. değerleri



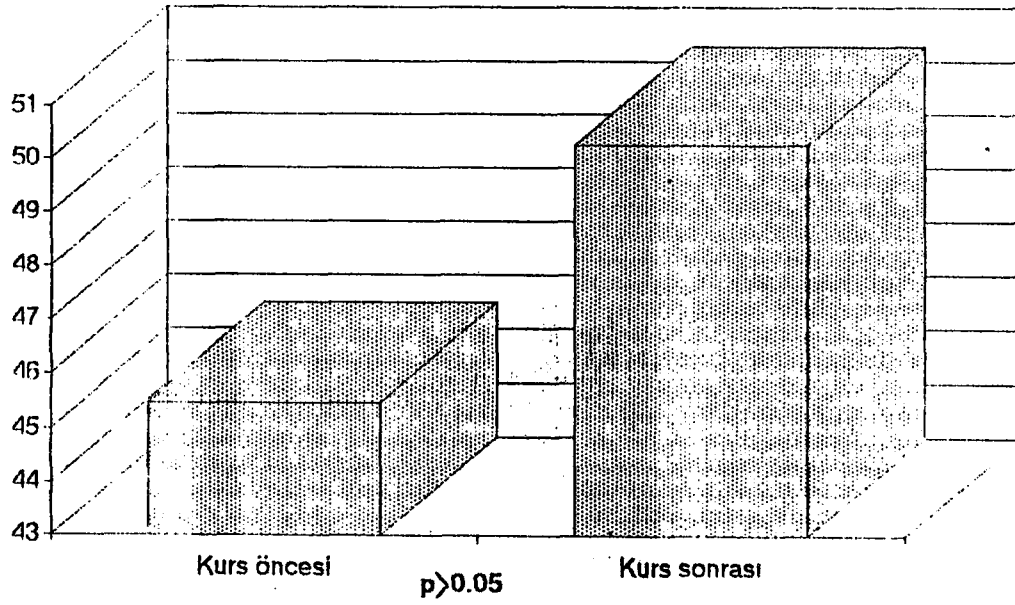
Şekil 2: MDA değerleri (nm/ml)



Şekil 3: SOD aktivitesi (Ü/g.Hb)



Şekil 4: GPx aktivitesi (Ü/g.Hb)



TARTIŞMA

Egzersiz metabolik süreçleri hızlandırarak serbest radikal oluşumunu artırabilmektedir. Serbest radikallerdeki artış antioksidan savunma kapasitelerini aşarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını tetikleyebilir (31). Serbest radikal üretim hızının, doku kan akımı veya oksijen kullanımının bir fonksiyonu olarak gerçekleştiği bildirilmiştir (7,50,60,95). Şiddetli bir egzersizde iskelet kaslarının oksijen kullanımı 100-200 kat artabilmektedir (2,82,95). Egzersizin, şiddet ve süresiyle orantılı olarak oksidatif strese neden olduğu ve lipid peroksidasyon reaksiyonlarını arttırdığı düşünülmektedir. (46)

Bu çalışmada 4 haftalık yüzme eğitim kursunun, lipid peroksidasyon ve antioksidan enzimlerden SOD ve GPx üzerine etkileri araştırılmıştır.

Kurs sonunda Hb ($p<0.01$) ve Htc ($p<0.01$) değerlerinin öncesine kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı saptanmıştır. Hb azalmasında; egzersiz ile yapısında demir içeren enzimler ve myoglobin sentezinin artışı; egzersiz sırasında oksijen dissosiasyon eğrisinin sağa kayması nedeniyle doku oksijenasyonunun artmasına bağlı olarak eritropoetin yapımının azalması ve/veya antrenmanla meydana gelen hemodilüsyon nedeniyle göreceli düşüş gibi olasılıklar söz konusudur (99).

