

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SAĞLIKLI ERİŞKİNLERDE FİZİKSEL AKTİVİTENİN ERİTROSİT
VE PLAZMADAKİ OKSİDAN/ ANTİOKSİDAN PARAMETRELER
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ VE YÜKSEK
ANTİOKSİDAN ÖZELLİĞİ OLDUĞU BİLİNEN NAR SUYUNUN BU
PARAMETRELER ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mehmet ALTUĞ

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. İlker DURAK**

2009- ANKARA

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya Doktora Programı
Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:23/01/2009

Prof. Dr. Kadirhan SUNGUROĞLU
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. İlker DURAK
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Aysel ARICIOĞLU
Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU
Gazi Üniversitesi

Doç. Dr. Aslıhan AVC I
Ankara Üniversitesi
Raportör

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Simgeler ve kısaltmalar	vi
Şekiller	viii
Çizelgeler	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Oksidatif stres	2
1.2. Serbest radikaller	2
1.2.1. Reaktif oksijen radikalleri	3
1.2.1.1. Dioksijen	4
1.2.1.2. Süperoksit	4
1.2.1.3. Hidrojen peroksit	5
1.2.1.4. Hidroksi radikali	5
1.2.2. Reaktif oksijen radikallerinin fizyolojik rolleri (olumlu yönleri)	5
1.2.3. Reaktif oksijen radikallerinin patolojik rolleri (olumsuz yönleri)	6
1.3. Antioksidan savunma mekanizmaları	7
1.3.1. Enzim olan antioksidanlar	8
1.3.1.1. Süperoksit dismutaz	8
1.3.1.2. Katalaz	8
1.3.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), redüktaz ve transferaz	9
1.3.1.4. Sitokrom oksidaz	9
1.3.1.5. Ksantin oksidaz	10
1.3.2. Enzim olmayan antioksidanlar	11
1.3.2.1. E vitamini	11
1.3.2.2. C vitamini	12
1.3.2.3. Retinoid ve karotenoidler	12
1.3.2.4. Glutasyon	12
1.4. Oksidatif stresin belirlenmesi	12
1.5. Egzersiz ve oksidatif stres ilişkisi	13
1.5.1. Egzersizin oksidatif stres ve reaktif oksijen radikali oluşumuna olan etkilerine dair bulgular	13
1.5.2. Egzersiz sonucu oksidatif stres oluşumunun mekanizmaları	14
1.5.3. Egzersize bağlı oksidatif stresin kas performansına olan olumsuz etkileri	16
1.6. Antioksidan desteğinin yararlı etkileri	17
1.7. Nar ve nar suyunun antioksidan özellikleri	17
2. GEREÇ VE YÖNTEM	21
2.1. Denekler	21
2.1.1. Çalışma grubu	21
2.1.2. Kontrol grubu	21
2.2. Kan örneklerinin alınması ve saklanması	21
2.3. Gereçler	22

2.3.1.	Nar suyunun hazırlanması	22
2.3.2.	Cihazlar	22
2.3.3.	Kimyasal maddeler	22
2.4.	Çalışılacak Testler ve Metodları	22
2.4.1.	Temel biyokimyasal parametreler	22
2.4.2.	Malondialdehit (MDA) düzeyinin ölçülmesi	23
2.4.3.	Superoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin ölçümü	24
2.4.4.	Katalaz aktivitesinin ölçümü	26
2.4.5.	Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin ölçümü	26
2.4.6.	Ksantin oksidaz (XO) aktivitesinin ölçümü	27
2.5.	Nar konsantresinin içerik tayini	28
2.6.	İstatistiksel yöntemler	28
3.	BULGULAR	30
3.1.	Profesyonel sporcular ve kontrol grubu bireylerin oksidatif stres belirteçleri açısından karşılaştırması	30
3.2.	Profesyonel sporcuların maç öncesi ve maç sonrası oksidatif stres ve kan biyokimyası parametrelerinin değerlendirilmesi	32
3.3.	Nar suyu verilen profesyonel futbolcuların maç önce ve sonraki oksidatif stres ve kan biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması	34
4	TARTIŞMA	37
5	SONUÇ VE ÖNERİLER	43
	ÖZET	44
	SUMMARY	45
	KAYNAKLAR	46
	ÖZGEÇMİŞ	51

