

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR ANABİLİM DALI



EGZERSİZ UYGULANAN RATLARDA KOENZİM
Q10’NUN BAZI OKSİDATİF STRES
PARAMETRELERİ VE ISI ŞOK PROTEİNLERİ
ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fahrettin BEYAZ

ELAZIĞ – 2017

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.


Prof. Dr. Cengiz ARSLAN

Beden Eğitim ve Spor Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ragıp PALA



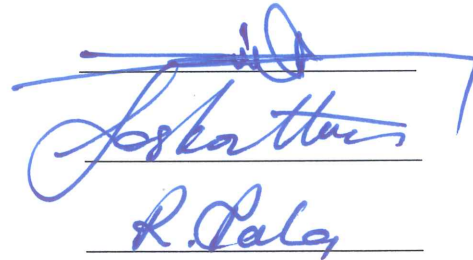
Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Vedat ÇINAR

Doç. Dr. Serkan HAZAR

Doç. Dr. Ragıp PALA



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarımın ders ve tez dönemindeki yardımlarından dolayı danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ragıp PALA ve Prof. Dr. Kazım ŞAHİN'e teşekkür ederim. Çalışmanın her aşamasında yol gösteren ve bilgilerini paylaşan sayın Prof. Dr. Vedat ÇINAR, Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN, Doç. Dr. Cemal ORHAN, Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU ve Beşir ER'e projemizi destekleyen Fırat Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine (FÜBAP-BSY.14.03) bu vesileyle sevgisiyle ve desteğiyle hep yanımda olan aileme en derin sevgi ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	viii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Egzersiz	6
3.2. Egzersiz Tipleri	7
3.2.1. Aerobik egzersizler	7
3.2.2. Anerobik egzersizler	7
3.3. Koenzim Q10'un Tanımı ve Fonksiyonu	8
3.3.1. Koenzim Q10 eksikliği	9
3.4. Oksidatif Stres	10
3.5. Serbest Radikaller	11
3.5.1. Serbest Radikallerin Sınıflandırılması	12
3.5.2. Serbest Radikalleri Oluşturan Başlıca Mekanizmalar	13
3.5.3. Geçiş Metal İyonlarının Etkisi	14
3.5.4. Fotooksidasyon	15
3.5.5. Ksantin oksidaz	17
3.5.6. NADPH oksidaz	17
3.5.7. Nötrofil miyeloperoksidaz	18
3.5.8. Halojenlenmiş Hidrokarbonlar	18
3.6. Serbest Radikallerin Etkileri	18
3.6.1. Lipidlere Etkileri	18
3.6. 2. Proteinlere Etkileri	19
3.6.3. Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri	20
3.6.4. Karbohidratlara Etkileri	20

3.7. Antioksidanlar	20
3.7.1. Antioksidan Savunma Mekanizması	21
3.7.1.1. Temizleme etkisi	21
3.7.1.2. Baskılama etkisi	21
3.7.1.3. Onarma etkisi	21
3.7.1.4. Zincir koparma etkisi	21
3.7.2. Antioksidan ve Egzersiz	22
3.8. Malondialdehit	23
3.9. Isı Şok Proteinleri	24
3.9.1. Hsp-60 ailesi	25
3.9.2. Hsp-70 ailesi	27
3.9.3. Hsp-90 ailesi	29
3.10. Tez Çalışmasının Amacı	31
4. GEREÇ VE YÖNTEM	32
4.1. Hayvan Materyali ve Araştırma Grupları	32
4.2. Araştırma Grupları	33
4.3. Örneklerin Alınması	34
4.4. Serum Biyokimya Analizleri	34
4.5. Malondialdehit (MDA) Analizi	35
4.6. Real Time PCR Aşaması	36
4.6.1. Doku Parçalama	36
4.6.2. RNA İzolasyonu	36
4.6.3. cDNA Sentezi	37
4.6.4. Real Time PCR İşlemi	37
4.7. İstatistiksel Analizler	38
5. BULGULAR	39
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	49
7. KAYNAKLAR	54
8. EKLER	61
9. ÖZGEÇMİŞ	62

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Egzersiz uygulanan ratlarda Q10'in kardiyometabolik biyokimyasal parametreler üzerine etkisi.	41
Tablo 2. Egzersiz uygulanan ratlarda Q10'in karaciğer fonksiyon testleri üzerine etkisi.	42
Tablo 3. Egzersiz uygulanan ratlarda Q10'in oksidatif stres üzerine etkisi.	43



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Egzersiz uygulanan ratlarda Q10'ın karaciğer Hsp-60 (A), Hsp-70 (C) ve Hsp-90 (E) ile kas Hsp-60 (B), Hsp-70 (D) ve Hsp-90 (F) ekspresyonu üzerine etkisi.

46



KISALTMALAR LİSTESİ

AE	: Akut Egzersiz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATP	: Adenozintrifosfat
CAT	: Katalaz
CHOL	: Kolesterol
CoQ10	: Koenzim Q10
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
Fe	: Demir
GLU	: Glukoz
GLUT	: Glukoz taşıyıcı protein
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Glutasyon
HPLC	: Yüksek performans Sıvı Kromatografisi
HSP	: Isı şok proteinleri
IŞF	: Isı Şok Faktörü
KE	: Kronik Egzersiz
MDA	: Malondialdehit
mRNA	: Haberci Ribonükleik Asit
NOS	: Nitrik Oksid Sentaz
PPAR-γ	: Peroksizom Proliferatör Aktivatör Gama
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri

SOD : Süper Oksit Dismütaz

ß : Beta

Trig : Trigliserit



1. ÖZET

Bu çalışmada, egzersiz uygulanan ratlarda, Koenzim Q10'in oksidatif stres, ısı şok proteinleri ve biyokimya serum parametreleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

Araştırma materyalini, 6 grupta (Kontrol, Koenzim Q10, Egzersiz, Egzersiz+ Koenzim Q10, Akut Egzersiz ve Akut Egzersiz+ Koenzim Q10) 7 adet olmak üzere toplam 42 adet 8 haftalık yaşta erkek Wistar Albino ırkı rat kullanıldı. Ratlar başlangıçta 10 m/dk hızla koşmaya başlatıldı ve kontrollü artışlarla 2 haftalık alışma süresinin sonunda 30 m/dk, %0 eğim, 30 dakika koşu protokolü uygulandı. Ratlar, diyetle Koenzim Q10 uygulanmaya başladıktan sonra 6 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere koşu testine tabi tutuldu ve son gün akut egzersiz (ratlar yoruluncaya kadar koşu bandında koşması) protokolü uygulandı.

Veriler, IBM SPSS (sürüm 22) paket programında ANOVA prosedürü kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalar Tukey Post Hoc testi ile analiz edildi. Veriler grup ortalamaları ve ortalamanın standart hatası (SEM) olarak verildi. Verilerde istatistiksel önemlilik, olasılık değerleri 0.05'den küçük olan değerler için anlamlı olarak tanımlandı.

Sonuç olarak, egzersiz uygulanan ratlarda Koenzim Q10'in karaciğer ve böbrek fonksiyonları üzerine etkisi olmadığı, kardiometabolik biyokimyasal parametreler üzerinde glikozu etkilemediği, kolesterol ve trigliseriti azalttığı görülmüştür. Akut egzersiz oksidatif stresi artırırken, kronik egzersiz ise lipid peroksidasyon düzeyini düşürerek oksidatif stresi azaltmıştır. Bu etkisini de ısı şok proteinlerini regüle ederek göstermiştir. Ayrıca, ratlarda Koenzim Q10

tüketiminin ısı şok protein düzeylerini düşürerek etkisini göstermiştir. Bu arada kronik egzersiz ve Koenzim Q10'in sinerjik bir etki göstererek oksidatif stresi azalttığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Egzersiz, Koenzim Q10, Oksidatif Stres, Isı Şok Proteinleri.



2. ABSTRACT

EFFECTS OF COENZYME Q10 ON THE OXIDATIVE STRESS AND HEAT SHOCK PROTEINS IN EXERCISE RATS

In this reserach, it has been tried to observe the effects of coenzym Q10 on oxcidative stress, heat shock proteins and biochemistry serum parameters in rats applied exercise.

It has been used totally 42, aged eight weeks, Wistar Albino Rats which is grouped of 6 (control,coenzym Q10,exercise,exercise+coenzym Q10,acute exercise ve acute exercise+coenzym Q10) each of them contains 7 rats. In the begining, the rats are made to run 10 m/min and at the end of two weeks, the thirty minutes running process being %0 slope and 30 m/min was implemented in a controlled increase. The rats have been tested to run 5 days a week along six weeks after applying coenzym Q10 on a diet and on the last day, acute exercise process (running on the band untill tired) has been applied.

Datas have been evaluated by using ANOVA process in the IBM SPSS (version 22) packaged software.The comparison among groups have been analized with the help of Turkey Post Hoc Test.The datas have been given as group avarage and standart error of mean (SEM). Statistical significance has been defined as meaningfull for the ones whose probablity values are under the point of 0.05.

Finally, it's been seen that there is no effect of coenzym Q10 on the functions of liver or kidney and coenzym Q10 doesn't effect glucose on cardiometabolic biochemical parameters.In adddition to these, it decreases cholesterol and triglyceride.While acute exercise increases oxcidative stress,

chronic exercise decreases oxidative stress by reducing the level of lipid peroxidation. It has shown this effect by means of regulating heat shock proteins. Also, it has shown the effect of consumption of coenzyme Q10 by reducing heat shock protein. Moreover, it has been observed that chronic exercise and coenzyme Q10 decreases oxidative stress by working synergistically.

Keywords: Exercise, Coenzyme Q10, Oxidative Stress, Heat Shock Proteins.



3. GİRİŞ

Egzersiz; kas ve karaciğerde serbest radikalleşmeyi ve oksidatif stresi tetikleyerek, lipid peroksidasyonu oluşur. Oluşan bu tahribat egzersizin şiddetiyle bağlantılıdır (1). Maksimal egzersiz bitiminde kas dokusunda oluşan bu tahribat, serbest radikalleri çoğaltarak, membranların lipid peroksidasyonuna ve makrofajlar ile akyuvarlarda artmaya neden olur (2). Egzersiz, çalışan kas liflerinde rahatlama seviyelerinin 200 kat üstünde oksijen kullanımı çoğaltabilmektedir (3). Egzersiz anında, kas mitokondrisi etkisiyle, oksijen akışındaki artışla beraber süperoksit üretimi çoğalmaktadır (4). Oksijen tüketim fazlalığıyla ilgili olarak artan serbest radikaller enzimatik ve nonenzimatik antioksidanları barındıran bir savunma sisteminde etkisizleştirilmiş olur. Egzersiz, reaktif oksijen türleri (ROT) ve antioksidanlar içerisinde oksidatif stres olarak bilinen kas yorgunluğu ve kas hasarı şeklinde kendini gösterir (5). Yapılan araştırmalarda düzenli egzersizler birçok fayda sağlarken, maksimal egzersizler ROT oluşumundaki artış nedeni ile oksidatif tahribatı artırmaktadır (6). Egzersizin neden olduğu bu tür olumsuzlukların ortadan kaldırılması veya hafifletilmesi amacıyla hem maraton koşucularında hem de deney hayvanları üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar daha çok oksidatif stresin ortadan kaldırılması temeline dayanmakta olup güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu düşünülen maddelerin takviyesi şeklinde yapılmıştır.

Mitokondrilerde doğal olarak bulunan koenzim Q10 (CoQ10), endojen sentezlenen ve yağda çözünen güçlü bir antioksidandır (7). Antioksidan özelliğinden dolayı vücutta yağ, protein ve Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) oksidasyonunu etkili bir şekilde önleyebilmektedir (8). CoQ10, ROT üretiminde

rol alan enzimlerin etkinliğini baskılayarak lipid peroksidasyonu ve dolayısıyla oksidatif stresi baskılar (9, 10). CoQ10'in en önemli görevlerinden biri de mitokondrilerde özel zincir yapısından dolayı hücre membranı fosfolipit tabakasına difüze olarak oksidatif fosforilasyonda elektron taşıyıcısı olarak görev yapmaktır (11). Hücrelerde karbonhidrat ve yağ asitlerinden enerji üretiminde de önemli rol oynar (12). Ayrıca, karaciğerde kolesterol sentezini baskılayarak serum total kolesterol seviyesini düşürür (13).

Aşırı egzersizde meydana gelen oksidatif stres mitokondrilerde CoQ10 seviyesini düşürmekle birlikte hücre membranındaki elektron taşıyıcı sistem enzimlerini de inaktive eder (14). Dolayısıyla oluşan serbest radikaller kaslarda birikim göstererek vücutta bitkinliğe ve kas hasarına yol açar (15). CoQ10 takviyesinin hem hücresel düzeyde ihtiyaç duyulan oksijenin taşınımında ve kullanımında (16) hem de kas hasarı ve bitkinliğin ortadan kaldırılmasında oldukça etkili olduğu bildirilmektedir (17).

3.1. Egzersiz

İstemli olarak, planlı, yapılandırılmış, bedensel dayanıklılığın bir veya daha fazla ögesini büyümesini hedefleyen devamlı etkinliklerdir. Kısacası egzersiz; dinç, fiziki çalışma, kilo kontrolünü ve sağlıklı olmayı hedefleyen, düzenli yapılan fiziksel faaliyetlerdir (18).

Sağlık için egzersizin ana hedefi; egzersizin olmadığı bir yaşantının neden olduğu fiziki hasarları yavaşlatmak veya engellemek, vücut sağlığının fizyolojik sınırını arttırmak, fiziksel uyumluluğu ve sağlığı yıllarca korumaktır. İleri devletlerde egzersize olan alakanın çoğalmasındaki sebepler; fiziksel uygunluk ve

sağlıklı yaşam şeklinde izah etmek mümkündür. Yapılan incelemelere göre devamlı spor yapmanın bireylerde bedensel, duygusal, motorik ve toplumsal faydaları olduğu görülmüştür (19).

3.2. Egzersiz Tipleri

1. Aerobik egzersizler,
2. Anerobik egzersizler,

3.2.1. Aerobik egzersizler

İri kas takımlarının katıldığı devamlı, ritmik ve etkin egzersizlerdir. Dayanıklılığı devam ettirebilme ve uzun süre faaliyet yapabilme yeteneğidir. Aerobik sistem dayanıklılığı etkileyen ana sistemdir. Aerobik, “oksijen ile” (oksijene ihtiyaç duyan) manasına gelir; metabolik ya da enerji üreten süreçlerin oksijen kullanımıyla alakalıdır. Aerobik egzersizler oksijen mekanizmasını geliştirirler. Akciğerlere ve kalbe yüklenerek daha fazla çalışmalarına sebep olurlar. Maksimum oksijen tüketimini arttıran aerobik egzersiz türleri; bisiklete binme, dans etme yürüme, koşma, merdiven çıkma ve yüzme gibi hareketlerdir. Aerobik egzersiz yaparken nefes alıp verme derinleşir ve hızlanır, kalp daha kuvvetli ve hızlı ritim sergilemeye başlar (20).

3.2.2. Anerobik egzersizler

Anaerobik egzersizler vücudun enerji gereksinimini solunumdan sağlayan ve vücudu oksijensiz çalışmaya iten egzersizlerdir. Oluşan bu oksijen eksikliği

sebebiyle bu egzersizler yalnızca kısa zamanlı yapılabilir. Bu egzersiz türleri ağırlık kaldırma, kendini çekme, itme, sürat koşusu gibi hareketlerdir (21).

3.3. Koenzim Q10'un Tanımı ve Fonksiyonu

Koenzim Q10 (CoQ10) hücredeki enerji oluşumu anında kilit enzimatik etkileşiminde koenzim olarak işlev gören, bütün hücrelerde var olabilen, yağda dağılabilen, vitamine benzeyen bir bileşiktir (22). CoQ10 biyolojik hücrelerde biyokimyasallarca azaltılmış biçimde (ubikinol-10) aynı şekilde okside biçimde (ubikinon-10) var olan bir redoks molekülüdür (23). Ubikinon ve ubikinol Latince "her yerde olan" manasında kullanılan tüm hücrelerde bulunması ile bağdaştırılmış sözcük terimleridir (24). CoQ10'in kimyasal formülü 5-etil-2, 3-dimetoksi-6-dekaprenil-1, 4-benzokinon'dan oluşur (23). Farklı boyutta bir izoprenoid yan halkası ile beraber benzokinon zincirini bölüşürler. İnsanlarda ve bazı memeli cinslerinde, yan halka 10 izopren bölümünden meydana gelir, bu sebeple tümleşğe CoQ10 adı verilmiştir (25).