Kronik olarak ılımlı düzeyde oksidan stres ile karşı karşıya gelmenin antioksidan savunmayı güçlendirdiği bildirilmiştir (71,65,103). Dolayısıyla, ılımlı şiddette, düzenli olarak yapılan egzersiz antioksidan savunmayı kuvvetlendirmektedir (60). Araştırmacılar, düzenli antrenman ile antioksidan savunmanın bazı elemanlarının arttığını bildirmiştir (3,59,67). Genel kanı, egzersizin antioksidan enzim aktivitesini değiştirebileceği yönündedir(3,16,80). Ancak bunun antioksidan savunmada yer alan enzimlerden hangisi/hangileri olduğu ve hangi koşullar altında aktive olabileceği tartışmalıdır. Sıçanlarda egzersiz ile karaciğer ve miyokardiyal enzim sisteminde çok az değişiklik oluşurken, iskelet kası antioksidan enzimlerinde (özellikle glutatyon peroksidaz enziminde) adaptif artışa neden olabileceği bildirilmiştir (71). 12 hafta antrenman yaptırılan sıçanlarda da benzer sonuçlar bulunmuştur (70). Aynı sonuçlar yaşlı sıçanlar ile yapılan çalışmalardan da elde edilmiştir. (63). 9 ve 21 hafta yüzme antrenmanı yaptırılan sıçanlarda, kanda CAT, GPx, SOD düzeylerinin arttığı, ancak 21 haftalık antrenman sonunda karaciğer CAT ile GPx düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir (65). Antioksidan enzimlerdeki bu artışların antrenmana pozitif adaptasyon olabileceği düşünülmüştür. Bir başka çalışmada antrene sıçanlarda SOD ve Se bağımsız GPx yüksek bulunurken; selenyum bağımlı GPx enziminde ise anlamlı artış bildirilmemiştir (103).

İnsanlarda fiziksel egzersizin antioksidan enzimlere etkilerine ilişkin az veri bulunmaktadır. Ohno ve ark submaksimal şiddette 30 dakikalık bir egzersiz ile antioksidan enzimlerde anlamlı bir değişiklik saptamamışlardır

(80). Sedanterler ile karşılaştırıldığında, atletlerde plazma Mn-SOD düzeyi daha yüksek bulunurken , CuZn-SOD düzeyinde anlamlı farklılık bulunmamıştır (81). Ancak bir başka çalışmada, 3 ay süreli antrenmandan sonra, SOD'ın her iki izoenziminde de anlamlı bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (82). Mena P. ve ark kontrol, amatör ve profesyonel bisikletçi olan 3 grupta antioksidan enzimleri araştırmıştır. Dinlenim durumunda, amatör bisikletçilerde SOD kontrolden yüksek, profesyonel grupta ise SOD, GPx, CAT kontrole göre anlamlı yüksek bulundu (77).

Yüzme kursu bitiminde, kurs öncesi ile karşılaştırıldığında SOD aktivitesinde anlamlı yükselme ($p<0,01$) bulunmuştur. SOD antioksidan savunmanın ilk basamağında yer almaktadır. Süperoksit radikali oluşturan maddeler verildiğinde enzim aktivitesinin arttığı görülmüştür (58).Egzersiz sırasında da artan süperoksit radikalleri SOD ile zararsızlaştırılır. SOD aktivitesinde gözlenen bu artışın egzersizin indüklediği oksidatif stresi azaltmaya yönelik pozitif adaptasyon olabileceği düşünülmüştür.

SOD tarafından oluşturulan H_2O_2 , GPx ve CAT gibi hidroperoksidazlarla moleküler oksijene dönüştürülmektedir. Dolayısıyla GPx, SOD kadar yük altında değildir. Bu araştırmada yüzme kursu sonunda GPx aktivitelerinde anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Bunun, uygulanan egzersiz programının ikinci basamak antioksidan savunmada yer alan enzimlerin kapasitelerini aşacak düzeyde olmamasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Lipid peroksidasyonunu saptamada farklı yöntemlerin kullanılması, egzersiz ile lipid peroksidasyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koymada bazı sorunlara yol açmaktadır (4). Bu çalışmada lipid peroksidasyon düzeyini belirlemek için, en sık kullanılan yöntem olan MDA (TBARM) tayini seçilmiştir. Hayvan çalışmalarının çoğunda, egzersiz sonrasında kas dokusunda MDA düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir. Davies ve ark. antrene olmayan farelerde, şiddetli koşma egzersizini takiben MDA düzeylerinde %81 artış bildirmişlerdir (21). 1 - 10 - 60 gün egzersiz yaptırılan 3 grup sıçanın tümünde, egzersiz sürelerinin sonunda MDA düzeyleri yüksek bulunmuştur. (103). Ancak Ji (43) ve Vihko (93) orta şiddetteki egzersizden sonra, istirahat düzeyi ile karşılaştırıldığında, kas ve karaciğer dokularında MDA düzeylerini farklı bulmamışlardır. Bu sonuçlar; lipid peroksidasyon düzeylerinin egzersiz şiddeti ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Bir başka çalışmada da, şiddetli koşma egzersizini takiben, iskelet kası MDA düzeylerinde %120, orta şiddetteki koşma sonrasında ise %68 artış bulunmuştur (4).