ÖNSÖZ

Tıp Fakültesinde okuduğum yıllardan doktora yaptığım bugünlere kadar her zaman yanımda olan ve beni her şekilde destekleyen Tez Danışmanım ve Kıymetli Hocam Prof. Dr. İlker Durak başta olmak üzere, Ankara Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kadirhan Sungurluoğlu'na, Anabilim dalı öğretim üyelerimizden çok kıymetli Prof. Dr. H.Serdar Öztürk, Prof. Dr. Serenay Elgün Ülkar, Doç. Dr. Aslıhan Avcı, Doç. Dr. Berrin İmge Ergüder ve Doç. Dr. Erdinç Devrim'e ve tez araştırma konum olan nar suyunun elde edilmesinde ve laboratuvar çalışmalarında destek veren A.Ü. Gıda Mühendisliği Öğretim üyelerinden Doç. Dr. Ender S. Poyrazoğlu'na, uzman doktor, tıpta uzmanlık ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma vermiş oldukları destek ve katkılardan dolayı en içten şükranlarımı ve saygılarımı sunuyorum.

Doktora tez çalışmalarımın laboratuvar aşamasında her türlü destek veren laboratuvar çalışanlarına ve anabilim dalımızın değerli diğer emektarlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Eğitimime ve tüm zamanlarda beni her zaman teşvik eden ve her halükarda yanımda olan her türlü saygı ve sevgiye değer olan anneme, babama ve hayat arkadaşıma teşekkür ediyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

A.Ş	Anonim şirketi
ACTH	Adrenokortikotropik hormon
ADP	Adenozin difosfat
ALT	Alanin aminotransferaz
AMP	Adenozin monofosfat
ark	Arkadaşları
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
BUN	Kan üre nitrojeni
⁰ C	Santigrad derece
Ca	Kalsiyum
CAT	Katalaz
CK	Kreatine kinaz
Cl	Klor
Cu	Bakır
ÇDYA	Çoklu doymamış serbest yağ asiti
D	Dansite
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
e ⁻	Elektron
EPR	Elektron Paramagnetik Rezonans
ESR	Elektron spin rezonans
Fe ⁺²	Ferrik demir
Fe ⁺³	Ferröz demir
GPDH	Gliserol 3-fosfat dehidrogenaz
Gr	Gram
GSH	İndirgenmiş glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GSSG	Yükseltgenmiş glutatyon
H	Hidrojen
H ₂ O	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HCl	Hidroklorik asit
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HO ₂ .	Hidroperoksil
HOCl	Hipoklorik asit
IU	İnternasyonal ünite
K	Potasyum
Kg	Kilogram
LDH	Laktat dehidrogenaz
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LOO [·]	Lipid peroksil
LOOH	Lipid peroksit
M	Molar
MDA	Malondialdehid
Mg	Miligram

ml	Mililitre
μ l	Mikrolitre
μ mol	Mikromol
MÖ	Maç öncesi
Na	Sodyum
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NaOH	Sodyum hidroksit
NBT	Nitroblue tetrazolium
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
NO.	Nitrik oksit
NO ₂ .	Nitrojen dioksit
O ₂	Oksijen
O ₂ ⁻ .	Süperoksit
OD	Optik dansite
OH ⁻ .	Hidroksil
ONOO ⁻	Peroksinitrit
P	Fosfor
PUFA	Poliansatüre Yağ Asitleri
Sn	Saniye
SOD	Superoksit dismutaz
St	Saat
TBA	Tiyobarbiturik asit
TCA	Trikloroasetik asit
TEP	Tetraetoksipropan
U	Ünite
Vb	Ve benzeri
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein
XO	Ksantin oksidaz
Zn	Çinko

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Serbest Radikallerin hücre içi kaynakları	3
Şekil 1.2.	Moleküler oksijenden radikallerin oluşumu	4
Şekil 1.3.	HPLC de elde edilen kromatogramlar	19