CoQ10 solunum halkasının görevi mitokondride elektron taşıyıcılığıdır. CoQ10 elektron alışverişinde yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarında işlev gören karmaşık I, II ve III olarak adlandırılan enzim yapılarının etkinlikleri için lazımlı bir koenzimdir. Koenzim olarak işlev görürken taşıma işiyle görevli olduğu elektron ve protonları bünyesindeki kinon zincirine ekleyerek hidroksikinona çevrilir. Bünyesindeki kinongrubu CoQ10'e elektron taşıyıcısı niteliğini kazandırır (26). Redoks niteliği ile elektronların kompleks 1 (nikotinamid adenin dinükleotid dehidrogenaz), kompleks 2'den (süksinat dehidrogenaz) ve kompleks 3'e (ubikinon - sitokrom - redüktaz) taşınıp

aktarılmasını gerçekleştirir. Bu taşıma anındaki en mühim biyolojik enerji olan Adenozintrifosfat (ATP) meydana getirilir. Böylece, hücresel enerjinin üretilmesinde CoQ10 oldukça etkili bir görev yapar (23).

Koenzim Q10 oksijen asıllı radikaller ve singlet oksijen ile beraber hareket ederek lipit peroksidasyonunun oluşumuna ve biyomoleküllerin yıpranmasına engel olur (27). Serbest radikallerin arasında kalarak, elektron redüksiyon etkileşimine zorunlu kalır. Sabit halde bulunmayan serbest radikaller ubikinondan gelen bir elektronlar normalleşir. CoQ10 bu yapıyla etkili bir antioksidandır (26). Ubikinol-10, a-tokoferol gibi plazmada var olan farklı antioksidanlarla mukayese edildiğinde odaklanma seviyesi az olması nedeni ile plazma oksidanlara maruz kaldığında ilk tepkimeye başlayan antioksidandır. CoQ10 ayrıca diğer antioksidanların rejenerasyonunda rol alır (25). Ayrıca CoQ10'in membran stabilitesinde, hücre sinyalinde, gen oluşumunda, hücre gelişiminin ve apoptosisin korumasında da görevleri bulunmaktadır (28).

3.3.1. Koenzim Q10 eksikliği

Kan ve türlü dokulardaki CoQ10 oranı birçok araştırmacı tarafından kararlaştırılmıştır. İnsanlar ve hayvanlar üzerindeki incelemelerde CoQ10 noksanlığının farklı rahatsızlıklara sebep olduğu ortaya çıkmıştır. CoQ10 eksikliği, diyetteki CoQ10 esikliğinden, CoQ10 biyosentezindeki bozukluklardan, vücudun CoQ10 fazla kullanımından veya her üçünün beraber olmasından kaynaklanabilir (29). Kimi benzer makalelerde CoQ10 diyeti araştırılmış bunlardan birinde CoQ10'nin en önemli kısmının insandaki biyosentezi olduğu fikri benimsenmiştir (30). Bu biyosentez 17 evreli bir süreçten oluşur 7 vitamin

(vitamin B6, vitamin B12, riboflavin, niasinamid, folik asid, vitamin C ve farklı iz elementlerin var olmasını sağlar. HMG–CoA redüktaz inhibitörleri kolesterol biyosentezini, fazla kan kolesterol düzeylerinin ve benzer vakitte CoQ10 organizmadaki kimyasal süreçleri engeller (31).

Kandaki düşük CoQ10 düzeyi özellikle CoQ10'in ve kolesterolün biyosentetik bağlantısındaki bölümünden oluşur. Kalp rahatsızlığı bulunan insanlarda bu laboratuvar incelemesinden daha çoktur. Yüksek oranda yan etkileri bulunmaktadır ki bu etkiler ağız yoluyla CoQ10 kullanılarak atlatılabilir. (30).

3.4. Oksidatif Stres

Canlı bir varlıkta serbest radikallerin gerçekleşme süresi ile bu radikallerin yok etme süresi muntazam bir yapıdadır ve bu hal oksidatif denge namına isimlendirilir. Oksidatif denge sürdüğü müddetçe canlı bir varlık, serbest radikaller etki etmemektedir. Bu radikallerin gerçekleşme çabukluğunda yükselme veya yok etme çabukluğunda bir yavaşlama bu istikrarın bozulmasına sebeptir. 'Oksidatif stres' namına isimlendirilen bu hal kısaca; serbest radikal gerçekleşimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki önemli istikrarsızlığı açıklamakta olup, neticede dokuya zarar vermektedir (32). Sağlıklı kişilerde uygun metabolizma neticesinde gerçekleşen reaktif oksijen türevleri (ROT) vücudun müdefaa mekanizması olarak adlandırılan antioksidan yolla atılır. Sıhatli bedende, oksijen radikalleri ile antioksidan savunma sistemi, istikrarlı bir durumda çalışır. Bu dengenin radikallerin tarafına bozulmasıyla meydana gelen duruma oksidatif stres adı verilir (33).

3.5. Serbest Radikaller

Serbest radikaller için bir hayli tarif yapılmasına karşın otoritelerin hem fikir olduğu tarif; bir serbest radikalin moleküler veya atomik çevresinde var olan ve umumi olarak reaktif olan çiftleşmemiş elektron taşıyan bir kimyasal ürün olduğu biçimindedir (34). Yörünge adıyla tanınan boşluklarda atomlardaki elektronlar hareket ederler. Her yörüngede birbirine karşıt istikamet de hareketli en çok iki elektron vardır. Serbest radikal 3 şekilde meydana gelebilir (35).

1. Kovalent bağ bulunduran normal bir molekülün homolitik tahribatı neticesinde gerçekleşirler. Bölünmenin ardından her bir bölümde aynı elektronlardan bir tanesi kalır.

2. Normal bir molekülden bir elektronun yitirilmesi veya bir molekülün heterolitik olarak parçalanması ile gerçekleşir. Heterolitik parçalanmada kovalent bağ yapısını oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.

3. Normal bir moleküle tek bir elektronun ilave olması ile gerçekleşir.

Serbest radikaller negatif yüklü, pozitif yüklü veya nötral olabilir. Biyolojik yapılarda en çok elektron nakli ile gerçekleşir(34). Serbest radikal tepkimeleri, savunma düzeni hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma sistemi açısından önemlidir, serbest radikallerin fazla sayıda üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile gerçekleşmektedir (36).

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidratlar vb. mühim bileşiklerini etkilerler veya yapılarının bozulmasına sebeptirler. Biyolojik yapılardaki reaktif oksijen türleri (ROT), hidroksil radikali, nitrik oksit, süperoksit anyonu, peroksil radikali ve radikal olmayan hidrojen peroksit gibi

serbest radikaller oksidatif stresin en mühim sebeplerinden birtanesini gerçekleştirirler (37).

Serbest radikal zincir tepkimeleri sıklıkla, moleküllerden Hidrojen atomunu uzaklaştırır. Lipid peroksidasyonu serbest radikal halka tepkimesi için güzel bir misaldir. Bu tepkimenin özellikle aterosklerozun gelişiminde çok mühim olduğu araştırmacıların tezleri arasınddır. Mitokondriyal elektron nakil halkasında oksijenin bitmemiş redüksiyonu, sigara içimi, radyasyon vb. farklı etkenler oksidatif strese sebeptirler (38).

3.5.1. Serbest Radikallerin Sınıflandırılması

Aerobik metabolizması bulunan memelilerde serbest radikaller özellikle oksijenden çoğalmaktadır. Lakin canlı varlıklarda oksijen benzeri serbest radikaller dışında karbon ve kükürt merkezli radikaller de gelişmektedir.

a. Oksijen Merkezli Serbest Radikaller

Moleküler oksijen, üçlü (triplet) hal perhidroksi radikali, alkoksi radikali, tekli (singlet) durum, süperoksit radikali, hidroksil radikali, peroksi radikali radikallerden oluşur.

b. Oksijen Merkezli Olmayan Serbest Radikaller

Karbon özekli, lipid radikalleri, alkil radikalleri, sülfür radikalleri, sülfür özekli, hidrojen özekli, hidrojen atomu, demir özekli, azot özekli, perferil radikalleri, nitrik oksid, nitrojen dioksid radikallerden oluşur.

c. Radikal Olmayan Reaktif Türler

Ozon, Lipid Peroksidleri, Hidrojen Peroksidler, Hipoklorik asit, Kloramin radikallerinden oluşur (39).

3.5.2. Serbest Radikalleri Oluşturan Başlıca Mekanizmalar

1. Otooksidasyon, atmosferik oksijenin katalizlediği karakteristik bir serbest radikal halka tepkimesidir. Serbest radikallerin oksijenle tepkimeye girmesi olabildiğince çabuktur ve bu tepkimelerin girişi için daha fazla düzenek tanımlanmıştır. Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve fosfolipitler otooksidasyona daha yatkındır. Otooksidasyonda ilk olarak gerçekleşen ana mahsüllerin hidroperoksit mahsülleri olduğu söylenmektedir (40). Hidroperoksitlerin bir halka tepkimesini başlatması için üç esas düzenek teklif edilmektedir (41).

Hidroperoksit, halka tepkimesine katılacak bir peroksi radikalini geliştirmek üzere bazı membalardan gelen başlatıcı bir radikal ile tepkime olabilir.

2. Hidroperoksit, bir metal iyonu ya da başka bir indirgenle alkoksi radikalini ya da biraz olasılıkla hidroksi radikalini geliştirmek için indirgenebilir.

3. Başka sistemlere göre biraz mühim olmakla beraber, ekili sıcaklıklardan ziyade oda sıcaklıklarında hidroperoksitteki bağı bölünerek alkoksi ve hidroksi radikallerine benzeşmektedir.

Lipid oksidasyonu; alt tarafta olduğu gibi, giriş, ilerleme ve netice evrelerinden meydana gelmektedir. Oksidasyonun giriş evresinde, başlatıcı bir radikal ile yağ asidi substratının tepkimesi neticesinde hidrojen atomu taşıması yöntemiyle bir lipid radikali meydana gelmektedir. İlerleme evresinde, gelişen

lipid radikaline oksijen ilavesiyle peroksi radikali oluşmakta ve bu peroksi radikali farklı bir yağ asiti molekülünden kopan bir hidrojen atomu ile bütünleşerek tekrar hidroperoksitlere ve bilinmeyen lipid radikallerine benzeşmektedir. Netice evresinde ise gelişen radikaller beraber tepkimeye katılarak radikal olmayan eter, ester, aldehit, keton ve alkol gibi stabil bozunma mahsüllerine benzeşmektedir (40).

3.5.3. Geçiş Metal İyonlarının Etkisi

Bakır (Cu) veya demir (Fe) vb. geçiş metal iyonları da canlı yapıda serbest radikal geliştiren kuvvetli bir oksidatif katalist olarak vazifelendirilmişlerdir. Demir oksidatif tepkimeleri özendirirmedi çok etkin bir metalken, bakır katalizli tepkimeler hala aydınlatılamamıştır (42). Biyolojik yapılarda oksijen taşınması, ATP üretimi, DNA ve klorofil sentezinde mühim bir görevi olan demirin serbest şekilleri canlı hücrelerde toksik tesir bırakabilmektedir. Bu toksisite neticesinde gelişen hareketli oksijen çeşitleri lipid oksidasyonunu özendirebilmekte veya DNA molekülüne taarruz edebilmektedir. Hakikatte tüm canlı hücreler serbest demirin toksik tesirini imha eden ve demirin çoğunu toksik olmayan şekillerde hücre içinde koruyan yapılara sahiptir (43). Doğal olarak birçok metal vücutta kelat geliştirmiş şekilde bulunur. Örneğin; Cu türlü özgenlerde, Fe ise ferritin gibi proteinlerde veya hemoglobinin ve miyoglobinin porfirin zincirinde bu şekilde bulunmaktadır (44). Kelat gelişimi antioksidan savunma yapısına mühim yardımda etmekle beraber, toksinler, vücutta sarsıntı, rahatsızlık vb. türlü sebeplerle oksidatif tepkimeleri katalizleyebilen serbest metal iyon şekillerine benzeşmeler oluşabilmektedir. Katarakt, ateroskleroz, diyabet benzeri patolojik

koşullarda metal iyonlarının serbest ve zararlı şekillerde var olduğuna dair etkin deliller bulunmaktadır (45).

Süperoksit anyonu, Fe^{+2} katalizörlüğü ile tepkimeye başladığı sırada zararlı hidroksi radikallerini meydana getiren “Haber-Weiss tepkimesi” oluşmaktadır (46).

Fe iyonları, hidroperoksitlerin zararlı hidroksi radikaline benzeştiği “Fenton-tip tepkimeleri”de katalizlemektedir. Hidroksi radikali ise fazlaca reaktif bir çeşit olup, süratli bir biçimde lipid radikallerini meydana getirerek lipid peroksidasyonu halka tepkimelerini başlamasına sebep olmaktadır (43).

Fazla oksijen kullanımı sebebiyle oksidatif stres karşısında güçsüz halde bulunan beyin, aynı sürede fazla seviyelerde Fe ve öteki divalent katyonları barındırmakta ve meydana gelen Fenton-tip tepkimeler reaktif oksijen çeşitleri çoğalarak nöronların yapısını bozmaktadır. Oldukça az antioksidan korunmasına sahip bulunan beyin dokusu bu süreçte oksidatif hasarlara karşı dokuyu güçsüzleştiren çoklu doymamış yağ asitlerini de fazla seviyede bulundurmaktadır. Oksidatif strese uğramış beyin dokusunda meydana gelen yıkımların beyin iskemisi, Alzheimer, unutkanlık, Parkinson ve benzeri çokca sinirsel bozuklukta mühim bir faktör olduğu benimsenmektedir (47).

3.5.4. Fotooksidasyon

Fotokimyasal iz yolları, oksidasyonları başlatan peroksitlerin meydana gelmesi için mühimdir. Işığın bir molekülce direkt olarak süperoksit anyonu, absorpsiyonu oluşturabilen elektron taşıma süreçlerine sebep olmaktadır. Fotosensitize zamanlar ise, doğruca fotokimyasal tepkimelerden ihtimalen daha

mühim olup bu tür indirekt oksidasyonlarda sensitizer adı verilen bir molekül ışığı gizleyerek diğer birtakım çeşitlerin oksidasyonuna sebeptir. Bu tepkimlerde genel olarak sensitizerin kendisi tüketilmemekte, ışığı gizleyerek bu molekülü etkenleştirmektedir (41).

Hematoporfirin, Klorofil-a, feofitin-a, hemoglobin, miyoglobin vb. kimi pigmentler ve sentetik bir boya olan eritrosin tekli oksijeni çoğaltan fotosensitizerler içerisindedir.

Fotooksidasyon tepkimeleri Tip 1 ve Tip 2 olarak ikiye ayrılır.

Tip 1 tepkimlerde; etkenleşen sensitizer, substratla hidrojen atomu taşıması veya elektron vermesi şartıyla tepkimeyi oluşturarak radikalleri çoğaltmaktadır. Bu radikaller de oksijenle tepkime yaparak oksijen ürünlerini oluşturmaktadır.

Tip 2 tepkimede ise, etken sensitizer oksijen (O_2) ile doğrudan tepkimeye girerek tekli O_2 çoğaltmakta ve bu oksijen de oksijene ürünleri meydana getirmek üzere substratla tepkime yapmaktadır.