Egzersizin şekli lipid peroksidasyonunu etkileyen bir diğer faktör olabilir. Bisiklet ergometresi ile yapılan çalışmalarda saptanan lipid peroksidasyon düzeylerindeki artışın, yüzme egzersizindeki artıştan daha fazla olduğu bildirilmiştir (43).

Antrenman durumu da egzersize MDA yanıtı ile ilişkilidir. K.R. Jenkins, antrene olan ve olmayan sıçan gruplarında, akut şiddetli egzersiz sonucunda idrar MDA miktarlarında anlamlı artış bulmuştur (61). Bir başka çalışmada ise;

ağır bir egzersizi takiben MDA düzeyindeki yükselmenin, antrene sıçanlarda antrene olmayanlara kıyasla daha az olduğu tesbit edilmiştir (87). Yine antrene olan ve olmayan sıçanlarda yapılan bir araştırmada, submaksimal şiddette bir egzersize yanıt olarak TBARM düzeyleri antrene grupta, diğer gruba göre daha az olduğu bildirilmiştir (3).

İnsanlarda egzersiz ile lipid peroksidasyonu ilişkisini araştıran çalışmalar az sayıdadır (60). Kanter ve ark. şiddetli koşma egzersizini takiben kişilerin kan TBARM konsantrasyonlarının istirahate göre %77 arttığını yayınlamıştır (66). Sumida ve ark (98) sedanter kişilerde bisiklet ergometresinde yaptırılan maksimal şiddette egzersiz ile MDA düzeylerinin arttığını bildirirken, Vinikka ve ekibi aynı yöntemle MDA miktarlarında değişlik saptamamıştır (105). Farklılıkların, kişilerin sağlık durumlarına ve/veya egzersizin absolu şiddetine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ohno ve ark. ise antrenmanın lipid peroksidasyonunu azalttığını ve 3 haftalık egzersizden sonra istirahat lipid peroksidasyon düzeylerinin daha düşük olduğunu bildirmiştir (3). Jenkins ve arkadaşları da antrenmana adaptasyon olarak TBARM düzeylerinin dşğğn ortaya koymuştur (59).

Kurs sonunda MDA düzeylerinde düşüş saptanmıştır ($p < 0.05$). Antioksidan savunma sisteminde gözlenen güçlenme nedeniyle lipid peroksidasyonunda azalma meydana geldiği düşünülmüştür.

Son yıllarda yaşlanma, vücut direnci, çeşitli hastalıkların etyolojisinde yer alma gibi çok çeşitli alanlarda oksidan stres ve antioksidan savunma sistemleri konusunda araştırmalar yapılmaktadır. İlimli egzersizin antioksidan savunma sisteminde güçlenme ve lipid peroksidasyonunda azalma gibi etkiler göstermesi yukarıda sayılan faktörler açısından da önemlidir. Egzersizin bu yönüyle araştırılması sağlıklı yaşamın uzun süre devam ettirilmesinde önemli katkılar sağlayabilir.



ÖZET

Normalde organizmada oksidan ve antioksidan sistemler arasında hassas bir denge vardır. Dengenin bozulması lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedir. Superoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx), antioksidan savunmanın ilk basamaklarında yer alan enzimlerdir.

Egzersiz, metabolik süreçleri ve oksijen tüketimini artırarak serbest radikal oluşumuna neden olmaktadır. İlimli ve düzenli antrenman sırasında oluşan oksidan strese adaptif olarak bazı antioksidan enzim aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir. Araştırmalarda elde edilen sonuçlardaki farklılıkların egzersizin türü, şiddeti ve/veya süresi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, 4 haftalık yüzme kursu sırasında ilimli antrenman yapan 6-11 (ort 8.3 ± 1.7) yaşları arasında 11 gönüllü çocukta kurs sonrasında, plazma MDA düzeyi ile SOD ve GPx aktivitelerinde meydana gelen değişiklikler araştırılmıştır.