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Serum antioksidan aktivitesine katkıda bulunan enzim olmayan bileşikler ve fonksiyonları	11
Çizelge 1.2.	Nar Suyunun İçerdiği Antioksidan Değerleri	18
Çizelge 2.1	MDA düzeyi ölçüm yöntemi protokolü	23
Çizelge 2.2	SOD aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü	24
Çizelge 2.3	GSH-Px aktivitesi ölçüm protokolü	26
Çizelge 2.4	XO aktivitesi ölçüm protokolü	27
Çizelge 3.1	Kontrol grubu ve çalışma grubu bireylerin maç öncesi eritrosit içi oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırması	29
Çizelge 3.2	Çalışma grubu ve kontrol gruplarının eritrosit zarı MDA değerlerinin karşılaştırması	29
Çizelge 3.3	Sporcu ve kontrol gruplarının plazma/ serum oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırması	30
Çizelge 3.4	Kontrol grubu ve profesyonel sporcuların maç öncesi kan biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması	31
Çizelge 3.5	Çalışma grubu bireylerin 1. maç öncesi ve sonrası eritrosit içi oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırması	32
Çizelge 3.6	Çalışma grubu bireylerin maç önce sonrası eritrosit zarı MDA değerlerinin karşılaştırması	32
Çizelge 3.7	Çalışma grubu bireylerin maç önce ve sonrası plazma/ serum oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırması	32
Çizelge 3.8	Çalışma grubu bireylerin maç önce ve sonrasında kan biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması	33
Çizelge 3.9	Profesyonel sporcuların nar suyu verildikten sonra maç önce ve sonra eritrosit içi oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırması	34
Çizelge3.10	Profesyonel sporcuların nar suyu verildikten sonra maç önce ve sonra eritrosit zarı oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırması	34
Çizelge3.11	Profesyonel sporcuların nar suyu verildikten sonra maç önce ve sonra plazma/ serum oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırması	34
Çizelge3.12	Profesyonel sporcuların nar suyu verildikten sonra maç önce ve sonrasında kan biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması	35

1. GİRİŞ

Son yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran molekül veya molekül parçacıkları olan serbest radikaller kararsız ve reaktif moleküllerdir, bu özellikleriyle de diğer moleküllere elektron vermeye çalışırlar. Serbest radikaller içinde reaktif oksijen radikalleri, reaktif nitrojen radikalleri, reaktif sülfür radikalleri gibi birçok moleküler aile bulunur. (Sen 2001; Guillard 1989)

Serbest radikallerin (SR) hücre içerisindeki en önemli hedeflerinden biri hücre membranıdır. Bu bölgede oksijen radikallerinin, yapıdaki poliansatüre yağ asitlerini (PUFA) okside etmeleri sonucunda otokatalitik bir reaksiyon zinciri başlar. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksit ve endoperoksitlerin yıkılması sonucu çeşitli ürünler, hidrokarbon radikalleri ve malondialdehit oluşması ile sonlanır (Halliwell 1994; Drapper 1990; Akkuş 1995; Cross 1987).

Vücutta lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan lipid peroksitlerinin ve serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Antioksidan sistemler olarak bilinen bu sistemler hücre içi ve hücre dışı sistemler olarak ikiye ayrılmaktadır. Hücre içi antioksidanlar arasında genellikle enzimler bulunmaktadır. Bunlar arasında süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-PX), katalaz ve glutatyon redüktaz en bilinen enzimlerdir. Hücre dışı sistem ise genellikle enzimatik olmayan sistemlerden oluşmaktadır. Bu sistem vitamin E, vitamin C, β karoten, transferrin, serüloplazmin, albümin, haptoglobülin gibi yapılardan oluşmaktadır (Bast 1991, Drapper 1990, Bates 1997, Loreinco 1999)

Egzersiz sırasında vücudun enerji ihtiyacını karşılamak amacıyla oksijen metabolizması hızlanmaktadır. Buna bağlı olarak mitokondriyal elektron transport zincirinde oluşan kaçaklar egzersize bağlı oksidatif ürünlerin birikiminde ana mekanizma olarak düşünülmektedir. Bunun yanında hücresel pek çok metabolizma yolu da reaktif oksijen ürünlerinin birikimine yol açmaktadır. (Vollard 2005)