Riboflavin gibi flavinler Tip 1 tepkimeler için uyumlu bir sensitizerken, klorofil gibi porfirinler de Tip 2 prosese uyumlu ve mühim miktarda tekli oksijen oluşturan sensitizerler içerisindedir. Fotooksidasyondan zarar gören önemli biyolojik amaçlar içerisinde; histidin, triptofan, metiyonin, tirozin ve sistein bulunduran proteinler ve guanidin bulunduran nükleik asitler arasındadır. Bundan başka, yağ asitleri ve kolesterol gibi doymamış bileşiklerin oksidasyonunun olduğu lipidler de hasar gören amaçlar arasındadır (41).

Enzimatik Oksidasyonlar Reaktif oksijen çeşitleri, bedende lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantin oksidaz, miyeloperoksidaz ve sitokrom benzeri çok fazla enzimin etkinliklerinin bir neticesi olarak da oluşturulmaktadır (47).

3.5.5. Ksantin oksidaz (XOD)

Canlı yapıda ROT meydana getiren önemli enzimatik membranlardandır. XOD, pürin katabolizmasında bazen bileşik yapıda olan hipoksantini evvel ksantine sonra da ürik asite okside ederken NAD⁺'ye elektron naklini yapan bir dehidrogenaz enzimi olmasına rağmen, dokuda bazı stres şartları altında tiyol takımlarını okside eden ve proteolizise sebep olan bir oksidaz özgenine döner. XOD'ın hareketi neticesinde süperoksit anyonu ve hidroperoksit radikalleri meydana gelmektedir. Ksantin oksidazın beyinde ödem, iskemi, damar geçirimsizliğine dönüşüm, değişkenlik gibi oksidatif zararlara sebep olan ve beyin tümörü ve hepatit olaylarında da XOD'ın serum seviyelerinin çoğaldığı iletilmektedir (45).

3.5.6. Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP) oksidaz

Serbest radikali meydana getiren başka bir enzim de NADP oksidaz nötrofillerin plazma zarında bulunur. Mitokondri yanından alınan oksijenin %1-4'ü süperoksit anyonu çoğaltımında kullanılır ve çoğaltılan süperoksit anyonunun %20 kadarı hücrelere aktarılır. Makrofajlar ve monositleri kapsayan fagosit hücrelerde O₂ kullanımının fazlalaşması ile hareketlilik kazanan NADP oksidaz, bu oksijeni süperoksit anyonuna benzeştirerek ekstraselüler sıvılardaki oranını çoğaltmaktadır (46).

3.5.7. Nötrofil miyeloperoksidaz (MPO)

Canlı sistemde güçlü oksidan kaynaklarından bir diğeri de, hidrojen peroksit tarafından klorid iyonlarının oksidasyonu yoluyla hipoklorik asit üretimini katalizleyen “Nötrofilik miyeloperoksidaz” enzimidir. Bu reaksiyonun toksisitesi savunma sisteminde bakterilerin öldürülmesine katkıda bulunur. Buna karşılık, oluşan hipoklorik asit aynı zamanda α 1-antiproteinaz’ı inaktive etmekte ve sağlıklı insan dokusunu zarar vererek iltihaplanmalara sebep olmaktadır (45).

3.5.8. Halojenlenmiş Hidrokarbonlar

Serbest radikal oluşturan diğere olaylar ise; kontamine içme sularında var olan toksik etkili halojenlenmiş hidrokarbonlar ve hava kirleticileri olarak bilinen azot oksitleridir. Karbontetraklorür ve bromotriklorometan benzeri hidrokarbonların biyolojik yapılarıdaki oksidatif hasarın oluşmasında etkili oldukları bildirilmektedir. Triklorometil peroksil, triklorometil, radikalleri gibi oldukça reaktif çeşitler, sitokrom monooksijenaz enzim sisteminin farklı aminoasit ve doymamış yağlarla hızlı tepkimesi sonucu karbon tetraklorür metabolizması sırasında üretilmekte ve bunun neticesinde protein denatürasyonları ve lipid peroksidasyonu oluşmaktadır (48).

3.6. Serbest Radikallerin Etkileri

3.6.1. Lipidlere Etkileri

Serbest radikallerin biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine tesiri olan lipid peroksidasyonunun toksik olduğu kabul edilmektedir. Tepkimeler

ardışık oluşur ve benzeşme olmaz. Toksik tesir lipid peroksitlerinin seviyesi ölçülerek kanıya varılır. Doymamış yağ asitlerindeki bir hidrojen atomunun ortaya çıkması peroksidasyonun oluşmasına sebeptir. Sonuç olarak yağ asiti halkası lipid radikali kalitesine ulaşır. Radikal güçsüz olup, çift bağların yerlerini değiştirirler ve oksijenle tepkimesi neticesinde lipid peroksil radikaline benzeşir. Lipid peroksil radikalleri başka doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni radikalleri meydana getirir, öte taraftan da hidrojen atomlarıyla birlikte hidroperoksitlere benzeşirler (49). Hidroperoksitlerin dağılmasıyla lipid alkoksi radikalleri meydana gelir. Lipid peroksidasyonu antioksidan tepkimelerle son bulur. Lipid peroksidasyonu Fe ve Cu gibi redoks eden metaller varsa çoğalır. Lipid peroksidasyon ürünleri olarak meydana gelen lipid peroksitleri, hidroperoksitleri membran yapısına aracısız, başka hücre çeşitlerine ise aldehit üreterek dolaylı olarak zararı dokunur. Bu da birçok rahatsızlığın ve dokulara verilen zararın ortaya çıkmasına sebeptir. Membran fonksiyonun bozulması neticesinde malondialdehit meydana gelir (50).

3.6. 2. Proteinlere Etkileri

Proteinler, radikallerin fonksiyonlarına lipidlere kıyasla daha az duyarlıdır ve amino asit sıralanışlarına göre etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içermeye eden moleküllerin serbest radikallerle karşılıklı etkileşimi fazladır. Bu sebeple fenil alanin, triptofan, tirozin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri barındıran proteinler serbest radikallerin tesiri altına girerler. Albumin benzeri disülfid bağı çokça olan proteinlerin üç boyutlu içeriği hasar görür (51).

3.6.3. Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri

Radyasyonla ortaya çıkan serbest radikaller, DNA'ya tesir ederek değişime sebep olur ve hücrenin yok olmasına sebep olurlar. Bu zararlı etki kromozom farklılaşmasına neden olur. Hidroksil radikali bazlarla kolayca tepkimeye girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan basit bir şekilde geçip hücre çekirdeğindeki DNA'ya varır ve hücre işlevlerinin hasar almasına hatta yok olmasına sebep olur. Bu sebeple DNA daha basit hasar gören bir moleküldür (52).

3.6.4. Karbohidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu neticesinde peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Ortaya çıkan okzoaldehitler proteinlere birleşme özellikleri sebebiyle antimitotik tesir ederler. Bu vakalar kanser ve yaşlanmaya sebep olabilir (53).

3.7. Antioksidanlar

Antioksidanlar, oksijenin zarar verici tepkimesine karşı kollayıcı özelliklere sahip maddelerdir. Canlıların gerek iç ve gerekse dış faktörlerin uyarılarıyla devamlı güç hale gelmektedir. Bu güç haller esnasında ve sonrasında meydana gelen oksidan moleküller hücrelere ve dokulara taaruz ederek yıkıma sebep olur (54). Canlılarda, reaktif oksijen çeşitlerini ve başka prooksidanları, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal gidericiler ve antioksidan enzimlerle devamlı tesirsizleştiren bir yapı hâkimdir. Reaktif oksijen çeşitlerine karşı hücre içi ve hücre dışı enzim ve nonenzim savunma içeriğine antioksidan savunma düzeni denir (55).

3.7.1. Antioksidan Savunma Mekanizması

Antioksidanlar 4 çeşit düzeneği ile oksidanların kötü sonuçları engellerler (56).

3.7.1.1. Temizleme etkisi

Enzimler tarafından oksidan molekülleri güçsüzleştirilmesi ve oksijen ile tepkime yaparak veya yer değiştirip yerel oksijen derişimini en aza indirgiye bilmeleridir (56).

3.7.1.2. Baskılama etkisi

Oksidanlara bir hidrojen molekülü verilerek hidroksil radikali bünyesinde bulunan hidrojen atomları ile birleşecek olan mevcut ürünleri ayıklayıp peroksidasyonun başlamasının önüne geçebilmeleridir (56).

3.7.1.3. Onarma etkisi

Serbest radikallerin oluşturduğu zararları onarabilmeleridir (56).

3.7.1.4. Zincir koparma etkisi

Oksidanları bağlayarak işlevlerini engelleyen bu etki hemoglobin, seruplazmin ve E vitamini tarafından elde edilir. Halka kırıcı antioksidanlar hoş kokulu âminler, fenoller ve en genel olan α - tokoferoller vardır. Hücre içi nonenzim lipid faz antioksidanlar; vitamin E (α - tokoferol formu), β -karoten (vitamin A'nın ön maddesi)'dir. Vitamin C (askorbik asit), albumin, transferrin,

flavanoidler, urat, sistein, bilirubin, glutatyon hücre içi sıvı faz nonenzim antioksidanlardır (54).

3.7.2. Antioksidan ve Egzersiz

Süregen olarak itidalli seviyede oksidatif stres ile karşı karşıya gelmenin antioksidan savunmayı kuvvetlendirdiği kabul edilmiştir (57, 58). Dolayısıyla, ölçülü serlikte, sistemli ve standart halde devam eden egzersiz antioksidan savunmayı güçlendirmektedir (59). Araştırmacılar, sistemli antrenmanla beraber antioksidan savunmanın bazı öğelerinin çoğaldığını söylemiştir. Genel düşünce, egzersizin antioksidan enzim etkinliğini tahrif edebileceği şeklindedir (60, 61). Fakat bunun antioksidan savunmada bulunan enzimlerden neler olduğu ve ne şartlar altında etkin hale gelebileceği belirsizdir. Ratlarda egzersiz ile karaciğer ve miyokardiyal enzim yapısında biraz farklılık meydana gelirken, iskelet kası antioksidan enzimlerinde adaptif yükselişe sebep olduğu söylenmiştir (57). 12 hafta antrenman yaptırılan ratlarda buna yakın artışlar olduğu bildirilmiştir (62). Yaşlı ratlarda da buna benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır (57). 9 ve 21 hafta yüzme antrenmanı yaptırılan ratlarda, kanda Katalaz (CAT), Glutatyon peroksidaz (GPx), süper oksit dismutaz (SOD) seviyelerinin yükseldiği, fakat 21 haftalık antrenman sonuna doğru karaciğer CAT ile GPx seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (63). Antioksidan enzimlerdeki bu yükselişlerin antrenmana pozitif adaptasyon olduğu söylenmiştir. Farklı bir çalışmada antrene ratlarda SOD ve selenyum bağımsız GPx fazla var iken; selenyum bağımlı GPx enziminde ise belli bir yükseliş söylenmemiştir (64).

İnsanlarda fiziksel egzersizin antioksidan enzimlere tesirlerine dair bilgiler azdır. Ohno ve ark. submaksimal sertlikte 30 dakikalık bir alıştırma ile 34 BESBD antioksidan enzimlerde belirgin farklılıklar tespit edilmemiştir (65). Sedanterler ile karşı karşıya getirildiğinde, atletlerde plazma Mn-SOD düzeyi daha fazlayken, Cu-Zn SOD seviyesinde belirgin değişiklikler tespit edilmemiştir (66). Fakat farklı çalışmada, 3 ay zamanlı antrenmandan sonra, SOD'ın her iki izoenziminde de belirgin bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (67).

3.8. Malondialdehit (MDA)

Doymamış yağ asitlerinin araşidonik ve peroksidasyonu asit metabolizmasının yan ürünü olan yüksek reaktif üç karbonlu bir dialdehittir. MDA kolayca proteinler, lipoproteinler ve DNA benzeri moleküllerin birçok fonksiyonel grubu ile birleşebilir. MDA tarafından değiştirilmiş proteinler farklılaşmış fizikokimyasal antijenite ve davranışlar gösterebilir. MDA ile değişen ürünler MDA'ya karşı oluşmuş antikorlar sayesinde belirlenebilir. Oksidatif stres lipit, protein ve DNA oksidasyonu yolu ile önemli oranda hücre hasarına sebep olur. Bu sebeple doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan MDA hücrel membranların oksidatif yıkımı için bir belirteçtir. MDA'nın difüzyonunun kolay olması sebebi ile DNA'nın nitrojen bazıyla hızlı tepkimeye girer. Bu nedenle MDA mutajenik, genotoksik ve karsinojeniktir. MDA, kan, doku ve vücut sıvılarında değerine bakılarak lipit peroksidasyonunun bir belirtisi şeklinde kullanılmaktadır (68). Yapılan çalışmalarda biyolojik yapıyı oluşturan birçok dokuda ve kanda enflamutuar olaylara bağlı olarak MDA düzeyinin yükseldiği ortaya konmuştur (69).

3.9. Isı Şok Proteinleri

Isı şok proteinleri (Hsp) molekül ağırlıkları 100 kDa'dan azdır ve hücrelerin fazla ısıya (42- 46°C) maruz kalmasıyla üretimi çoğalan bir ekip proteindir. İnflamasyon, infeksiyon, etanol, arsenik, eser metaller ve ultraviyole ışık benzeri birden fazla hipoksi, toksin, açlık, nitrojensizlik (bitkilerde) ve dehidratasyon gibi diğer etmenler de Hsp üretimini fazlalaştırır. Hsp'leri ağırlıkları esas alınarak dört ana ekibe bölünürler: Hsp-60, Hsp-70, Hsp-90 grubu Hsp'nin esas olarak hücrede sitoproteksiyon (fizyolojik ve stres şartlarında), nörodejeneratif bozukluklar, sinyal iletimi ve kanser immünolojisinde görevleri bulunmaktadır. İlk defa 1962 senesinde tanımlanan Isı şok proteinleri (Hsp), hücrelerin fazla ısıya (42-46°C) maruz kalmasıyla üretimi çoğalan bir protein ekibidir (70). Hsp'nin dramatik çoğalışına sebep olan vaka fazlasıyla ısı şok faktörü (İşf) tarafından tertip edilir ve ısı şok yanıtı olarak isimlendirilir (71). Hsp yükselişine ısı dışında sebep olan başka etkenler de bulunmaktadır. Bunlar inflamasyon, infeksiyon, etanol, arsenik, eser metaller ve ultraviyole ışık benzeri birden fazla toksin, hipoksi, açlık, nitrojensizlik (bitkilerde) ve dehidratasyondur. Bu sebeple Hsp'ne “stres proteinleri” de söylenmekte ve stres yanıtının bir komponenti olduğuda söylenmektedir (70, 71).

Günümüzden takribi 30 yıl evvel radyoaktif olduğu belirtilmiş aminoasitler ile protein sentezini izlemek mümkün olmuştur (70). Bu yolla fizyolojik şartlarda hücrede protein sentezinin hayli değişebilirlik hal aldığı izlenmiştir. Fakat stres şartlarında normal koşullarda çoğaltılan bütün proteinlerin sentezinde belli bir düşüş olmuşken bir grup protein sentezinin çoğaldığı izlenmiştir (71).

Bu strese karşı meydana gelen ve esas deneysel modeli ısı yükselişinden dolayı Hsp olarak isimlendirilen proteinler molekül ağırlıklarına göre bölümlere ayrılır. Hsp yaklaşık bütün canlı hücrelerinde biyolojik seviyededir (72).

3.9.1. Hsp-60 ailesi

Hsp-60 familyası daha fazla 6-8 molekülün bir araya gelmesine Hsp-10 ilavesiyle meydana gelen şaperonin biçimindedir (73). E. coli'de gelişme için mutlak olması gereklidir (74). ATP tabi bir tepkimeyle polipeptid halkalarının artmasını tertip eder (75). Birden fazla hücrede savunucu ve kollayıcı tesir eder. Bu tesirleri Hsp-70 familyasına eş durumlar gösterir, yalnız değişik düzeneklerle oluşur. Hsp-70 yalnız tesir ederken Hsp-60 şaperonini, GroES/Hsp-10 ko-şaperoniniyle beraber 1000 kDa'ya yakın ağırlığında bir moleküldür (76).