SOD aktivitesinde kurs sonunda anlamlı artış (581.07 ± 146.23 , 791.11 ± 221.88 Ü/gHb sırasıyla, $p < 0.01$) saptanmıştır. Gpx aktivitesindeki artış (45.48 ± 16.50 , 50.28 ± 14.83 Ü/gHb) ise istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Plazma MDA düzeyleri sırasıyla 1.14 ± 0.37 ve 0.91 ± 0.33 nmol/ml olarak saptanmıştır. MDA'daki bu azalma anlamlı ($p = 0.02$) bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre, 4 haftalık yüzme egzersizi ile SOD enzim aktivitesi artmakta ve plazma MDA düzeyi düşmektedir. Düşük şiddette yapılan egzersizlerin antioksidan savunmayı güçlendiren yararlı etkisinin olduğu kanısına varılmıştır.

ABSTRACT

In organism, there is a delicate balance between oxidant and antioxidant systems. Unbalancing may cause lipid peroxidation. Superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) are the enzymes which show up at the initial steps of antioxidant defence.

Exercise cause the more free radical by increasing O₂ consumption and metabolic proceses. It is said that oxidative stress which occurs during moderate and regular training increased some antioxidant enzyme activities as adaptive response.Obtained results differences in these studies might be related with kind of training,intensity and/or duration.

In this study;in volunteer children,aged between 6-11 years (mean 8.3 1.7)who had moderate training during 4 weeks of swimming exercises,the changes in plasma malondialdehyde (MDA as lipid peroxidation marker) levels, erythrocyte SOD and GPx activities were studied.

There was a significant increment in SOD activity after the swimming course (581.07±146.23, 791.11±221.88 U/gHb respectively, p 0.01).The increment in GPx activity was not statistically significant (45.48±16.50, 50.28±14.83 U/gHb).Plasma MDA levels were obtained as 1.14±0.37 nmol/ml and 0.91±0.33 nmol/ml respectively and this decrement with training was significant (p=0.02).

According to the obtained results; 4 weeks of swimming training,makes stronger antioxidant defence,since being moderate increment in SOD enzyme activty, decrement in MDA levels.It is suggested that training at low intensity makes useful effects for a stronger antioxidant defence.

LİTERATÜR

- 1- Adams W. C., Exercise Physiology. Foundations of Physical Education, Exercise and Sport Sciences, Printed in the U.S.A., 80-126, 1991.
- 2- Akgün N., Egzersiz Fizyolojisi Cilt 1, 3. Baskı, Gökçe Ofset Matbaacılık, Ankara, 1989.
- 3- 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.
- 4- Alessio H. M., Exercise-induced oxidative stress. *Med. Sci. Sports Exerc.* 25(2): 218-224, 1993.
- 5- Al-Turk W. A., Stohs S. J., El-Rashidy F. H., Othman S., Shaheen O., Changes in glutathione reductase and glutathione-S-Transferase as a function of cell concentration and age. *Pharmacology* 34: 1-8, 1987.
- 6- Aruoma O. I., Halliwell B., Superoxide-dependent and ascorbate-dependent formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron, *Biochem. J.* 241: 273-278, 1987.
- 7- Astrand P. O, Rodahl K., The muscle and its contraction. *Textbook of Work Physiology: Physiological basis of exercise*, 3. edition, McGraw-Hill Book Company, Printed in the U.S.A., 12-53, 1986.
- 8- Astrand P. O, Rodahl K., Body fluids, Blood and circulation. *Textbook of Work Physiology: Physiological basis of exercise*, 3. edition, McGraw-Hill Book Company, Printed in the U.S.A., 127-208, 1986.

9- Astrand P. O, Rodahl K., Physical Performance. *Textbook of Work Physiology: Physiological basis of exercise*, 3. edition, McGraw-Hill Book Company, Printed in the U.S.A., 295-353, 1986.

10- Astrand P. O, Rodahl K., Evaluation of physical Work capacity on the basis of tests. *Textbook of Work Physiology: Physiological basis of exercise*, 3. edition, McGraw-Hill Book Company, Printed in the U.S.A., 354-87, 1986.

11- Bast A., Haenen G. R. M., Doelman J. A., Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am. J. Med.* 91(Suppl 3): 2-13, 1991.

12- Benzi G., Aerobic performance and oxygen free-radicals. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*: 33(3), 205- 222, September 1993.

13- Blum J., Fridovich I., Inactivation of Glutathione Peroxidase by superoxide radical, *Archives of Biochemistry and Biophysics* Vol.240: No.2, August 1, 500-508, 1985.