Nar suyunda bol miktarda bulunan tanin (punicalin ve punicalagin) ve antosiyaninler gibi polifenolik flavanoid antioksidanlar molar bazda; vitamin C, E, koenzim Q-10 ve alfalipoik asit gibi birçok maddeden daha güçlü bir antioksidan

aktiviteye sahiptir, Aynı zamanda nar suyu diğer tüm meyvelerden ve kırmızı şaraptan daha fazla antioksidan aktiviteye sahiptir (de Nigris 2006). Nar suyundaki antioksidan maddelerin sadece in vitro ortamda değil aynı zamanda in vivo ortamda da olumlu antioksidan özellikleri gösterilmiştir (Faria 2007)

Bu çalışmada yoğun bir şekilde egzersiz yapan sporcu grubunda, egzersize bağlı oluşan oksidasyon ürünlerinin tespiti ve verilen Nar Suyunun antioksidan etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

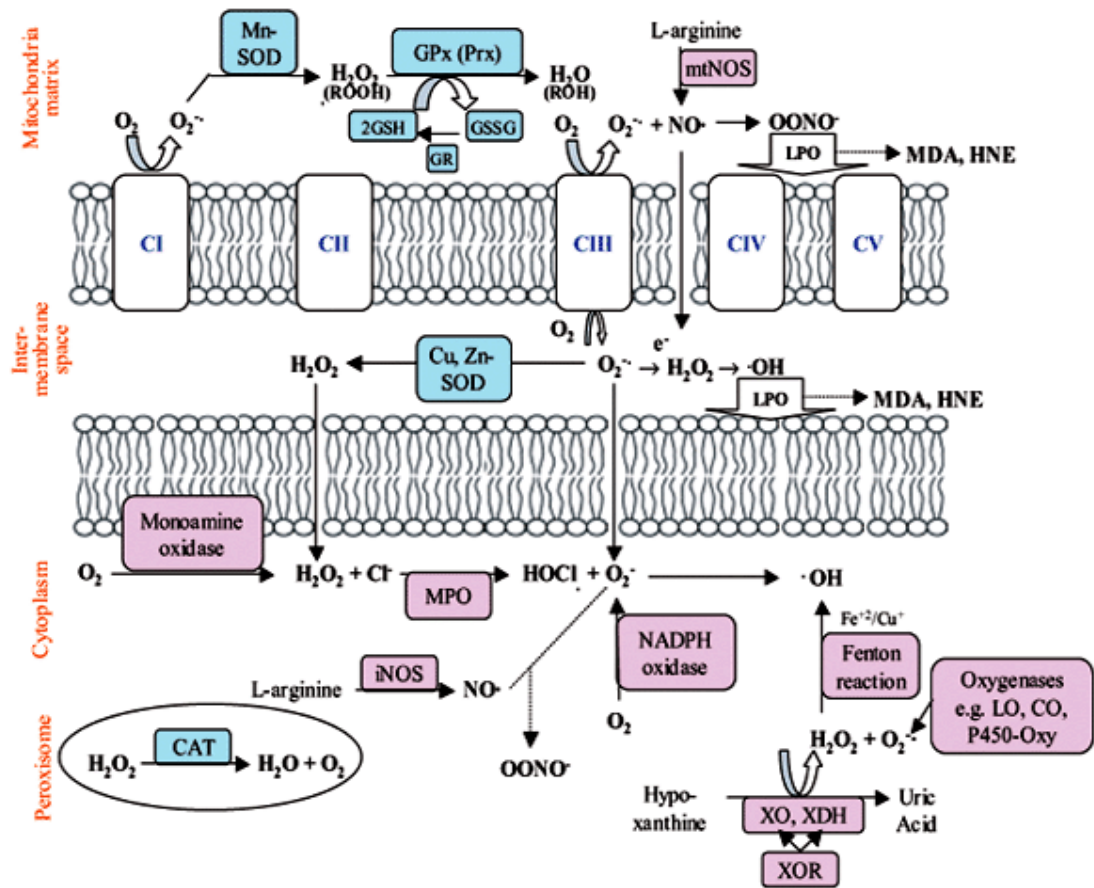
1.1.Oksidatif stres

Oksidatif stres organizmada oksidan-antioksidan dengesinin oksidan lehine bozulması olarak tanımlanır. Bu durum fizyolojik bir gereksinim şeklinde olabileceği gibi patolojik bir süreç şeklinde de olabilir.