Hsp-60 şaperonin en önemli tarafı mitokondride yer almasıdır (73, 75, 76). Mitokondri matriksindeki en mühim protein yükseltici moleküldür (77). Genetik değişimlerinde önemli mitokondriyal rahatsızlıklar oluşmaktadır (76).

Mitokondrinin hücresel strese kısmi cevapla müsamaha göstermesi Hsp-60 tarafından gerçekleşir (78).

Hücrede mitokondri dışında hücre zarında da bulunmuştur. Aminoasit aktarımında fonksiyonu olduğu söylenmektedir (76).

Pankreas β hücre zarında bulunması ve nonobez diyabetik ratlarda Hsp-60 yitiminin Langerhans adacık hücrelerinin inflamasyonuna beraberce hareket etmesi, insülin sekresyonunda rolünün varlığını düşündürmektedir (79) Kanseri hücrelerinin zarlarında urun olduğu dokunun özgün hücrelerinin zarlarına nispeten birden çok Hsp-60'ın varlığı görülmüştür (80). Serviks ve mesane

kanseri benzeri diğer farklı kanserlerde Hsp-60 düzeyinin fazlalaştığında prognostik etmen olarak belirten çalışmalar vardır (81, 82). Apoptoz ve Hsp-60 bağlantısındaki yönler net olarak açıklanamamıştır. Hsp-60'ın apoptozu yükselttiğini varsayan faaliyet olduğu kadar azalttığını varsayan faaliyetler de bulunmaktadır (76).

Sirkülasyona çıkan Hsp-60 myeloid ve vasküler hücrelerin üzerinde adhezyon molekülünün meydana gelmesini ve bu hücrelerden proinflamatuvar sitokinlerin dışarı salınımını fazlalaştırır (83). Ayrıca renal ve vasküler tür rahatsızlıklarda sirkülasyonda Hsp-60 tespit edilir. Büyük olasılıkla vasküler yatak voltaja karşı Hsp-60 cevabını verir. Hipertansiyonlu hastalarda anti- Hsp-60 da bulunmuştur (84).

Hsp-60 mitokondriyal rejenerasyonun belirtisi olduğu için, devamlı olarak rejenerasyon izlenen gastrointestinal yapı hücrelerinin epitel dokusunda değerlerine bakılabilir düzeylerde vardır (77). Stres ortamlarında hem ince barsak hem kolonda yükseldiği izlenmişken, ne ince barsak ne de kolonda kollayıcı tesirleri izlenmemiştir (73). Fakat barsaklarda epitelden başka barsak duvarında da farklı hücrelerde var olması, Hsp-60'ın barsaklarda çokça motilite ile bağlantılı fonksiyonları olabilme ihtimali söylenmektedir (73, 77, 83). Mattson ve arkadaşları Hsp-60 kasta mitokondriyal içerik oranı ile orantılı bir şekilde bulunur. İskelet kasında dayanıklılık antrenmanı sonrasında mitokondriyal enzim aktiviteleri ile ilişkili olarak Hsp-60 da artışlar olduğunu bildirilmişlerdir (85).

3.9.2. Hsp-70 ailesi

Hsp-70 tüm Hsp'ler arasında üzerinde en çok çalışma yapılmış olan moleküldür (70, 72, 73, 86). Sitozolik Hsp-70 esas olarak iki formda bulunur; stresle çoğalan Hsp-72 (Hsp-70 olarak bilinir) ve devamlı üretilen Hsp-73 (73). Hsp-70'in enterasan hususiyetlerinden birtaneside Hsp-60'la birlikte hücre haricinde varolmalarıdır (84).

Protein katlanması ile alakalı olarak yaygın bir tesir çeşitlilikleri mevcuttur (86). Yeni üretilmiş proteinlerin şekil alması, yanlış çoğalmış veya çökelti proteinlerin baştan şekil alması, salgısal proteinlerin hücre zarına translokasyonu ve organize olmuş proteinlerin etkinliklerinin yönetimi en iyi tanınan tesirlerinden biridir. Bu manada Hsp-70 hücrenin koruyucusudur. Bu tesirlerini ATP kullanarak peptidlerin hidrofobik segmentleri ile karşılıklı etkilşime girerek yansıtmaktadırlar. Hsp-70 etkinliklerinin ayarlaması Hsp-70 gen denetimi, ko-şaperon bağlantıları ve bazı şaperon yapılarla etkileşimleriyle gerçekleşir. Yeni çoğaltılan proteinlerin çökmesini koşaperon olan J-domain protein (Jdp) ile birlikte düzeni sağlarlar (86). Bu karmaşa yeni üretilen proteini hidrofobik uçlarından kavrayarak hücre içerisinde etkileşimlere karşı güvenliğini sağlar. Hususi olarak yalnızca Hsp-70 grubuna özgüdür. Gerçekleştirilen faaliyetlerde çöken proteinlerin Hsp-70 - Hsp-100 işbirliğiyle çözümü mümkün duruma getirildiği ve daha sonra yine çoğalmaya maruz kaldıkları görülmüştür (72). Yakın zamanlarda ökaryotların organize edici proteinlerinin biyolojik etkinliklerinin Hsp-70 familyasının organize ettiği konusunda fazlaca çalışmaları mevcuttur. Çalışmalar içerisinde steroid hormon almaçları gibi nükleer almaçlar, Raf, eIF2 α -kinaz gibi kinazlar ve Işf, c-Myc, pRb gibi transkripsiyon etkenleri mevcuttur

(87). Bu rollerinde Hsp-70'lere Hsp-90, Cdc37 ve p23 gibi proteinler beraber hareket etmektedirler (86). Bundan ötürü Hsp-70'ler işaret mesajı, differensiasyon, hücre siklusu ayarlaması ve apoptozda tesirli rolleri bürünerek nörodejeneratif, onkogeneze ve otoimmün rahatsızlıklar, viral infeksiyonlar ve ihtiyarlama gibi mevzularda mühim vazife alırlar (88, 89).

Bakterilerde protein şekil almasının %10-20'si Hsp-70'e tabidir (90). Bakterilerde orantılı olarak protein ağırlığı 35 kDa iken insanlarda 52 kDa' dır (86). İnsanda fazlaca nicelikte proteinlerin şekil alması Hsp-70'e bağımlı olduğundandır. Mutant proteinler daha fazla Hsp-70 tabidirler. Bu manada Hsp-90'a benzer şemada mutant proteinlerin mevcudiyetini devam ettirmesinde mühimdirler (87).

Stres gibi Hsp-70 'lere çok gereksinim gereken hallerde veya ihtiyarlama benzeri daha az Hsp-70 üretilen hallerde mutant proteinler çöker (86). Ayrıca bazı SOD1 mutantları gibi mutant proteinlerin çökertilmesinde de Hsp-70'e gereksinim vardır. İki mekanizmada da ALS (mutant SOD1 proteini), onkogeneze (mutant p53), Parkinson (mutant α -synuclein) benzeri nörodejeneratif sıkıntılarının meydana gelmesinde tesirlidir (87).

Hsp-70 özellikle Hsp-90 ile birlikte hücre yok oluşu, proliferasyon, differensiasyon ve hücre homeostasis devam edişi mevzusunda rolü bulunmaktadır (86). Hsp-70 kaspaz üzerinden apoptozu inaktive eder. Hsp-70 düzeyinin fazlalaşması Tümör nekroz faktör alfa ($\text{TNF}\alpha$) gibi apoptotik etkenlerin işlevini azaltır (88). Aksine Hsp-70 azalması apoptozu kolaylaştırır. Gastrointestinal yapıda Hsp-70'in stresle çoğaldığı belirtilmiş fakat kollayıcı bir tesiri izlenememiştir (73, 91).

Hsp-70'in intestinal hücrelerde kollayıcı tesirinden dolayı Hsp-32'yi ko-şaperon olarak istimali ileri sürülmüştür. Kolonda ise Hsp-70'in kollayıcı tesirleri söylenmiştir (73).

Hsp-70'in renal iskeminin dönmesine iyi yönde yardımlarından dolayı böbrek naklinden sonra sağlığının yerine gelme sürecine yararı olduğu varsayılmaktadır (70). Bu tesirin ayrıntıları alenen açıklanmamış varsayılsada bu tesirde hücre iskelet sisteminin kulanmasının çok mühim rol oynadığı görüşü bildirilmiştir (92).

Yaşla beraber Hsp-70 üretimi düşüş göstermesine karşın enteresan bir şekilde 100 yaş üstünde Hsp-70 üretimi tekrar artmıştır (86). Hsp-70 familyası mevzusunda kesin olarak bilinen farklı ko-şaperonlarla etkileşerek değişik etkiler gösterdikleridir, fakat hangi ko-şaperonların hangi Hsp-70 üyesini nasıl seçtikleri ve sonuçta hangi etkilere sebep oldukları henüz net olarak aydınlatılamamıştır.

3.9.3. Hsp-90 ailesi

Hsp-100 ve Hsp-90: Bu iki molekül beraber birçok benzer tesirler göstermektedir. Hatta bu iki molekülün beraber aktivite yaptığına dair eylemler bulunmaktadır. En gözde tesirleri calmodulin birleştiricileridir (93). Yüksek derişiminde ise aktin filamentleri ile karşılıklı aktiviteye başlarlar. Tesirlerini ortaya çıkarmaları için Ca^{+2} gereksinim duyarlar. Üstelik Hsp-90 β 'nin glukoz metabolizmasında görev aldığı öngörülmüştür. Farklı bir eylemde diyabetiklerde Işf 1 ve Hsp-72'nin düşüş yaşadığı buna zıt olarak da Hsp-90 β artışı olduğu tespit edilmiştir (94). Yine özdeş bir eylemde diyabetiklerde iskemik stresin Işf 1 ve Hsp-72 seviyelerini tesir etmediği fakat egzersizin Işf 1 ve Hsp-72 seviyelerini

fazlalaştığı gösterilmiştir. Diyabetiklerdeki insülin dayanma gücünün Hsp ile bağlantısı şu an için ilgi çeken bir tetkik mevzusudur. Hsp-90: Bugünde iyi bilinen yönü tümörögenez ile olan bağlantısıdır (95). Hsp-90 fazlaca Hsp-70, Hsp-40 ve Hsp düzenleyici protein ile birlikte çoklu şaperon bünyesi biçimindedir (96). Hücrelerin haberleşimi ve normal morfolojik bünyelerinin kollanmasında mühim vazifeleri bulunmaktadır. Işf 1 ile beraber tranksripsiyonu organize edilir (87). Epidermal growth factor (Egf) almaç (reseptör) sinyal aktarımı ve Akt sinyal yolu gibi çeşit çeşit sinyal yolları ile apopitotik yollarda rol oynar ve steroid hormon reseptörlerinin organize edilmesinde vazifelidir (95). Apopitozda birçok yerde vazifesi bulunmaktadır lakin genelde anti-apopitotik bir vazifede yer alır (97). Dolaylı olarak kanser hücrelerinin canlılığının sürmesine etki eder (73). Hususiyetle androjenik hormon almaçlarının işlevlerinin ve stabilitelerinin organizasyonunda tesirlidir ve çoğu urun ilerlemesinde tesiri olan “vascular growth endotheial factor” (Vgef) almaçlarının işlev hale gelmesi Hsp-90 'la mümkündür (95).

Isı yükselişi ve hipoksi tümöral hücrelerde Hsp-90 fazlalaşmasından dolayı ur savunma dayanıklılığını arttırır. Bir bütün oluşturması hücrenin yok oluşunu çabuklaştırır. Lenfomalarda gelişmeyi hızlandıran şimerik protein NMK-ALK Hsp-90 varlığında işlev hale gelir (98).

Geldanamycin ile bir bütün oluşturması kemoterapiye dayanak olmasından dolayı deneysel olarak yararlanılmaktadır. Geldanamycin türevlerinin tasarrufu ile kanser hastalarında yaşama devam ümidiyle bariz bir fazlalaşma olduğu belirtilmiştir (87).

Üveit gibi bazı inflamatuvar rahatsızlıklarda kollayıcı görev yaptığı belirtilmiştir (99). Fakat intestinal mukozanın inflamatuvar ya da iskemik olaylara karşı kullanmasında tesiri bulunmadığı bildirilmiştir (73).

3.10. Tez Çalışmasının Amacı

Egzersizle birlikte ortaya çıkabilecek serum biyokimya parametreleri, serum, karaciğer ve kaslarda MDA düzeyleri, kas ve karaciğer dokularında ısı şok protein (Hsp-60, Hsp-70, Hsp-90) düzeylerinin moleküler düzeyde araştırılarak elde edilecek bulguların egzersiz fizyolojisi alanında yeni yaklaşımlara öncülük etmesi amaçlanmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Hayvan Materyali ve Araştırma Grupları

Bu tez çalışması, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (FÜHADEK) onayı alındıktan sonra (Tarih: 08.01.2014, Toplantı: 2014/01, Karar No:07), etik kaidelere uyumlu bir halde hayvan rahatlığı ve hayvan haklarına uyularak çalışmalr yürütüldü. Deneylerde kullanılan ratlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden (FÜDAM) temin edildi. Araştırmada her grupta 7 adet olmak üzere toplam 42 adet 8 haftalık yaşta erkek Wistar albino ırkı rat kullanıldı. Ratlara günlük 12 saat aydınlık; 12 saat karanlık olacak şekilde bir aydınlatma periyodu uygulandı. Ratlar, $22\pm2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, $\%55\pm5$ nispi nem bulunan havalandırma sistemine sahip bir mekânda özel hazırlanmış ve gününbirlik temizlenen kafeslerde beslendi.

Deney hayvanları, başlangıçta 10 m/dk hızla koşmaya başlatıldı ve kontrollü artışlarla 2 haftalık alışma süresinin sonunda 30 m/dk, $\%0$ eğim, 30 dakika koşu protokolü uygulandı (Koşu Bandı, MAY-TME 0804, Commat Limited, Ankara). Ratlar, diyetle Koenzim Q10 uygulanmaya başladıktan sonra 6 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere koşu testine tabi tutuldu ve son gün akut egzersiz (ratlar yoruluncaya kadar koşu bandında koşması) protokolü uygulandı. Koşu testi 15.00-18.00 saatleri arasında yapıldı (bazal glikokortikoid etkinliğini göz ardı etmek için). Kontrol grubu hayvanları koşturulmadı.

4.2. Araştırma Grupları

Araştırma gruplarını egzersiz türü ve Koenzim Q10 dozları aşağıdaki gibi oluşturdu. Buna göre;

Araştırma Grupları:

Grup 1 (Kontrol): Ratlar standart diyet ile beslenildi ve egzersiz uygulanmadı.

Grup 2 (Koenzim Q10): Bu gruptaki ratlara 300 mg/kg Koenzim Q10 ilave edilmiř diyetle beslenildi ve egzersiz uygulanmadı.

Grup 3 (Egzersiz): Bu gruptaki ratlar standart diyetle beslendi ve 6 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere egzersiz uygulandı.

Grup 4 (Egzersiz + Koenzim Q10): Bu gruptaki ratlar 300 mg/kg Koenzim Q10 ilave edilmiş diyetle beslendi ve 6 hafta süresince haftada 5 gün yapılmak üzere egzersiz uygulandı.

Grup 5 (Akut Egzersiz): Bu gruptaki ratlar standart diyetle beslendi ve 6 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere egzersiz uygulandı ve son gün tükenme egzersizi yaptırıldı.

Grup 6 (Akut Egzersiz+Koenzim Q10): Bu gruptaki ratlar 300 mg/kg Koenzim Q10 ilave edilmiş standart diyetle beslendi ve 6 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere egzersiz uygulandı ve son gün tükenme egzersizi (ratlar yoruluncaya kadar koşu bandında koşturularak hemen sonrasında serum ve doku örneklerinin alınması) uygulandı.