14- Brooks G. A., Fahey T. D., Energy transductions in cell. *Exercise Physiology: Human Bioenergetics and Its Applications*, MacMillan Publishing Company, Printed in the U.S.A., 57-66, 1985.

15- Brooks G. A., Fahey T. D., Cardiovascular dynamics during exercise. *Exercise Physiology: Human Bioenergetics and Its Applications*, MacMillan Publishing Company, Printed in the U.S.A., 71-86, 1985.

16- Buczynski A., Kedziora J., Tkaczewski W., Wachowicz B., Effect of submaksimal physical exercise on antioxidative protection of human blood platelets. *Int. J. Sports Med.*, 12: 52-54, 1991.

17- Burk R.F., Protection against free radikal injury by selenoenzymes. *Pharmac. Ther.* Vol. 45: 383-385, 1990.

18- Clark I. A. Tissue damage caused by free oxygen radicals. *Pathology* 18: 181-186, 1989.

19- Cochrane C. G., Cellular injury by oxidants. *Am J Med.* 91(Suppl 3C): 23-30, 1991.

20- Coyle J.T., Puttfarcken P., Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders, *Science* 262: 29 Oct., 1993.

21- Davies K. J. A., Quintanilha A. T., Brooks G. A., Packer L., Free radicals and tissue damage by exercise. *Biochemical Biophysics Research Communications* 107: 1198-1205, 1982.

22- Davies K.J.A., Sevanian A., Muakkassah-Kelly S.F., Hochstein P., Uric acid-iron ion complexes, *Biochem. J.* 235: 747-754, 1986.

23- Davies K.J.A., Goldberg A. L., Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes, *The Journal of Biological Chemistry*, 262 (12) june 15: 8220-8226, 1987.

24- Davies K.J.A., Protein damage and degradation by oxygen radicals, *The Journal of Biological Chemistry*, 262 (20) July 15: 9895-9901, 1987.

25- Davies K. J. A., Quintanilha A. T., Brooks G. A., Packer L., Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 107: 1198-1205, 1982.

26- Deby C., Goutier R., New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutases. *Biochemical Pharmacology* 39: 399-405, 1990.

27- Dillard C. J., Litor R. E., Savin W. M., Dumeelin E. E., Tappel A. L., Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *Journal of Applied Physiology* 45: 927-932, 1978.

28- Dizdaroğlu M., Chemistry of free radical damage to DNA and nucleoproteins, DNA and free radicals, Edited by Halliwell B., Aruoma O. I., New York, 19-39, 1993.

29- Draper H.H., Polensek L., Hadley M., A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. *Xenobiotica* 20(9): 901-907, 1990.

30- Duarte J. A. R., Appel H. J., Carvalko F., Bastos M.L., Soares J. M. C., Endothelium-derived oxidative stress may contribute to exercise-induced muscle damage. *Int. J. Sports Med.* 14: 440-443, 1993.

31- Duthie G. G., Robertson J. D., Maughan R. J., Morrice P. C. Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 282(1) October: 78-83, 1990.

32- Ergen E., Physiological Responses to High Intensity Shuttle Running. Department of Physiological Education and Sports and Science. Loughborough Univ. of Technology, 1-25, 1988.

33- Esterbauer H., Koller E., Slezacek R.G., Kostner J.F., possible involvement of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal in the formation of fluorescent chromolipids. *Biochem J.* 239: 405-409, 1986.

34- Esterbauer H., Jürgens G., Quehenberger O., Koller E., Autoxidation of human low density lipoprotein: loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *Journal of Lipids Research* 28: 495-509, 1987.

35- Fee J. A., Studies on the reconstitution of bovine erythrocyte superoxide dismutase, 3. Evidence for a strong interdependence between Cu and Zn binding in the expression of the spectroscopic proximity of the Zn and Cu sites. *Biochim. Biophys. Acta* 295: 107, 1973.

36- Fox E. L., Bowers R. W., Foss M. L., Energy Sources. The Physiological Basis of Physical Education and Athletics, 4. Edition, W. B. Saunders Company, Printed in the U.S.A., 204-23, 1988.

37- Fox E. L., Bowers R. W., Foss M. L., Physiological effects of physical training. *The Physiological Basis of Physical Education and Athletics*, 4. Edition, W. B. Saunders Company, Printed in the U.S.A., 323-374, 1988.