1.2. Serbest radikaller

Serbest radikaller son yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran molekül veya molekül parçacıklarıdır (Jenkins 1988; Cheeseman 1993). Serbest radikaller oldukça kararsız ve reaktif moleküllerdir, bu nedenle diğer moleküllere elektron vermeye çalışırlar (oksidasyon) (Sen 2001). Yarı ömürleri mili veya nanosaniye gibi oldukça kısadır. Diğer radikal veya moleküllerle etkileşerek yeni radikaller oluşturabilirler (Sen 2001). Serbest radikal içinde reaktif oksijen radikalleri, reaktif nitrojen radikalleri, reaktif sülfür radikalleri gibi birçok aile bulunur. Serbest radikaller yüksek enerji transferi gerektiren üç grup tepkime sonucunda üretilirler (Akkuş 1995).

1. Bir moleküle elektron eklenmesi ile: $(A+e^{-} \rightarrow A^{-})$
2. Bir molekülden tek bir elektron kaybı veya bir molekülün kovalent bağındaki iki elektronun bir atomda kalacak şekilde heterolitik bölünmesi ile:
 $(A \rightarrow A^{+}+e^{-})$ veya $A^{-}B \rightarrow A^{-}+B^{+}$
3. Bir molekülün kovalent bağının homolitik bölünmesi ile: $(A^{-}B \rightarrow A^{-}+B^{-})$



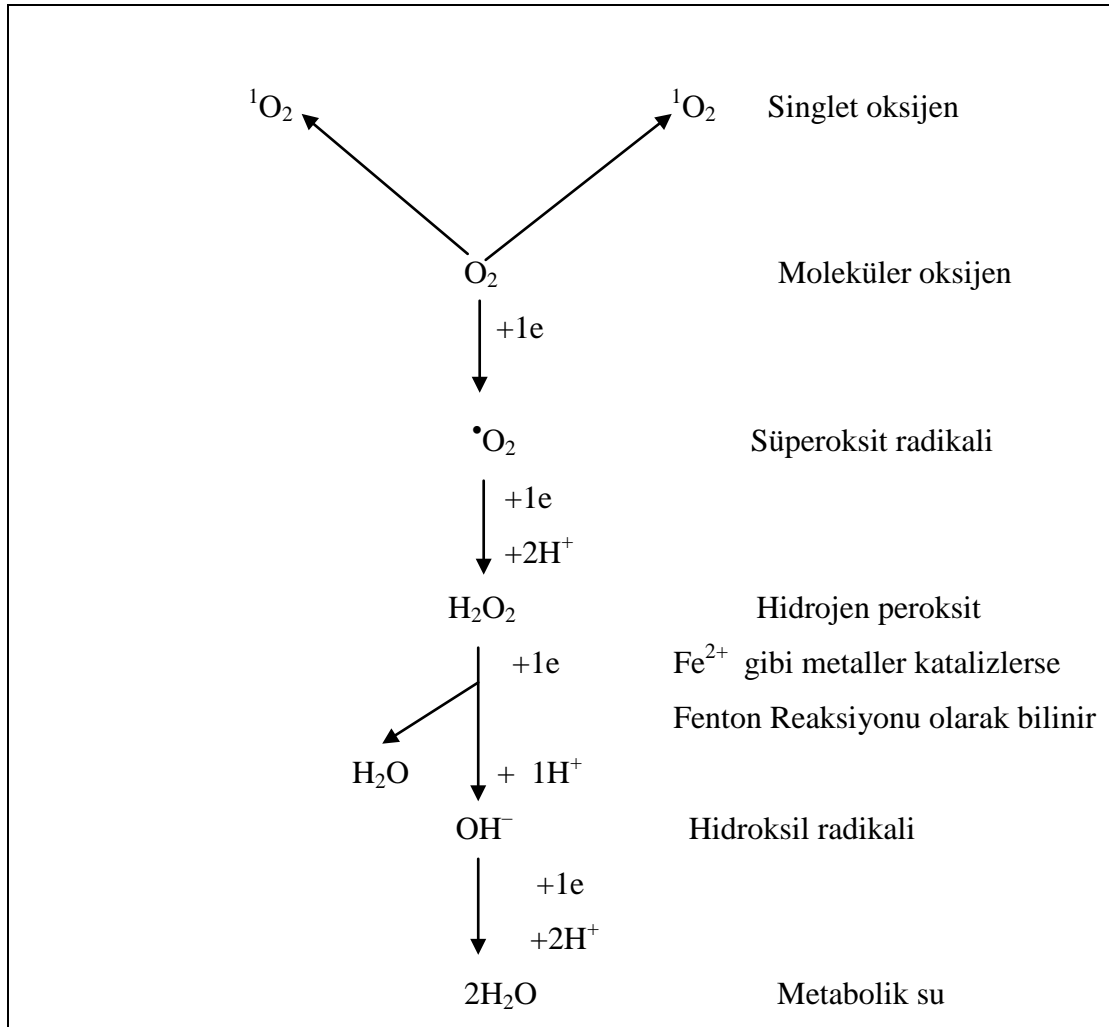
Şekil 1.1.:Serbest Radikallerin hücre içi kaynakları (Michele 2005)