4.3. Örneklerin Alınması

Deneme sonunda, hayvanlar anestezi altında servikal dislokasyon yolu ile dekapite edilerek kan, karaciğer, kalp ve kas örnekleri alındı. Kan örnekleri jelli biyokimya tüplerine (Standardplus & Medical Co., Ltd., Almanya) alınarak soğutmalı santrifüjde (Universal 320R, Hettich, Almanya) 5000 rpm devir 4 °C’de 10 dakika santrifüj edilerek hayvanlara ait serum örnekleri elde edildi. Ayrıca alınan kas ve karaciğer dokuları analiz edilinceye kadar derin dondurucuda (Hettich, Almanya) -80 °C’de muhafaza edildi. Derin dondurucudan çıkarılan kas ve karaciğer dokuları soğuk zincirde ve tüm grubu temsil edecek şekilde tartıldı. Daha sonra ağırlığının 1/6 v/v oranında homojenizasyon tamponu ile soğuk ortamda homojenizatör ile parçalandı. Katı doku parçacığı kalmayınca kadar bu işleme devam edildi. Daha sonra tüm örnekler sonikasyon işlemine tabi tutuldu. Yapılan sonikasyondan sonra 15.000 rpm’de 60 dakika +4 oC olacak şekilde tüm örnekler santrifüj edildi. Süpernatant kısmı alındı. Eşit hacimde örnek tamponu ilavesi yapıldıktan sonra iyice karıştırıldı. Daha sonra önceden ısıtılmış 95 oC su banyosunda 5 dakika bekletilerek örneklerdeki proteinler denatüre edildi (100). Metodu ile kas ve karaciğer örneklerinin protein yoğunluğu ölçüldü.

4.4. Serum Biyokimya Analizleri

Serum glukoz, kolesterol, trigliserit, aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında bulunan otoanlizörde (Samsung Labgeo PT10) analiz edildi.

4.5. Malondialdehit (MDA) Analizi

MDA analizleri, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ünitesinde gerçekleştirildi. Kromatografik analizlerde saf su sistemi (Human Power I Scholar-UV, Kore) ile üretilen 18.3 MΩ kalitede ultra saf su kullanıldı. Serum ve doku örneklerinin malondialdehit düzeyleri HPLC cihazı ile belirlendi (101). Kas ve karaciğer örneklerinden 0,5 g alınarak, 1 ml ultra saf su, 100 µl butil hidroksi tolüen (500 µg/ml; 2,6-di t-butil-p-kresol, BHT) ve 1 ml 0,5 M perklorik asit (HClO₄, % 60, Riedel, Almanya) ile ultraturrax mekanik homojenizatör yardımıyla parçalandı. Örnekler kapaklı polipropilen merkezkaç tüplerine alındı ve vorteksle iyice karıştırıldıktan sonra 5000 rpm devirde 4 °C’de 10 dk merkezkaç edildi. Süpernatant dikkatlice viallere alınarak dokularda ekstraksiyon işlemi tamamlandı. Serum örneklerinden, 1,5 ml hacimli mikrosantrifüj tüplerine 400 µl alındı. Örneklerin üzerine 300 µl 0,5 M HClO₄ eklenerek vorteksle karıştırıldıktan sonra merkezkaç edildi. Süpernatant dikkatlice viallere alınarak serumların ekstraksiyon işlemi tamamlandı. Kalibrasyon grafiği oluşturulmak ve hesaplamalarda kullanmak üzere MDA (1.1.3.3-tetraethoksi-propan, Sigma-Aldrich, Almanya) standartları hazırlandı. MDA standardı için tetraethoksi-propandan 10 µl hacimde alınarak 10 ml’lik kapaklı bir cam tüpe alındı. Hacim 0.1 M hidroklorik asit (HCl, %37, Merck, Almanya) ile 10 ml hacme tamamlandı. Benmaride (Memmert, Almanya) 100°C’de 5 dk kapak kapalı şekilde muamele edildikten sonra soğutuldu ve ultra saf su ile 100 ml hacme tamamlandı. Elde edilen solüsyon 2.92 µg/ml MDA içermektedir.

MDA analizlerinde kolon olarak C18 (ODS-3, 5 µm, 4.6 x 250 mm, Inertsil, GL Sciences, Japonya), hareketli faz olarak ise pH: 3.6 olarak ayarlanan 30 mM potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄, Merck, Almanya) – metanol (CH₄O, Sigma-Aldrich, Almanya) karışımı (% 82.5–17.5; v/v) kullanıldı. Analiz şartları; kolon fırını sıcaklığı 30 °C, hareketli faz akış hızı 1 ml/dk, akıtma hacmi 30 µl, dalga boyu 250 nm ve analiz süresi 10 dk olacak şekilde ayarlandı. Örneklerde MDA için alıkonma süreleri sırasıyla yaklaşık 5 ve 3.4 dakika olarak belirlendi. Serum ve doku örneklerinin MDA düzeyleri nmol/mg protein olarak verildi.

4.6. Real Time PCR Aşaması

4.6.1. Doku Parçalama

Real Time PCR için ratlardan alınan karaciğer ve kas dokuları hemen -80 °C derin dondurucuya alındı. Dokular; grup değişiminde temizliğe dikkat edilerek 50'şer mg ince kesitler halinde kesilerek tüplere alındı. Her tüp için 1/100 oranında β-Merkaptoetanol + RLT (rna lysis buffer) karışımı eklendi. Qiagen TissueLyser ile 3 mm'lik bilyeler ile mikro tüp içinde 30 frekansta ve 2 dakika boyunca parçalanır. Tüpler 15.000 devirde +4°C'de 3 dakika santrifüjlenir. Daha sonra süpernatant ekstraksiyon cihazına aktarılmak üzere 2 ml tüplere alınır.

4.6.2. RNA İzolasyonu

Doku izolasyon işlemi Qiagen QIAcube ekstraksiyon cihazı ile cihaz protokolüne göre yapıldı. Rötör adapter, içerisine mini spin kolon ve 1,5 ml'lik mikro tüp yerleştirildikten sonra QIAcube içinde santrifüj kısmına yerleştirildi. Parçalanmış doku ekstratları 2 ml mikro tüp içinde cihaz içindeki shaker kısmına

alındı. Rna ekstraksiyonu için RNeasy Mini QIAcube kiti kullanıldı. Daha sonra ekstrasyon robotu solüsyon kısmına RW1(rna washing buffer), %70 etanol, Rnase free water ve RPE solüsyonları ağızları açık şişelerde uygun yerlere yerleştirildi. Parçalanmış dokular, RNeasy Mini QIAcube protokolüne uygun olarak rna izolasyonu yapıldı. Nanodrop ile total rna miktarı kontrol edildi.

4.6.3. cDNA Sentezi

cDNA sentezi için Qiagen RT² HT First Strand kiti kullanıldı ve bu kitin standart protokolü takip edildi. 0,2 ml mikro tüpler içine aşağıdaki protokol uygulanarak termal döngü oluşturuldu.

- 6 µl GE2 Buffer (gDNA eliminasyon buffer)
- 8 µl RNA (karaciğer ve kas dokularından izole edilen)

Elde edilen karışım 37°C 5 dakika bekletilir.

- Karışıma 6 µl BC5 (revers transkriptaz) eklenip mikro tüplerin kapakları sıkıca kapatıldı.

Her örnek için 42 °C sıcaklıkta 15 dakika (1. adım), 95 °C sıcaklıkta 5 dakika olacak şekilde Qiagen Rotor Gene Q cihazında termal döngü uygulandı. İşlem bitince cDNA'lar + 4 °C sıcaklığa alındı.

4.6.4. Real Time PCR İşlemi

Real Time PCR işlemi Qiagen RT² SYBR GREEN Fast Master Mix kiti kullanılarak ve bu kit protokolüne uygun şekilde yapıldı. Örneklerden elde edilen cDNA, rnase free water ile 1/5(cDNA/ rnase free water) oranında seyreltilti. Gen primerleri olarak (Qiagen, Primer Assay for rats) NFkB, Ikb ve GAPDH house

keeping gen olarak kullanıldı. Her primer için ayrı 0,2 ml mikro tüpler olacak şekilde aşağıdaki protokol uygulanarak PCR işlemine hazır hale getirildi.

- 12,5 µl SYBR Green MasterMix (Pembe Kapaklı)
- 5 µl cDNA(1/5 dilüe)
- 1 µl çalışılan Gen Primeri
- 6,5 µl RNase Free Water

Toplam 25 µl karışım elde edildi. 0,2 ml mikro tüpler tümü için 95 °C 10 dakika, daha sonra her tüp için ayrı ayrı 95 °C 15 saniye ve 65 °C 30 saniye olacak şekilde Qiagen Rotor Gene Q cihazı ile Real Time PCR yapıldı.

4.7. İstatistiksel Analizler

Veriler, IBM SPSS (versiyon 22) paket programında ANOVA prosedürü kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalar Tukey Post Hoc testi ile analiz edildi. Veriler grup ortalamaları ve ortalamanın standart hatası (SEM) olarak verildi. Verilerde istatistiksel önemlilik, olasılık değerleri 0.05'den küçük olan değerler için anlamlı olarak tanımlandı.

5. BULGULAR

Tablo 1' de görüleceği üzere, Ratlara uygulanan egzersiz türü ve diyet katılan Q10 düzeyleri serum Glukoz konsantrasyonlarını etkilememiştir ($p>0.05$). Glukoz konsantrasyonları kontrol: 105.67 ± 5.68 , Q10: 107.17 ± 5.01 , KE: 104.83 ± 5.91 , KE+Q10: 107.29 ± 4.96 , AE: 106.00 ± 3.30 ve AE+Q10: 105.29 ± 6.32 mg/dL olarak tespit edilmiştir. Kolesterol düzeyleri ise kontrol: 80.60 ± 3.12 , Q10: 71.10 ± 2.91 , KE: 69.67 ± 0.85 , KE+Q10: 68.40 ± 1.64 , AE: 69.33 ± 0.62 ve AE+Q10: 68.71 ± 4.30 mg/dL olarak tespit edilmiştir ($P<0.0001$). En düşük kolesterol düzeyi KE+Q10 grubunda (68.40 ± 1.64 mg/dL) olarak tespit edilirken, en yüksek kolesterol düzeyi ise kontrol grubunda (80.60 ± 3.12 mg/dL) bulunmuştur ($P<0.001$). Kolesterol düzeyi Q10 ilave edilen gruplar ise önemli derecede düşmüştür ($P<0.05$). Trigliserit düzeyleri sırası ile kontrol: 93.83 ± 2.85 , Q10: 83.83 ± 1.78 , KE: 84.67 ± 2.58 , KE+Q10: 72.00 ± 2.16 , AE: 84.33 ± 2.42 ve AE+Q10: 74.29 ± 2.23 mg/dL olarak tespit edilmiştir ($P<0.0001$). En düşük trigliserit düzeyi KE+Q10 grubunda (72.00 ± 2.16 mg/dL) olarak tespit edilirken, en yüksek trigliserit düzeyi ise kontrol grubunda (93.83 ± 2.85 mg/dL) bulunmuştur ($P<0.0001$). Trigliserit düzeyi Q10 ilave edilen gruplar ise önemli derecede düşmüştür ($P<0.05$).

Tablo 2' de görüleceği üzere, AST düzeyleri kontrol: 230.80 ± 19.44 , Q10: 221.50 ± 17.82 , KE: 225.33 ± 26.34 , KE+Q10: 221.86 ± 11.20 , AE: 219.33 ± 15.42 ve AE+Q10: 222.00 ± 17.78 U/L olarak tespit edilmiştir. Ekipler içinde istatistiksel bir anlamlılık rastlanılmamıştır ($P>0.05$). ALT düzeyleri ise kontrol: 92.00 ± 8.89 , Q10: 91.00 ± 6.26 , KE: 85.67 ± 6.15 , KE+Q10: 90.43 ± 7.89 , AE: 92.33 ± 6.05 ve

AE+Q10: 97.00 ± 7.02 U/L olarak tespit edilmiştir. ALT düzeylerinde de ekipler içinde mühim bir ayrıtlık bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Tablo 3' de görüleceği üzere, serum MDA düzeyleri kontrol: 0.88 ± 0.04 , Q10: 0.61 ± 0.03 , KE: 0.55 ± 0.02 , KE+Q10: 0.43 ± 0.03 , AE: 1.37 ± 0.05 ve AE+Q10: 0.91 ± 0.03 nmol/mg olarak tespit edilmiştir. Ekipler içinde istatistiksel mühim bir ayrıtlık bulunmuştur ($P < 0.001$). En düşük MDA düzeyi KE+Q10 grubunda tespit edilirken, en yüksek MDA düzeyi ise AE grubunda bulunmuştur ($P < 0.001$). MDA düzeyi Q10 ilave edilen gruplar ise önemli derecede düşmüştür ($P < 0.05$). Ayrıca MDA düzeyleri kronik egzersiz ve akut egzersiz gruplarında da farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Kas MDA düzeyleri ise kontrol: 85.16 ± 3.11 , Q10: 61.28 ± 2.05 , KE: 59.55 ± 1.82 , KE+Q10: 52.96 ± 1.50 , AE: 97.72 ± 2.22 ve AK+Q10: 93.58 ± 1.43 nmol/mg olarak tespit edilmiştir ($P < 0.0001$). En düşük kas MDA düzeyi de KE+Q10 grubunda (52.96 ± 1.50 nmol/mg) tespit edilirken, en yüksek kas MDA düzeyi ise AE grubunda (97.72 ± 2.22 nmol/mg) bulunmuştur ($P < 0.0001$). Kas MDA düzeyi Q10 ilave edilen gruplara ise önemli derecede düşmüştür ($P < 0.05$). Ayrıca kas MDA düzeyleri kronik egzersiz ve akut egzersiz gruplarında da farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Karaciğer MDA düzeyleri kontrol: 101.38 ± 2.24 , Q10: 95.14 ± 2.46 , KE: 96.10 ± 2.04 , KE+Q10: 87.24 ± 1.94 , AE: 117.73 ± 2.55 ve AE+Q10: 108.33 ± 2.76 nmol/mg olarak tespit edilmiştir ($P < 0.0001$). En düşük MDA düzeyi Q10 grubunda (95.14 ± 2.46 nmol/mg) tespit edilirken, en yüksek MDA düzeyi ise AE grubunda (117.73 ± 2.55 nmol/mg) bulunmuştur ($P < 0.0001$). MDA düzeyi Q10 ilave edilen gruplar ise önemli derecede düşmüştür ($P < 0.05$). Ayrıca MDA düzeyleri kronik egzersiz ve akut egzersiz gruplarında da farklı bulunmuştur ($P < 0.05$).

Tablo 1. Egzersiz uygulanan ratlarda Q10'nin kardiyometabolik biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

Parametreler	Kontrol	Q10	KE	KE+Q10	AE	AE+Q10	<i>P</i> <
Glukoz, mg/dL	105.67±5.68	107.17±5.01	104.83±5.91	107.29±4.96	106.00±3.30	105.29±6.32	ÖD
Kolesterol, mg/dL	80.60±3.12 ^a	71.10±2.91 ^b	69.67±0.85 ^b	68.40±1.64 ^c	69.33±0.62 ^b	68.71±4.30 ^b	0.0001
Trigliserit, mg/dL	93.83±2.85 ^a	83.83±1.78	84.67±2.58 ^b	72.00±2.16 ^d	84.33±2.42 ^b	74.29±2.23 ^c	0.0001

Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. (a-d) Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($P < 0.05$). ÖD: Önemli değil. Kontrol: sedentar ve egzersiz uygulanmayan ratlar; Q10: Sedentar ve Q10 içeren diyetle beslenen ratlar; KE: Kronik egzersiz uygulanan ve Q10 içermeyen standart diyetle beslenen ratlar; KE+Q10; Kronik egzersiz uygulanan ve Q10 içeren diyetle beslenen ratlar; AE: Akut egzersiz uygulanan ve Q10 içermeyen standart diyetle beslenen ratlar; AE+Q10: Akut egzersiz uygulanan ve Q10 içeren diyetle beslenen ratlar.