38- Freeman B. A., Crapo J. D., Biology of disease. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47(5): 412-426, 1982.

39- Frei B., Stocker R., England L., Ames B.N., Ascorbate: The most effective antioxidant in human blood plasma, *Antioxidants in Therapy and Preventive Medicine* Edited by Emerit et al, New York, 155-163, 1990.

40- Frei B., Ascorbic acid protects lipids in human plasma and low density lipoprotein against oxidative damage. *Am j Clin Nutr* 54: 1113S-1118S, 1991.

41- Fucci L., Oliver C. N., Coon M. j., Stadtman E. R. Inactivation of key metabolic enzymes by mixed-function oxidation reactions: Possible implication in protein turnover and aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 80: 1521-1525, March 1983.

42- Gee. D. L., Tappel A. L., The effect of exhaustive exercise on expired pentane as a measure of in vivo lipid peroxidation in the rat. *Life Sci.* 28: 2425-2429, 1988.

43- Geenen D., Buttrick P., Scheuer J., Cardiovascular and hormonal responses to swimming and running in the rat. *J. Appl. Physiol.* 65: 116-123, 1988.

44- Gibson D. D., Hawrylko J., McCay P. B., GSH-dependent inhibition of lipid peroxidation: Properties of a potent cytosolic system which protects cell membranes. *Lipids* 20 (10): 704-711, 1985.

45- 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.

46- Goldfarb A. H., Antioxidants: role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress. *Med. Sci. Sports Exerc.* 25(2): 232-236, 1993.

47- Gollnick P. D., Metabolic regulation in skeletal muscle, Influence of endurance training as exerted by mitochondrial protein concentration. *Acta Physiol Scand* 128 (Suppl 556): 53-66, 1986.

48- Guemouri L., Artur Y., Herbeth B., Jeandel C., Cuny G., Sest G., Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin. Chem.* 37(11): 1932-1937, 1991.

49- Gutteridge J.M.C. Lipid peroxidation initiated by superoxide-dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide. *FEBS* 172 (2): 245-249, 1984.

50- Guyton A. C., Sports Physiology. Textbook of Medical Physiology, 8. Edition, W. B. Saunders Company, 939-50, 1991.

51- Hagihara M., Nishigaki I, Maseki M., Yagi K. Age-dependent changes in lipid peroxide levels in lipoprotein fractions of human serum. *Journal of Gerontology* 39 (3): 269-272, 1984.

52- Halliwell B., Gutteridge J. M. C., Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: Some problems and concepts. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 246 (2): 501- 514, May 1, 1986.

53- Halliwell B., Gutteridge J. M. C., The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Methods in Enzymology* Vol. 186, Academic Press, New York, 1-85, 1990.

54- Halliwell B., Oxidants and the central nervous system: Some fundamental questions. *Acta Neurol. Scand.* 126 (23): 23-33, 1989.

55- Halliwell B., Reactive oxygen species in living systems: Source, Biochemistry, and role in human disease. *The American Journal of Medicine* 91 (suppl. 3C) september 30, 1991.

56- Harris E. D., Regulation of antioxidant enzymes. *FASEBS J.* 6: 2675-2683, 1992.

57- Higuchi M., Cartier L. J., Chen M., Holloszy J. O., Süperoxide dismutase and catalase in skelatal muscle: Adaptive response to exercise. *Journal of Gerontology* 40 (3): 281-286, 1985.

58- Hussein L., Arafah A., Yamamah G., The vitamin B1 status among young egyptians from the oasis in relation to glucose-6 phosphate dehydrogenase deficiency. *I. J. Vit. Nutr. Res.* 59: 52-54, October 1988.

59- Jenkins R. R., Friedland R., Howald H. The relationship of oxygen consumption to superoxide dismutase and catalase activity in human skeletal muscle. *Int. J. Sports Med.* 4: 11-14, 1984.

60- Jenkins R.R. Free radical chemistry. Relationship to exercise. *Sports Medicine* 5(3): 156-170, 1988.

61- Jenkins R. R., Krause K., Schofield, Influence of exercise on clearance of oxidant stress products and loosely bound iron. *Med. Sci. Sports Exerc.* 25(2): 213-217, 1993.

62- Jialal I., Vega G. L., Grundy S. M., Physiologic levels of ascorbate inhibit the oxidative modification of low density lipoprotein. *Atherosclerosis* 82: 185-191, 1990.