1.2.1. Reaktif oksijen radikalleri

Reaktif radikallerden fizyolojik olaylarda ve oksidatif strese en fazla rol alan reaktif oksijen radikalleridir. Bu grupta süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil (OH^{\cdot}), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet O_2 , hipoklorik asit ($HOCl$), peroksinitrit ($ONOO^-$), hidroperoksil (HO_2^{\cdot}), lipid peroksit ($LOOH$), nitrik oksit (NO) ve nitrojen dioksit (NO_2) bulunmaktadır (McCord 2000).

1.2.1.1. Dioksijen

Oksijen metabolizması sırasında dioksijen 1 elektron alır ve süperoksit iyonuna dönüşür ($O_2 \cdot^-$) (Sen 2001).



Şekil 1.2. Moleküler oksijenden radikallerin oluşumu (Halliwell 1990)

1.2.1.2. Süperoksit

Süperoksit, dioksijene bir elektron eklenmesi ile oluşur. ($O_2 + e^- \rightarrow O_2 \cdot^-$)

1.2.1.3. Hidrojen peroksit

Hidrojen peroksit, superoksit dismutaz (SOD) enzimi ile süperoksitten üretilir. ($2 O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektronu olmadığından bir serbest radikal değildir ancak serbest oksijen radikali üretme potansiyeli nedeniyle serbest radikal kabul edilir. Lökositlerde myeloperoksidaz aracılığıyla oldukça güçlü bir oksidan olan hipoklorik asite (HOCl) çevrilir (McCord 2000).

1.2.1.4. Hidroksil radikali

Hidroksil radikali;

Haber-Weiss: ($H_2O_2 + O_2^{\cdot-} \rightarrow OH^{\cdot} + OH^- + O_2$) ($O_2^{\cdot-}$ varlığında) veya

Fenton: ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\cdot} + OH^-$) (Fe^{+2} veya geçiş metalleri varlığında) reaksiyonları sonucu peroksitten üretilir. Spesifik antioksidanı yoktur ve her tür organik maddeyi oksitleyebilir (Benzie 2000).

1.2.2 Reaktif oksijen radikallerinin fizyolojik rolleri (olumlu yönleri)

Reaktif oksijen radikallerinin vücutta bulunması hayati öneme sahiptir. Reaktif oksijen türleri immün sistemde antijenlerin ortadan kaldırılmasında özellikle de fagositozda önem taşırlar (Hampton 1998). Reaktif oksijen radikalleri hücrel haberciler olarak veya redoks durumu üzerinden hücrel sinyallerin iletimi veya hücrelerin biyogenezinde rol alırlar (Sen 2001). Aynı zamanda detoksifikasyon ve glikojen depolanmasında enzim aktivasyonunda rol alır (Jenkins 1988). Kas kasılmasında önemli rol üstlenir (Andrade 1998; Reid 2001). Reaktif oksijen yapımının inhibe edilmesi kas liflerinin kontraktıl gücünde kayba, tersine artırılması kontraktıl güçte artışa neden olmaktadır (Andrade 1998; Coombes 2001; Reid 2001).