Tablo 1. Egzersiz uygulanan ratlarda Q10 karaciğer fonksiyon testleri üzerine etkisi

Parametreler	Kontrol	Q10	KE	KE+ Q10	AE	AE+ Q10	<i>P</i> <
AST, U/L	230.80±19.44	221.50±17.82	225.33±26.34	221.86±11.20	219.33±15.42	222.00±17.78	ÖD
ALT, U/L	92.00±8.89	91.00±6.26	85.67±6.15	90.43±7.89	92.33±6.05	97.00±7.02	ÖD

Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak belirtilmiştir. (a-d) Farklı harf taşıyan ekipler arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($P<0.05$). ÖD: Önemli değil. Kontrol: sedentar ve egzersiz uygulanmayan ratlar; Q10: Sedentar ve Q10 içeren diyetle beslenen ratlar; KE: Kronik egzersiz uygulanan ve Q10 içermeyen standart diyetle beslenen ratlar; KE+Q10; Kronik egzersiz uygulanan ve Q10 içeren diyetle beslenen ratlar; AE: Akut egzersiz uygulanan ve Q10 içermeyen standart diyetle beslenen ratlar; AE+Q10: Akut egzersiz uygulanan ve Q10 içeren diyetle beslenen ratlar.

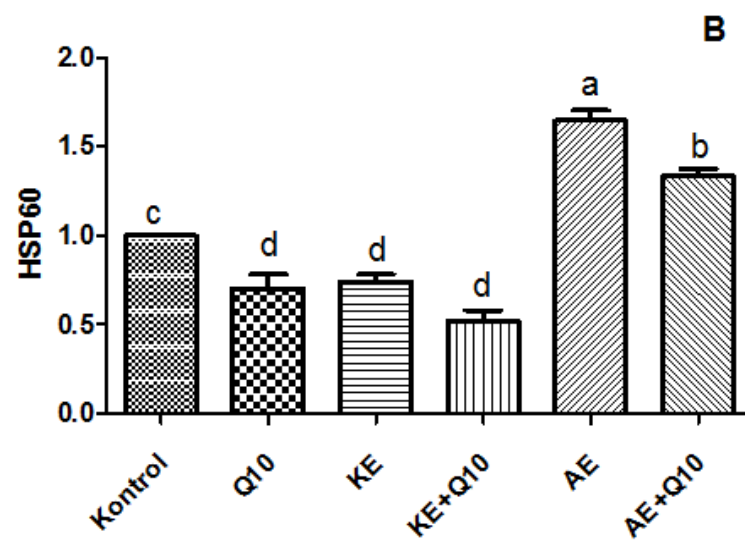
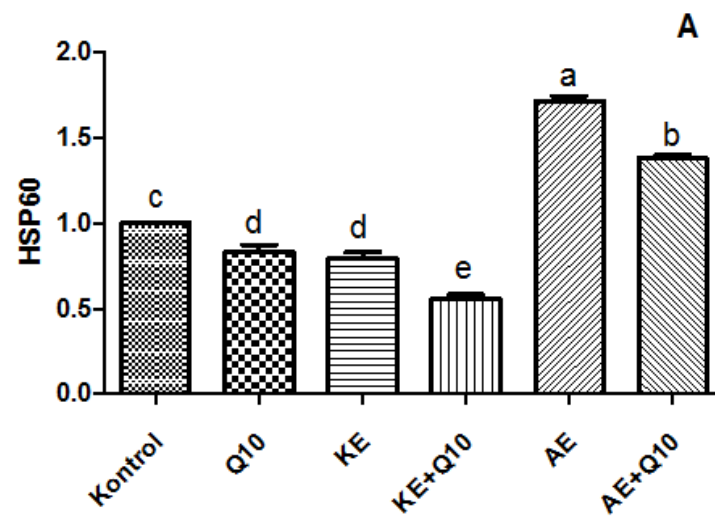
Tablo 2. Egzersiz uygulanan ratlarda Q10 oxidative stress üzerine etkisi

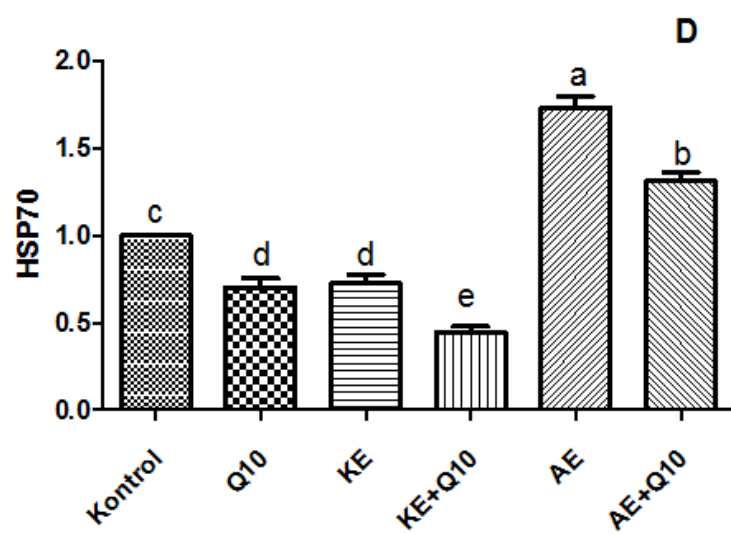
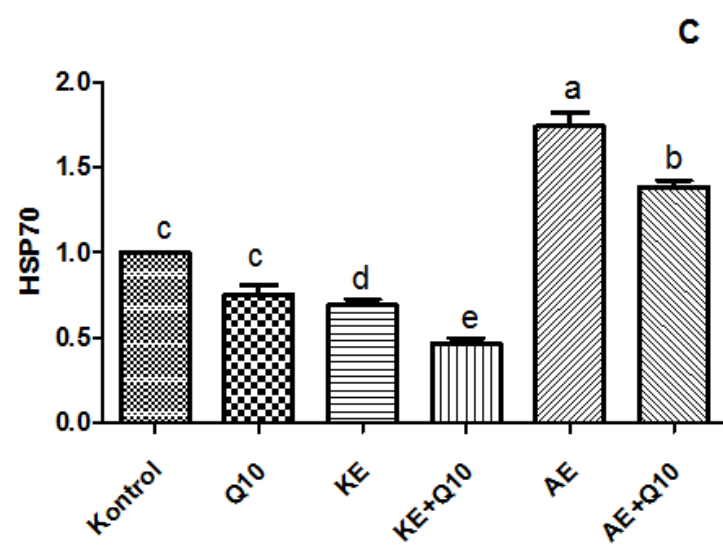
Parametreler	Kontrol	Q10	KE	KE+ Q10	AE	AE+ Q10	<i>P</i> <
Serum MDA, nmol/mg protein	0.88±0.04 ^c	0.61±0.03 ^d	0.55±0.02 ^d	0.43±0.03 ^e	1.37±0.05 ^a	0.91±0.03 ^b	0.001
Kas MDA, nmol/mg protein	85.16±3.11 ^c	61.28±2.05 ^d	59.55±1.82 ^d	52.96±1.50 ^e	97.72±2.22 ^a	93.58±1.43 ^b	0.0001
Karaciğer MDA, nmol/mg protein	101.38±2.24 ^c	95.14±2.46 ^d	96.10±2.04 ^d	87.24±1.94 ^e	117.73±2.55 ^a	108.33±2.76 ^b	0.0001

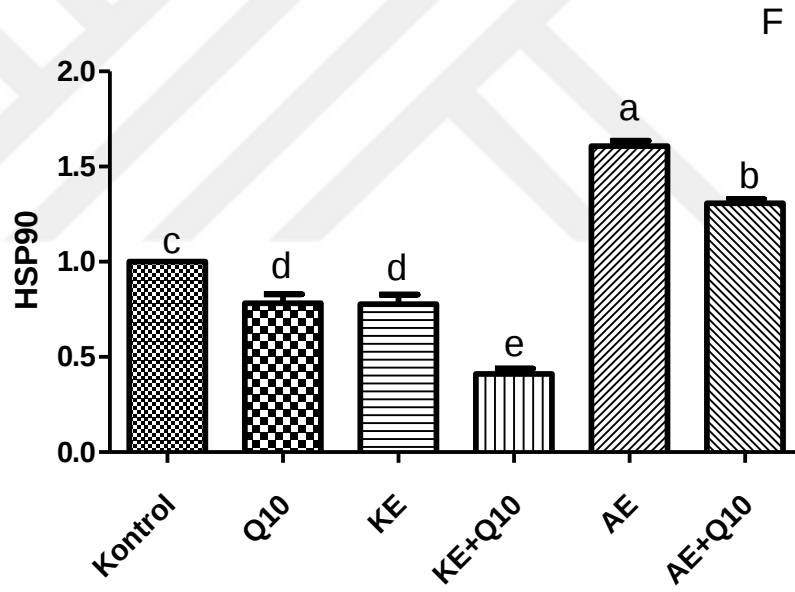
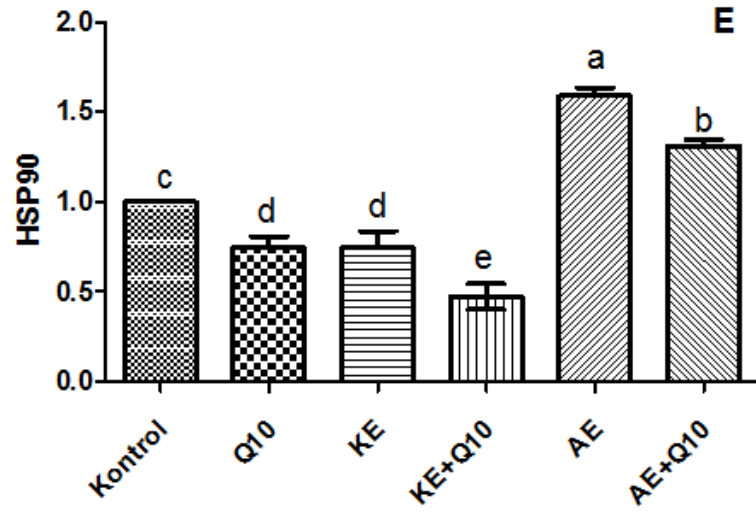
Veriler ortalama ± standart hata olarak belirtilmiştir. (a-d) Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($P < 0.05$). Kontrol: sedentar ve egzersiz uygulanmayan ratlar; Q10: Sedentar ve Q10 içeren diyetle beslenen ratlar; KE: Kronik egzersiz uygulanan ve Q10 içermeyen standart diyetle beslenen ratlar; KE+Q10; Kronik egzersiz uygulanan ve Q10 içeren diyetle beslenen ratlar; AE: Akut egzersiz uygulanan ve Q10 içermeyen standart diyetle beslenen ratlar; AE+Q10: Akut egzersiz uygulanan ve Q10 içeren diyetle beslenen ratlar.

Çalışmamızdaki grupların karaciğer ve kas dokularında elde edilen ekspresyon bulguları Şekil 1' de gösterilmektedir. RT-PCR sonuçlarına göre gruplar arasında, karaciğer Hsp-60 ekspresyonunda anlamlı bir fark gözlemlendi (Panel A). Buna göre, en düşük karaciğer Hsp-60 ekspresyon düzeyi kronik egzersiz+Q10 grubunda bulunmuştur. En yüksek karaciğer Hsp-60 ekspresyon düzeyi ise akut egzersiz ile akut egzersiz+Q10 grubunda bulunmuştur ($P<0.05$). Bu grubu ise kontrol grup ve sadece Q10 verilen grup izlemiştir. Ancak, sadece Q10 verilen grup ile kronik egzersiz uygulanan grup arasında ise fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Kronik egzersiz uygulanıp ve Q10 verilen grupta ise karaciğer Hsp-60 ekspresyon düzeyi akut egzersiz uygulanan gruba göre düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Panel C' de görüleceği üzere kronik egzersiz+Q10 ve akut egzersiz uygulamasının karaciğer Hsp-70 ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişikliğe neden olduğu belirlenmiştir ($P<0.001$). Elde ettiğimiz bulgulara göre en düşük kronik egzersiz+Q10 grubunda bulunmuştur. En yüksek karaciğer Hsp-70 ekspresyon düzeyi ise akut egzersiz grubunda bulunmuştur ($P<0.05$). Bu grubu ise akut egzersiz+Q10 grubu izlemiştir. Ayrıca, kontrol ve Q10 grupları arasında ise fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Panel E' de karaciğer Hsp-90 ekspresyon grubunda ise kontrol grubu Q10 grubuna göre daha yüksek, kronik egzersiz grubu kronik egzersiz+Q10 grubuna göre yüksek, akut egzersiz grubu akut egzersiz+Q10 grubuna göre karaciğer Hsp-90 ekspresyon düzeyi yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Ayrıca, kronik egzersiz grubu akut egzersiz grubuna göre karaciğer Hsp-90 ekspresyon düzeyi daha düşük bulunmuştur ($P<0.001$). Kronik egzersiz+Q10 grubu akut egzersiz+Q10 grubuna göre karaciğer Hsp-90 ekspresyon düzeyi daha düşük bulunmuştur ($P<0.001$). Ancak, Q10 grubu ile kronik egzersiz grupları arasında karaciğer Hsp-90 ekspresyon düzeyi anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Panel B' de en

düşük kas Hsp-60 ekspresyon düzeyi kronik egzersiz+Q10 grubunda bulunmuştur. En yüksek kas Hsp-60 ekspresyon düzeyi ise akut egzersiz grubunda bulunmuştur. Ancak, Q10 ve kronik egzersiz grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Kronik egzersiz grubu ile akut egzersiz grubu arasında istatistiksel farklılık bulunmaktadır ($P<0.001$). Q10 verilen gruplar diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur ($p>0.05$). Panel D' de görüleceği üzere en düşük kas Hsp-70 ekspresyon düzeyi kronik egzersiz grubunda bulunmuştur. En yüksek kas Hsp-70 ekspresyon düzeyi ise akut egzersiz grubunda bulunmuştur. Kronik egzersiz yaptırılan grup ile akut egzersiz yaptırılan grup arasında kronik egzersiz grubu kas Hsp-70 ekspresyon düzeyi düşük bulunmuştur ($P<0.001$). Ayrıca, Q10 ve kronik egzersiz arasında kas Hsp-70 ekspresyon düzeyinde fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Akut egzersiz ve akut egzersiz+Q10 grupları arasında kas Hsp-70 ekspresyon düzeyinde anlamlı fark gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Buna göre, gruplar arasında kas Hsp-70 ekspresyon düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Panel F' de ise Hsp-90 ekspresyon düzeyi, en düşük kronik egzersiz+Q10 grubunda tespit edilirken en yüksek grup ise akut egzersiz grubunda bulunmaktadır. Ayrıca, Hsp-90 ekspresyon düzeyleri Q10 ve kronik egzersiz grupları arasında istatistiksel bir anlamlılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). Kronik egzersiz ve kronik egzersiz+Q10 verilen gruplar arasında kronik egzersiz+Q10 grubu daha düşük olduğu görülmektedir (Panel F, $P<0.05$). Akut egzersizi ve Akut egzersizi+Q10 gruplar arasında akut egzersiz grubu daha yüksek olduğu bulunmuştur ($P<0.05$). Kontrol ve kronik egzersiz grubu arasında kontrol grubunun yüksek olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Ayrıca kronik egzersiz+Q10 ve Akut egzersizi+Q10 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($P<0.001$).







Şekil 1. Egzersiz uygulanan ratlarda Q10'nin karaciğer Hsp-60 (A), Hsp-70 (C) ve Hsp-90 (E) ile kas Hsp-60 (B), Hsp-70 (D) ve Hsp-90 (F) ekspresyonu üzerine etkisi

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında; deneysel olarak egzersiz uygulanan ratlarda, Koenzim Q10 takviyesinin Kardiometabolik biyokimyasal parametreler (GLU, CHOL ve Trig), karaciğer ve böbrek fonksiyonları (AST ve ALT), oksidatif stres belirteci olan MDA (serum, kas ve karaciğer) düzeyleri, karaciğer ve kas Hsp-60, Hsp-70 ve Hsp-90 ekspresyonları üzerine etkileri ortaya konmuştur.