63- Ji. L. L. Wu E., Thomas D. P., Effect of exercise training on antioxidant and metabolic functions in senescent rat skeletal muscle. *Gerontology* 37: 317-325, 1991.

64- Jones N. L., Physiology of exercise. Clinical Exercise Testing, 3. Edition, W. B. Saunders Company, Made in U.S.A., 13-73, 1988.

65- Kanter M. M., Hamlin R. L., Unverferth D. V., Davis H. W., Merola A: J. Effect of exercise training on antioxidant enzymes and cardiotoxicity of doxorubicin. *J. Appl. Physiol.* 59: 1298-1304, 1985.

66- Kanter M. M., Lesmes L. A., Kaminsky L. A., LaHamsalger J., Nequin N. D., Serum creatine kinase and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometer race. *Eur. J. Appl. Physiol* 57: 60-83, 1988.

67- Kishorchandra G. , Rothfuss L., Lang J., Packer L., Effect of exercise training on tissue vitamin E and ubiquinone content. *J. Appl. Physiol.* 63: 1638-1641, 1987.

68- Kim J. W., Yu B. P., Characterization of age-related malondialdehyde oxidation: The effect of modulation by food restriction. *Mechanisms of Ageing and Development* 50: 277-287, 1989.

69- Klissouras V. , Piranay F., Petit J. M., *J. Appl. Physiol* 35: 288, 1973.

70- Laughlin M. H., Simpson T., Sexton W. L., Brown O. R., Smith K., Korthuis J., Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. *J. Appl. Physiol.* 68: 2337-2343, 1990.

71- Li L. J., Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med. Sci. Sports Exerc.* 25(2): 225-231, 1993.

72- Lukaski H. C., Hoverson B. S., Milne D. B., Bolonchuk W. W., Copper, zinc and iron status of female swimmers. *Nutrition Research* 9: 493-502, 1989.

73- Machlin L. L., Bendich A., Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.* 1: 441-445, 1987.

74- Maridonneau I, Braquet P., Garay R. P., Na⁺ and K⁺ transport damage induced by oxygen free radicals in human red cell membranes. *The Journal of Biological Chemistry*. 258 (5): 3107-3113, 1983.

75- McCord J. M., Human disease, free radicals, and the oxidant / antioxidant balance. *Clin. Biochem*. 26: 351-357, 1993.

76- Marklund S. L., Expression of extracellular superoxide dismutase by human cell lines. *Biochem. J*. 266: 213-219, 1990.

77- Mena P., Maynar M., Gutierrez J. M., Maynar J., Timon J., Campillo J. E., Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers, adaptation to training. *Int. J. Sports Med*. 12(6): 563-566, 1991.

78- Minotti G, Aust S. D., The requirement for iron (3) in the initiation of lipid peroxidation by iron (2) and hydrogen peroxide. *J. Biol Chem* 262: 1098-1104, 1987.

79- Mutaf I. M., Eksperimental diyabette plazma ve doku lipid peroksitleri. Doktora tezi. Ege Üniv. Tıp Fak. Biyokimya A.B.D., 1990.

80- Ohno H., Sato Y., Yamashita K., Doi R., The effect of brief physical exercise on free radical scavenging enzyme systems in human red blood cells. *Can. J. Physiol. Pharmacol*. 64: 1263-1265, 1985.

81- Ohno H., Yamashita H., Ookawara T., Saitoh D., Wakabayashi K., Taniguchi N., Training effects on concentrations of immunoreactive superoxide dismutase iso-enzymes in human plasma. *Acta Physiol Scand* 146: 291-292, 1992.

82- Ohno H., Kayashima S., Nagata N., Yamashita H., Ookawara T., Taniguchi N. Changes in immunoreactive manganese-superoxide dismutase concentration in human serum after 93 h strenuous physical exercise. *Clinica Chimica Acta* 215: 213-219, 1993 .

83- Oliver C. N., Ahn B., Moermant E.J., Goldstein S., Stadtman E. R., Age-related changes in oxidized proteins. *The Journal of Biological Chemistry* 262 (22) April 25: 5488-5491, 1987.

84- Orlowski M., The multicatalytic proteinase complex, a major extralysosomal proteolytic system. *Biochemistry* 29(45): November 1990.

85- Paglia D. E., Valentine W. N., *J. Lab. Clin. Med.* 70: 158, 1967.