1.2.3. Reaktif oksijen radikallerinin patolojik rolleri (olumsuz yönleri)

Reaktif oksijen türlerinin artışı sağlıklı hücrelerde apoptoza, hücresel işlevlerde bozukluklara ve inflamasyona neden olabilir. Bu olumsuz yönleri ateroskleroz, Alzheimer, Parkinson gibi dejeneratif hastalıklara ve romatolojik hastalıklara neden olabilmektedir (Golden 2002).

Serbest radikallerin doku ve hücredeki hasarları şu şekilde sıralanabilir:

1. DNA Hasarı
2. Nükleotid yapıdaki enzimlerin yıkımı
3. Protein ve lipidlerle kovalent bağlanma
4. Enzim inaktivasyonu
5. Proteinlerin oksidatif hasara uğraması
6. Lipid peroksidasyonu
7. Zar yapılarının ve fonksiyonlarının etkilenmesi
8. Yaşlılık pigmentlerinin birikimi
9. Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü yapılardaki oksidasyon ve redüksiyon olaylarının bozularak damarlarda aterofibrotik değişikliklerin oluşumu
10. Zar proteinlerinin hasarı ve transport sistemlerinin bozulması (Lorencio 1999, Gutteridge 1990, Stocks 1971, Stocks 1972, Collier 1992)

Reaktif radikallere bağlı hasar lipid, protein ve DNA oksidasyonu yolu ile oluşur. Reaktif oksijen radikalleri özellikle düşük dansiteli lipoprotein (LDL) olmak üzere lipoprotein oksidasyonuna neden olabilirler (Morel 1983). Bu tür oksidasyon kanın antioksidan kapasitesine bağlıdır ve oksidatif streste artmayla birlikte lipoprotein oksidasyonu da artar (Terentis 2002). Reaktif oksijen radikalleri aynı zamanda çoklu doymamış serbest yağ asitlerinin (ÇDYA) oksidasyonunu da yapabilir (Cooper 2002; Finaud 2006). Bu reaksiyon sonucu karbon merkezli lipid radikali (L[•]) oluşur. Buna bir O₂ molekülü katılarak lipid peroksil (LOO[•]) meydana gelir. Lipid proksilde diğer bir ÇDYA' den hidrojen alıp lipid hidroperoksite

(LOOH) dönüşürken yeni lipid radikali oluşur. Lipid peroksilin yıkımı ile lipid peroksidasyonunun son ürünleri olan konjuge dienler ve malondialdehid (MDA) ortaya çıkar (Esrebauer 1993; Young 2001). Lipid peroksidasyonu hücre zarının geçirgenliğini arttırarak hücre içi sıvı protein ve enzimlerin hücre dışına çıkmasına, mitokondrial işlev bozukluklarına ve endoplazmik retikulumdan kalsiyum transportunda bozulmalara neden olur (Jenkins 1988; Jackson 1993).

Proteinler oksidasyona uğradıklarında fragmente olarak aminoasitlerini kaybederler. Bunun sonucunda yapısal proteinlerde ki oksidasyon hücre bütünlüğünde bozulmalara, enzimatik proteinlerdeki oksidasyon enzimatik işlev bozukluklarına neden olur (Radak 1999).

DNA (deoksiribonükleik asit)' nın tüm yapısal elemanları oksidatif hasara hassastır (Dizdaroglu 2002). Reaktif oksijen radikalleri tarafından DNA' nın oksidasyonu DNA zincirinde kırılmalara ve DNA tamirinde bozulmalara yol açarak mutagenezi arttırabilir, kanser gelişimine ve hücre yaşlanmasına neden olabilir (Radak 1999; Kasai 2002; Wallace 2002).