Çalışmada, Koenzim Q10 ve egzersiz gruplarında kardiometabolik biyokimyasal parametrelerden Glukoz ve karaciğer fonksiyonları (AST ve ALT) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (Tablo 1, Tablo 2). Ancak Koenzim Q10 ve kronik egzersizin kardiometabolik biyokimyasal parametrelerden kolesterol ve trigliserit düzeylerini düşürdüğü belirlenmiştir (Tablo 1). Koenzim Q10 ve egzersiz uygulamasının MDA (serum, kas ve karaciğer) düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir (Tablo 3). Ayrıca, Koenzim Q10 ve egzersiz uygulamasının karaciğer ve kas Hsp-60, Hsp-70 ve Hsp-90 ekspresyonunu düşürdüğü görülmüştür. Özellikle de en çok düşüşün kronik egzersiz ve Koenzim Q10 uygulamasının birlikte yapıldığı gruplarda olduğu belirlenmiştir. Şekil 1 karaciğer (Hsp-60 (A), Hsp-70 (C) ve Hsp-90 (E) ile kas Hsp-60 (B), Hsp-70 (D) ve Hsp-90 (F)).

Koenzim Q10 (CoQ10) hücredeki enerji üretimi yanında kilit enzimatik etkileşiminde koenzim olarak vazifelendirilen, her hücrede var olabilen, yağda çözünen, vitamine benzeyen bir bileşiktir (22). Koenzim Q10 biyolojik dokularda biyokimyasal olarak hem azaltılmış biçimde hem de okside biçimde var olan bir redoks molekülüdür (23). Koenzim Q10 oksijen kaynaklı radikaller ve singlet oksijen ile beraber etkileşerek lipid peroksidasyonunun başlamasını ve

biyomoleküllerin zarar görmesine engel olur (27). Serbest radikallerle ara ürün olarak rol alır ve elektron redüksiyon etkileşimine maruz kalır. Sabit karakterli olmayan serbest radikaller ubikinondan gelen bir elektronlar sabit hale gelir. Koenzim bu yapısıyla önemli bir antioksidandır (26). Ubikinol-10, a-tokoferol gibi plazmada var olan farklı antioksidanlarla karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda olmasına rağmen, plazma oksidanlara maruz kaldığında ilk reaksiyona devam eden antioksidandır. Koenzim Q10 ayrıca diğer antioksidanların rejenerasyonunda rol alır. (25, 24). Ayrıca koenzim Q10'ın membran sabitliğinde, hücre sinyalinde, gen ekspresyonunda, hücre büyümesinin ve apoptosisin denetiminde de işlevleri bildirilmektedir (28).

Araştırma sonuçlarımıza paralel olarak, Pala ve arkadaşları, koşu egzersizi yaptırdıkları ve koenzim Q10 tüketen ratlarda kolesterol ve trigliserit düzeylerinde düşüş olduğunu tespit etmişlerdir (58). Genç koşu egzersizi ve antioksidan özeliği olan L-Karnitin takviyesi yaptırdığı ratlarda karaciğer fonksiyon testlerinden AST ve ALT parametrelerinde önemli bir fark olmadığını ve kardiyometabolik biyokimyasal parametrelerden glukozda önemli bir fark olmadığını, kolesterol ve trigliserit parametrelerde anlamlı fark tespit etmiştir (103). Díaz-Castro ve arkadaşları, amatör erkek koşucularda koenzim Q10 takviyesi yaptıkları çalışmada kolesterol düzeyinde anlamlı fark olmadığını ve trigliserit düzeyini düşürdüğünü anlamlı fark olduğunu tespit etmişlerdir (104). Egzersiz sırasında egzersizin yüksek iskelet kas aktivitesine ve trigliserit kapasitesini geliştirmesinde koenzim Q10 potansiyel ergojenik etkisi gösterilebilir (105).

Aşırı egzersizlerde lipit peroksidasyonu ve doku hasarının artması oksidatif stresin artmasıyla alakalıdır (106, 107). Lipit peroksidasyonunun ürünü

olan MDA, doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan bir dialdehittir ve oksidatif hasarın göstergesidir (108). MDA miktarının tiobarbütirik asit yöntemi ile ölçülmesi mevcut klinik ve deneysel çalışmalarda en çok kullanılan yöntemdir (109). Bu çalışmamızda egzersiz yapmayan kontrol grubunda koenzim Q10'in etkisiyle serum, kas ve karaciğer MDA düzeylerini düşürdüğü gözlenmiştir. Serum, kas ve karaciğer MDA düzeyleri Kronik egzersiz ve kronik egzersiz+ koenzim Q10 grupları kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Akut egzersiz ve akut egzersiz+koenzim Q10 gurupları kontrol ve kronik egzersiz gruplarına göre daha yüksek olarak bulunmuştur (Tablo 3). Sonuçlar koenzim Q10 verilen grupların, verilmeyen gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı MDA düzeylerinde düşüşler olduğunu göstermektedir. Díaz-Castro ve arkadaşları, amatör erkek koşucularda koenzim Q10 takviyesi yaptıkları çalışmada oksidatif stresi azalttığı ve kas hasarını önlediğini tesbit etmişlerdir (104). Diğer bir çalışmada da Pala ve arkadaşları koşu egzersizi yaptırdıkları ve koenzim Q10 tüketen ratlarda antioksidan görevi yapan koenzim Q10 oksidatif stresi baskıladığını belirtmişlerdir (58). Gül ve arkadaşları Wingate testleri uyguladıkları 15 sağlıklı ve sedanter erkeklere koenzim Q10 takviyesinin oksidatif stresi baskıladığını tespit etmişlerdir (110). Kon ve arkadaşları egzersiz uygulanan ratlarda koenzim Q10 desteğinin etkisini inceledikleri çalışmada koenzim Q10' in fiziksel egzersiz kaynaklı kas hasarının azaltılmasında yararlı olduğunu belirtmişlerdir (111). Östman ve arkadaşları koenzim Q10 takviyesinin orta derecede antrenmanlı sağlıklı erkeklerde oksidatif strese etkisini araştırdıkları çalışmada Koenzim Q10' inoksidatif strese etkili olabileceğini belirtmişlerdir (112). Pala ve Savucu Türkiye büyük erkekler boks millî takımın boksörlerinin

sekiz haftalık kamp öncesi ve kamp sonrası oksidatif stres parametrelerini inceledikleri çalışmada MDA düzeyinin kamp sonrası azaldığını tespit etmişlerdir (113). Pala elit boksörlerin maç öncesi ve maç sonrası oksidatif stres parametrelerini incelediği çalışmada boksörlerin maç sonu MDA düzeyinin azaldığını tespit etmiştir (114). Pala ve arkadaşları Türkiye boks milli takımı antrenörlerinin maç öncesi ve maç sonrası bazı oksidatif stres parametrelerinin inceledikleri çalışmada MDA düzeylerinin azaldığını tespit etmişlerdir (115). Genç koşu egzersizi ve antioksidan özeliği olan L-Karnitin takviyesi yaptırdığı erkek Wistar albino ratlarda serum, kas ve karaciğer MDA düzeylerini düşürdüğünü, akut egzersizin oksidatif stresi artırırken, kronik egzersiz ise lipid peroksidasyon düzeyini düşürerek oksidatif stresi azalttığını tesbit etmiştir (103). Yapılan çalışmalara bakıldığında bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Elde ettiğimiz bulgular koenzim Q10 takviyesinin kronik ve akut egzersizlerde, antioksidan kapasiteyi geliştirdiği, MDA düzeyini düşürdüğü, oksidatif hasara karşı koruyucu rol üslendiği ve fiziksel performansı olumlu yönde artırabileceğini düşünülmektedir.

Koenzim Q10 ve egzersiz uygulamasının karaciğer ve kasta Hsp-60, Hsp-70 ve Hsp-90 ekspresyonunu düşürdüğü görülmüştür. Özellikle de en çok düşüşün kronik egzersiz ve Koenzim Q10 uygulamasının birlikte yapıldığı gruplarda olduğu, akut egzersizin ise ısı şok proteinlerinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda koşu egzersizi yaptırdıkları ratlarda kasta stres proteinlerinin artış olduğunu tesbit etmişlerdir (116, 85, 117-122). Oksala ve arkadaşları egzersiz yaptırdıkları ve antioksidan takviye ettikleri ratlarda oksidatif

stresi baskıladığı karaciğerde ısı şok protein ekspirasyonunu artırdığını tespit etmişlerdir (123). Bu çalışmalar bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak, egzersiz uygulanan ratlarda Koenzim Q10 nun karaciğer ve böbrek fonksiyonları üzerine etkisi olmadığı, kardiometabolik biyokimyasal parametreler üzerinde glikozu etkilemediği, kolesterol ve trigliseriti azalttığı görölmüşür. Akut egzersiz oksidatif stresi artırırken, kronik egzersiz ise lipid peroksidasyon düzeyini düşürerek oksidatif stresi azaltmışür. Bu etkisini de ısı şok proteinlerini regüle ederek göstermişür. Ayrıca, ratlarda Koenzim Q10 tüketiminin ısı şok protein düzeylerini düşürerek etkisini göstermişür. Bu arada kronik egzersiz ve Koenzim Q10 nun sinerjik bir etki göstererek oksidatif stresi azalttığı tespit edilmişür.

7. KAYNAKLAR

1. Goldfarb AH. Antioxidants: role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1993; 25: 232-236.
2. Detnopoulos HB, Santomier JP, Seligman M, et al. Free Radical Pathology: Rationale and Toxicology of Antioxidants and Other Supplements in Sports Medicine and Exercise Science, in Sport, Health and Nutrition, ch, F.I, Ed, Human Kinetics Publishers, Champaign 1986: 139.
3. Jackson MJ, Khassaf M, Vasilaki A, Ardle MC. Vitamine E and Oxidative Stres of Exercise. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2004; 1031: 158-168.
4. Davies KJA, Qumtaniha AT, Brooks GA, Packer L. Free Radicals and Tissue Damage Producedby Exercise, *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1982; 107: 1198-1205.
5. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant. Supplementation. *Toxicology* 2003; 189: 41-54.
6. Van Klaveren RJ, Nemery B. Role of reactive oxygen species in occupational and environmental obstructive pulmonary, diseases. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 1999; 5: 118-123.
7. Ernster L. Lipid peroxidation in biological membranes: mechanisms and implications. In: *Active Oxygens, Lipid Peroxides and Antioxidants* (Yagi K, ed.), CRC Press, Boca Raton, FL. 1993:1–38.
8. Andre' e P, Dallner G. Ernster L. Ubiquinol: an endogenous lipidsoluble antioxidant in animal tissues. In: *Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants*, Plenum Press, New York, NY. 1998; 293-314.
9. Stocker R, Frei B. Endogenous antioxidant defenses in human blood plasma, in *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants*. (H Sies ed., Academic, London) 1991; 213-43.
10. Bargossi AM, Battino M, Gaddi A, Fiorella PL, Grossi G, Barozzi G, et al. Exogenous CoQ10 preserves plasma ubiquinone levels in patients treated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *International journal of clinical and laboratory research* 1994; 24: 171-176.
11. Ernster L, Forsmark P, Nordenbrand K. The mode of action of lipid-soluble antioxidants in biological membranes: relationship between the effects of ubiquinol and vitamin E as inhibitors of lipid peroxidation in submitochondrial particles. *Biofactors* 1992; 3: 241-8.
12. Ernsteer L. Dallner G. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochemica et Biophysica Acta* 1995; 1271: 195-204.
13. Modi K, Santani DD, Goyal RK, Bhatt PA. Effect of coenzyme Q10 on catalase activity and other antioxidant parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Trace Elem Res* 2006; 109: 25-34.
14. Mataix J, Manas M, Quies J, Battino M, Cassinello M, Lopez-Frias M, Huertas JR. Coenzyme Q content depends upon oxidative stres and dietary fat unsaturation. *Mol. Asp. Med.* 1997; 18: 129-135.
15. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radical Biology and Medicine* 2008; 44 (2): 126-131.
16. Bhagavan HN, Chopra RK. Coenzyme Q. absorption, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics. *Free Radical Research* 2006; 40: 445-453.
17. Linnane AW, Kios M, Vitetta L. Coenzyme Q(10) dits role as a prooxidant in the formation of superoxide anion/hydrogen peroxide and the regulation of the metabolome. *Mitochondrion* 2007; 7: 51–61.
18. Pescatello LS, Thompson WR, Gordon NF. A preview of ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. *ACSM's Health Fitness Journal* 2009; 13: 23-26.
19. Zorba E. Fiziksel Uygunluk, Başak Ofset, Muğla 2001; 3-7.

20. Frontera WR, Slovik DM, Dawson DM. Exercise in rehabilitation medicine. *Human Kinetics* 2006; 13-23.
21. Bencke J, Damsgaard R, Saekmose A, Jorgensen P, Jorgensen K, Klausen K. Anaerobic power and muscle strength characteristics of 11 years old elite and non-elite boys and girls from gymnastics, team handball, tennis and swimming. *Scandinavian journal of medicine & science in sports* 2002; 12 (3): 171-178.
22. Dallner G, Stocker R. Coenzyme Q. In: *Encyclopedia of dietary supplements*. New York: Marcel Dekker 2005; 121-31.
23. Parkhideh D. U.S. Patent No. Washington DC: U.S. Patent and Trademark Office 2008; 7: 438-903.
24. Overvad K, Diamant B, Holm L, Holmer G, Mortensen SA, Stender S. Coenzyme Q10 in health and disease. *European Journal of Clinical Nutrition* 1999; 53: 764 - 770.
25. Bhagavan HN, Chopra RK, Craft NE, Chitchumroonchokchai C, Failla ML. Assessment of coenzyme Q10 absorption using an in vitro digestion-Caco-2 cell model. *International journal of Pharmaceutics* 2007; 333: 112 - 117.
26. Turunen M, Olsson J, Dallner G. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 2004; 1660: 171-199.
27. Bonakdar RA, Guarneri E. Co-enzym Q10. 2005.
28. Crane FL. Biochemical functions of coenzyme Q10. *Journal of the American College of Nutrition* 2001; 20: 591- 598.
29. Littarru GP, Lippa S, Oradei A, Fiorni RM, Mazzanti L. Metabolic and diagnostic implications of blood CoQ10 levels. *Biomedical and clinical aspects of coenzyme Q* 1991; 6: 167-178.
30. Folkers K, Langsjoen P, Willis R, Richardson P, Xia LJ, Ye CQ, Tamagawa H. Lovastatin decreases coenzyme Q levels in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1990; 87: 8931- 8934.
31. Ghirlanda G, Oradei A, Manto A, Lippa S, Uccioli L, Caputo S, Littarru GP. Evidence of Plasma CoQ10-Lowering Effect by HMG-CoA Reductase Inhibitors: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *The Journal of Clinical Pharmacology* 1993; 33: 226 -229.
32. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool. *Redox Report* 2004; 9: 145 - 152.
33. Pinnell SR. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *Journal of the American Academy of Dermatology* 2003; 48: 1 - 22.
34. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları*, Konya 1995: 1.
35. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third Edition, Oxford Science Publications 2001: 22- 24.
36. Halliwell B, Gutteridge J, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1992; 119: 598 - 620.
37. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *The American journal of medicine* 2000; 109: 33 - 44.
38. Kuyvenhoven JP, Meinders AE. Oxidative stress and diabetes mellitus: pathogenesis of long-term complications. *European Journal of Internal Medicine* 1999; 10: 9-19.
39. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 336-41.
40. Porter NA, Richardson T, Finley JW. Mechanism of fatty acid and phospholipid autoxidation. In *Chemical Changes in Food During Processing*, Van Nostrand Reinhold Company, New York 1985; 73-105.