86- Palinski W., Rosenfeld E. M., Yla-Herttuala S., Gurtner G. C., Socher S. S., Butler S: W., Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86: 1372-1376, February 1989.

87- Reddy V., Kumar C., Prasad T., Exercise-induced oxidant stress in the lung tissue: Role of dietary supplementation of vitamin E and Selenium. *Biochemistry International* 26(5): 863-871, April 1992.

88- Reveillaud I., Niedzwiecki K., Bensch K. G., Fleming J. E., Expression of bovine superoxide dismutase in drosophila melanogaster augments resistance of oxidative stress. *Mol. Cell. Biol.* 11: 632-640, 1991.

89- Rifkind J. M., Zhang L., Heim J. M., Levy A. : The role of hemoglobin in generating oxyradicals. *Oxygen Radicals in Biology and Medicine*, Plenum Press, New york, 157-162, 1988.

90- Rigo A., Stevanato R., Viglino P., Competitive inhibition of Cu, Zn superoxide dismutase by monovalent anions. *Biochem Biophys Res Comm* 79: 776, 1977.

91- Rivett A. J., Preferential degradation of the oxidatively modified form of glutamine synthetase by intracellular mammalian proteases. *The Journal of Biological Chemistry* 260(1): 300-305, January 1985.

92- Rowell L. B., Exercise Physiology. Principles of Physiology, Edited by Berne R. M., Levy M. N., The C.V. Mosby Company, Chapter 46, 1-29, 1990.

93- Salminen A., Vihko V., Lipid peroxidation in exercise myopathy. *Exp. Mol. Pathol.* 38: 380-388, 1983.

94- Simic M. G., Taylor K. A., Introduction to peroxidation and antioxidation mechanisms. *Oxygen Radicals in Biology and Medicine*, Plenum Press, New York, 44, 813-847, 1986.

95- Sjogaard G., Exercise-induced muscle fatigue: The significance of potassium. *Acta Physiol Scand Suppl.* 593: 15-44, 1990.

96- Southorn P. A., Powis G., Free radicals in medicine. 1. chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin.Proc.* 63: 381-389, 1988.

97- Southorn P. A., Powis G., Free radicals in medicine. 2. involvement in human disease. *Mayo Clin.Proc.* 63: 390-408, 1988.

98- 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.

99- Şemin İ., Kayatekin M., Oktay G., Selamoğlu S., Turgay F., Acarbay Ş., Özgönül H., 8 haftalık antrenmanın futbolcularda demir ile ilgili hematolojik parametreler ve vücut kompozisyonuna etkisi. *Spor Bilimleri Dergisi* 4(3): 3-12, 1993.

100- Thomas C. E., Morehouse L. A., Aust S. D., Ferritin and superoxide - dependent lipid peroxidation. *The Journal of Biological Chemistry* 260(6): 3275-3280, March 1985.

101- Uchiyama M., Mihara M., Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry* 86: 271-278, 1978.

102- Ursini F., Maiorino M., Gregolin C., The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 839: 62-70, 1985.

103- Vani M., Reddy G. P., Thyagaraju K., Reddanna P. Glutathione-S-transferase, superoxide dismutase, xanthine oxidase, catalase, glutathione peroxidase and lipid peroxidation in liver of exercised rats. *Biochem. Int.* 21(1): 17-26, 1990.

104- Weiss S. J. Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta Physiol Scand Suppl.* 548: 9-37, 1986.

105- Vinikka L., Vuori J., Ylikorkala O., Lipid peroxides, prostacyclin, and thromboxane A2 in runners during acute exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* 16: 275-277, 1984.

106- Williams C., Metabolic aspects of exercise. *Physiology of Sports*. Edited by Reilly T., Secher N., Snell P., Williams C., 1. Edition, E&F. N. Spon, 3-40, 1990.

107- Winyard P., Lunec J., Brailsford S., Blake D., Action of free radical generating systems upon the biological and immunological properties of ceruloplasmin. *Int. J. Biochem.* 16(12): 1273-1278, 1984.

108- Wladiminow Y. A., Olenov V. I., Suslova T. B.Ü. Cheremisina Z. P., Lipid peroxidation in mitochondrial membrane. *Adv. Lipid Res.* 17: 173-249, 1980.

109- Wolff S. P., Garner A., Dean R. T., Free radicals, lipids and protein degradation. *TIBS* 11: 27-31, january 1986.