41. Foote CS, Richardson T, Finley JW. Chemistry of reactive oxygen species. In *Chemical Changes in Food During Processing*, Van Nostrand Reinhold Company, New York 1985; 17-32.
42. Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Methods Enzymol* 1990; 186: 1-85.
43. Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Rad. Res* 1995; 22: 375-383.
44. Lindsay RC, Fennema OR. Food Additives. In *"Food Chemistry"* (Ed), Marcel De 1996; 767-823.
45. Lavelli V, Peri C, Rizzolo A. Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using xanthine oxidase, myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000; 48: 1442-1448.
46. Duthie GG, Wahle KWJ, James WPT. Oxidants antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr. Res. Rev. New York* 1989; 2: 5-62.
47. Meydani M. Antioxidants and cognitive function. *ILSI. Nutrition Reviews* 2001; 59: 75-82.
48. Chen H, Tappel AL, Agric J. Protection of multiple antioxidants against heme protein oxidation and lipid peroxidation induced by CBrCl₃ in liver, lung, kidney, heart, and spleen. *Food Chem* 1996; 44: 854-858.
49. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annual review of nutrition* 1996; 16: 33-50.
50. Ansari KA, Kaplan E, Shoeman D. Age-related changes in lipid peroxidation and protective enzymes in the central nervous system. *Growth, development, and aging, GDA* 1988; 53: 117-121.
51. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry* 1995; 41: 1819-1828.
52. Agrawal A, Kale RK. Radiation induced peroxidative damage mechanism and significance. *Indian journal of experimental biology* 2001; 39: 291-309.
53. Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A, Sinet PM, Thevenin M. Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry* 1992; 38: 66-70.
54. Quiles JL, Huertas JR, Battino M, Mataix J, Ramírez-Tortosa MC. Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity. *Toxicology* 2002; 180: 79-95.
55. McLean JA, Karadas F, Surai PF, McDevitt RM, Speake BK. Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B, Biochemistry and Molecular Biology* 2005; 141: 366-372.
56. Wang YJ, Chien YH, Pan CH. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. *Aquaculture* 2006; 261: 641-648.
57. Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Medicine and science in sports and exercise* 1993; 25: 225-231.
58. Pala R, Orhan C, Tuzcu M, Sahin N, Ali S, Cinar V, Atalay M, Şahin K. Coenzyme Q10 Supplementation Modulates NFκB and Nrf2 Pathways in Exercise Training. *Journal of sports science & medicine* 2016; 15: 196.
59. Jenkins RR. Free radical chemistry. *Sports Medicine* 1988; 5: 156-170.
60. Alessio HM, Goldfarb AH. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise adaptive response to training. *Journal of Applied Physiology* 1988; 6: 1333-1336.
61. Ohno H, Sato Y, Yamashita K, Doi R, Arai K, Kondo T, Taniguchi N. The effect of brief physical exercise on free radical scavenging enzyme systems in human red blood cells. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 1986; 64: 1263-1265.

62. Laughlin MH, Simpson T, Sexton WL, Brown OR, Smith JK, Korthuis RJ. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes and exercise training. *Journal of Applied Physiology* 1990; 68: 2337-2343.
63. Kanter MM, Hamlin RL, Unverferth DV, Davis HW, Merola AJ. Effect of exercise training on antioxidant enzymes and cardiotoxicity of doxorubicin. *Journal of Applied Physiology* 1985; 59: 1298-1303.
64. Vani M, Reddy GP, Reddy GR, Thyagaraju K, Reddanna P. Glutathione-S-transferase, superoxide dismutase, xanthine oxidase, catalase, glutathione peroxidase and lipid peroxidation in the liver of exercised rats. *Biochemistry international* 1989; 21: 17-26.
65. Ohno H, Sato Y, Yamashita K, Doi R, Arai K, Kondo T, Taniguchi N. The effect of brief physical exercise on free radical scavenging enzyme systems in human red blood cells. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 1986; 64: 1263-265.
66. 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 physiologica scandinavica* 1992; 146: 291-292.
67. 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* 1993; 215: 213-219.
68. Ertekin C, Belgerden S. Travmalı hastaya ilk yaklaşım, *Ulusal Travma Derg* 1995; 1: 117-25.
69. Esterbauer H, Schaur RJR, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free radical biology medicine* 1990; 11: 81-128.
70. Aufricht C. Heat-shock protein 70: molecular supertool. *Pediatric Nephrology* 2005; 20: 707-713.
71. Christians ES, Yan LJ, Benjamin IJ. Heat shock factor 1 and heat shock proteins: critical partners in protection against acute cell injury. *Critical care medicine* 2002; 30: 43.
72. Petrof EO, Ciancio MJ, Chang EB. Role and regulation of intestinal epithelial heat shock proteins in health and disease. *Chinese journal of digestive diseases* 2004; 5: 45-50.
73. Otaka M, Odashima M, Watanabe S. Role of heat shock proteins (molecular chaperones) in intestinal mucosal protection. *Biochemical and biophysical research communications* 2006; 348: 1-5.
74. Horwich AL, Farr GW, Fenton WA. GroEL-GroES-mediated protein folding. *Chemical reviews* 2006; 106: 1917-1930.
75. Parcellier A, Gurbuxani S, Schmitt E, Solary E, Garrido C. Heat shock proteins, cellular chaperones that modulate mitochondrial cell death pathways. *Biochemical and biophysical research communications* 2003; 304: 505-512.
76. Deocaris CC, Kaul SC, Wadhwa R. On the brotherhood of the mitochondrial chaperones mortalin and heat shock protein 60. *Cell stress chaperones* 2006; 11: 116-128.
77. Möbius J, Groos S, Meinhardt A, Seitz J. Differential distribution of the mitochondrial heat-shock protein 60 in rat gastrointestinal tract. *Cell and tissue research* 1997; 287: 343-350.
78. Zhao Q, Wang J, Levichkin IV, Stasinopoulos S, Ryan MT, Hoogenraad NJ. A mitochondrial specific stress response in mammalian cells. *The EMBO Journal* 2002; 21: 4411-4419.
79. Brudzynski K, Martinez V, Gupta RS. Immunocytochemical localization of heat-shock protein 60-related protein in beta-cell secretory granules and its altered distribution in non-obese diabetic mice. *Diabetologia* 1992; 35: 316-324.
80. Shin BK, Wang H, Yim AM, Le Naour F, Brichory F, Jang JH, Misek DE. Global profiling of the cell surface proteome of cancer cells uncovers an abundance of proteins with chaperone function. *Journal of Biological Chemistry* 2003; 278: 7607-7616.
81. Lebreton T, Watson RWG, Molinié V, O'Neill A, Gabriel C, Fitzpatrick JM, Botto H. Heat shock proteins Hsp-27, Hsp-60, Hsp-70, and Hsp-90. *Cancer* 2003; 98: 970-977.

82. Cappello F. Hsp-60 and Hsp-10 as diagnostic and prognostic tools in the management of exocervical carcinoma. *Gynecologic oncology* 2003; 91: 661.
83. Pockley AG, De Faire U, Kiessling R, Lemne C, Thulin T, Frostegård J. Circulating heat shock protein and heat shock protein antibody levels in established hypertension. *Journal of hypertension* 2002; 20: 1815-1820.
84. Pockley AG, Bulmer J, Hanks BM, Wright BH. Identification of human heat shock protein 60 (Hsp60) and anti-Hsp60 antibodies in the peripheral circulation of normal individuals. *Cell stress chaperones* 1999; 4: 29.
85. Mattson JP, Ross CR, Kilgore JL, Musch TI. Induction of mitochondrial stress proteins following treadmill running. *Med. Sci. Sports. Exerc* 2000; 32: 365-369.
86. Mayer MP, Bukau B. Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cellular and molecular life sciences* 2005; 62: 670-684.
87. Westerheide SD, Morimoto RI. Heat shock response modulators as therapeutic tools for diseases of protein conformation. *Journal of Biological Chemistry* 2005; 280: 33097-33100.
88. Jäättelä M. Escaping cell death: survival proteins in cancer. *Experimental cell research* 1999; 248: 30-43.
89. Kregel KC. Invited review: heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *Journal of applied physiology* 2002; 92: 2177-2186.
90. Hartl FU, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science* 2002; 295: 1852-1858.
91. Sakamoto N, Kokura S, Okuda T, Hattori T, Katada K, Isozaki Y, Naito Y. Heme oxygenase-1 (Hsp32) is involved in the protection of small intestine by whole body mild hyperthermia from ischemia/reperfusion injury in rat. *International journal of hyperthermia* 2005; 21: 603-614.
92. Vicencio A, Bidmon B, Ryu J, Reidy K, Thulin G, Mann A, Siegel NJ. Developmental expression of Hsp-72 and ischemic tolerance of the immature kidney. *Pediatric Nephrology* 2003; 18: 85-91.
93. Koyasu S, Nishida E, Miyata Y, Sakai H, Yahara I. Hsp-100, a 100-kDa heat shock protein, is a Ca²⁺-calmodulin-regulated actin-binding protein. *Journal of Biological Chemistry* 1989; 264: 15083-15087.
94. Atalay M, Oksala NK, Laaksonen DE, Khanna S, Nakao C, Lappalainen J, Sen CK. Exercise training modulates heat shock protein response in diabetic rats. *Journal of Applied Physiology* 2004; 97: 605-611.
95. Neckers L, Ivy SP. Heat shock protein 90. *Current opinion in oncology* 2003; 15: 419-424.
96. Pearl LH, Prodromou C. Structure and in vivo function of Hsp90. *Current Opinion In Structural Biology* 2000; 10: 46-51.
97. Garrido C, Gurbuxani S, Ravagnan L, Kroemer G. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochemical and biophysical research communications* 2001; 286: 433-442.
98. Schmit E, Gehrmann M, Brunet M, Multhoff G, Garrido C. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. *Journal of leukocyte biology* 2007; 81: 15-27.
99. Poulaki V, Iliaki E, Mitsiades N, Mitsiades CS, Paulus YN, Bula DV, Miller JW. Inhibition of Hsp90 attenuates inflammation in endotoxin-induced uveitis. *The FASEB Journal* 2007; 21: 2113-2123.
100. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
101. Karatepe M. Simultaneous Determination of Ascorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human Serum by HPLC-UV, *Lcgc North America* 2004; 22: 362-365.

102. Tuzcu M. Deneyisel olarak oluşturulan diyabetik ratlarda hipokampus ve beyin korteksinden n-cam protein ekspresyonu ve buna melatonin ve vitamin E'nin etkisi, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 2004
103. Genç E. Egzersiz uygulanan ratlarda l-karnitin takviyesinin oksidatif stres ve glikoz transporterleri üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 2016
104. Díaz-Castro J, Guisado R, Kajarabille N, García C, Guisado IM, de Teresa C, Ochoa JJ. Coenzyme Q10 supplementation ameliorates inflammatory signaling and oxidative stress associated with strenuous exercise. *European journal of nutrition* 2012; 51: 791-799.
105. Hawley JA. Effect of increased fat availability on metabolism and exercise capacity. *Med Sci Sports Exerc* 2002; 34: 1485-1491.
106. Fernstrom M, Bakkman L, Tonkonogi M, Shabalina IG, Rozhdestvenskaya Z, Mattsson CM, et al. Reduced efficiency, but increased fat oxidation, in mitochondria from human skeletal muscle after 24-h ultraendurance exercise. *J Appl Physiol* 2007; 102: 1844-1849.
107. Mastaloudis A, Leonard SW, Traber MG. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radical Biology and Medicine* 2001; 31: 911-922.
108. Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, Cappellini MD. Oxidative status and malondialdehyde in β -thalassaemia patients. *European journal of clinical investigation* 2002; 32: 55-60.
109. Goode HF, Cowley HC, Walker BE, Howdle PD, Webster NR. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction. *Critical care medicine* 1995; 23: 646-651.
110. Gül I, Gökbel H, Belviranlı M, Okudan N, Büyükbaş S, Başaralı K. Oxidative stress and antioxidant defense in plasma after repeated bouts of supramaximal exercise: the effect of coenzyme Q10. *The Journal of sports medicine and physical fitness* 2011; 51: 305-312.
111. Kon M, Kimura F, Akimoto T, Tanabe K, Murase Y, Ikemune S, Kono I. Effect of Coenzyme Q10 supplementation on exercise-induced muscular injury of rats. *Exerc Immunol Rev* 2007; 13: 76-88.
112. Östman B, Sjödin A, Michaëlsson K, Byberg L. Coenzyme Q10 supplementation and exercise-induced oxidative stress in humans. *Nutrition* 2012; 28: 403-417.
113. Pala R, Savucu Y. Boks Milli Takımının Avrupa Şampiyonasına Hazırlık Kampları Süresince Bazı Fiziksel ve Oksidatif Stres Parametrelerinin İncelenmesi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi 2011; 115-120.
114. Pala R. Investigation of the Oxidative Stress Parameters of Elite Boxers. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 2013; 7: 692-696.
115. Pala R, Çınar V, Kılıç Y, Alpay N, Orhan S, Biçer Y. Examining certain oxidative stress parameters of coaches of Turkish national boxing team before and after the matches. *European Journal of Experimental Biology* 2013; 3: 558-561.
116. Karvinen S, Silvennoinen M, Vainio P, Sistonen L, Koch LG, Britton SL, et al. Effects of intrinsic aerobic capacity, aging and voluntary running on skeletal muscle sirtuins and heat shock proteins. *Experimental gerontology* 2016; 79: 46-54.
117. Dudley GA, Abraham WM, Terjung RL. Influence of exercise intensity and duration on biochemical adaptations in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 1982; 53: 844-850.
118. Neuffer PD, Ordway GA, Hand GA, Shelton JM, Richardson JA, Benjamin IJ, Williams RS. Continuous contractile activity induces fiber type specific expression of Hsp-70 in skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 1996; 271: 1828-1837.
119. Skidmore REBECCA, Gutierrez JA, Guerriero V, Kregel KC. Hsp-70 induction during exercise and heat stress in rats: role of internal temperature. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 1995; 268: 92-97.

120. Ornatsky OI, Connor MK, Hood DA. Expression of stress proteins and mitochondrial chaperonins in chronically stimulated skeletal muscle. *Biochemical Journal* 1995; 311: 119-123.
121. Locke MARIUS, Atkinson BG, Tanguay RM, Noble EG. Shifts in type I fiber proportion in rat hindlimb muscle are accompanied by changes in Hsp-72 content. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 1994; 266: 1240-1246.
122. Salo DC, Donovan CM, Davies KJ. Hsp-70 and other possible heat shock or oxidative stress proteins are induced in skeletal muscle, heart, and liver during exercise. *Free Radical Biology and Medicine* 1991; 11: 239-246.
123. Oksala NK, Laaksonen DE, Lappalainen J, Khanna S, Nakao C, Hänninen O, et al. Heat shock protein 60 response to exercise in diabetes: Effects of α -lipoic acid supplementation. *Journal of diabetes and its complications* 2006; 20: 257-261.



8. EKLER

EK-1



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU BAŞKANLIĞI



ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR NO	ÖZÜ
08.01.2014	2014/01	07	Yrd.Doç.Dr. Ragıp PALA

KARAR

"Egzersiz Uygulanan Ratlarda Koenzim Q10'nun Bazı Oksidatif Stres Parametreleri ve Isı Şok Proteinleri Üzerine Etkileri" başlıklı araştırma projenizde 42 Adet wistar albino rat kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı beyan edilmiştir. Bu çerçevede, anılan projenin "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" hükümleri yönünden uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

GÖREVİ	ADI SOYADI	BÖLÜMÜ	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Yesari ERÖKSÜZ	Veteriner Fakültesi	İMZA
Üye	Prof. Dr. Murat ÖGETÜRK	Tıp Fakültesi	İMZA
Üye	Doç. Dr. Sinan CANPOLAT	Veteriner Hekim	İMZA
Üye	Doç. Dr. Azize BEŞTAŞ	Tıp Fakültesi	İMZA
Üye	Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER	Tıp Fakültesi	İMZA
Üye	Doç Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE	Veteriner Fakültesi	İMZA
Üye	Doç Dr. Gaffari TÜRK	Veteriner Fakültesi	İMZA
Üye	Şahin KARA	Sivil Üye	Bulunmadı
Üye	Murat DAĞHAN	Sivil Üye	Bulunmadı

9. ÖZGEÇMİŞ

Elazığ ilinde 1980 tarihinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Elazığ'da tamamladı. 1995–2002 yılları arası amatör olarak kickboks, futbol sporuyla uğraştı. Satranç, futbol, kickboks, hentbol, model uçak belgesine sahiptir. 2007 yılında Fırat Üniversitesi BESYO'dan mezun oldu. 2008 yılında Beden Eğitimi öğretmenliğine atandı ve hâlen göreve devam etmektedir.

Yabancı dili İngilizce olup evli ve üç çocuk babasıdır.