1.3 Antioksidan savunma mekanizmaları

Vücutta bulunan lipid, DNA, protein, karbonhidrat gibi bileşikleri oksidatif stresten koruyan maddelere antioksidan denir (Dekkers 1996; Benzie 2000). Antioksidanlar; serbest radikal oluşturan tepkimeleri sonlandırarak, radikal oluşumunu sınırlandırarak, ortaya çıkan radikalleri detoksifiye ederek veya oksidatif hasara maruz kalmış maddelerin onarımını sağlayarak etki gösterirler (Benzie 2000). Vücutta enzimatik (endojen) ve enzimatik olmayan (başlıca besinsel vitamin ve mikronürientler) olmak üzere birçok antioksidan görev yapmaktadır. Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon transferaz, sitokrom oksidazlardan oluşur. Enzim yapısında olmayan antioksidanlar; E vitamini (tokoferol), vitamin C (askorbik asit), vitamin A (retinol), flavonoidler, tioller (glutatyon), ubikinon, melatonin, ürik asittir. Bilirubin, ferritin, seruloplazmin, albumin, demir, çinko, bakır, selenyum, manganer indirek antioksidan özellik gösterirler (Yalçın 1998; Fang 2002). Antioksidan sistemlerin etkinliği endojen antioksidan enzim yapımının miktarına ve besinsel alıma bağlıdır.

Bu nedenle antioksidan etkinlik egzersiz, beslenme, yaşlılık gibi faktörlerden etkilenir (Dekkers 1996; Fang 2002).

1.3.1. Enzim olan antioksidanlar

1.3.1.1. Süperoksit dismutaz

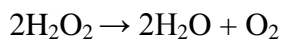
Süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit radikallerinden korunmada ana mekanizmadır ve oksidatif strese karşı savunmanın ilk basamağını oluşturur. SOD enzimi süperoksit anyonunun H_2O_2 ve moleküler oksijene çevrildiği reaksiyonu katalizler:



İnsanlarda 2 izoenzimi bulunur. Bakır-çinko içeren SOD sitozolde, mangan içeren SOD mitokondride görev yapar (McCord 2000; Powers 2000). Kas hücrelerinde SOD aktivitesinin %65-85' i sitozolde bulunmaktadır (Powers 2000).

1.3.1.2. Katalaz (CAT)

Hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene dönüştüren reaksiyonu katalizler:

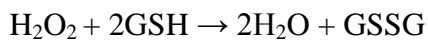


Katalaz organizmada tüm hücrelerde özellikle peroksizomlarda bulunur (Akkuş 1995; McCord 2000). Katalaz (H_2O_2 : H_2O_2 oksido-redüktaz) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Granülomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevi de görür. Hidrojen

peroksidi (H_2O_2) ortadan kaldırarak hidroksil serbest radikali (OH^\bullet) oluşumunu önler. (Altınışik 2008)

1.3.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), redüktaz ve transferaz

Glutasyon peroksidaz, H_2O_2 ve lipid peroksitlerin detoksifikasyonunda görev alır. İndirgenmiş glutatyonla ihtiyaç duyar. Peroksitten su oluşumunu sağlayan tepkimeyi katalize eder:



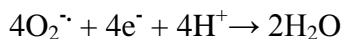
H_2O_2 ' nun düşük konsantrasyonlarında katalaz, yüksek konsantrasyonlarında glutasyon peroksidaz daha aktiftir (McCord 2000). Glutasyon redüktaz esas olarak glutasyon peroksidaz katalizasyonu sonucu oluşan okside glutatyonun indirgenmesi reaksiyonunu katalizler:



Glutasyon transferaz araşidonik ve linoleik asit hidroperoksitleri başta olmak üzere lipid peroksitlerin detoksifikasyonunda görev alır (McCord 2000).

1.3.1.4. Sitokrom oksidaz

Mitokondride elektron taşıma zincirinde son basamakta yer alır ve süperoksit anyonunun suya dönüştürüldüğü reaksiyonu katalizler (McCord 2000):



Mitokondriyal sitokrom oksidaz, solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi detoksifiye eder. Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyondur, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit üretimi

mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin zararlı etkilerine engel olur. (Altınışık 2008)

1.3.1.5. Ksantin oksidaz

Süperoksit anyon radikalinin en önemli enzimatik kaynaklarından birisi ksantin oksidazdır (XO). Bu enzim tüm çekirdekli hücrelerde yer alan metaloflavoproteindir ve pürin nükleotidin metabolizmasında hız kısıtlayıcı enzim olarak hipoksantin ve ksantin ürik aside çevrilmesi reaksiyonunu katalizler. Bu durumda, O_2^- üreten enzimin aktivitesi ksantin dehidrojenazın XO' ya proteolitik dönüşümüyle çok yüksek miktarlarda O_2^- üretebilir (Krenitsky 1986).

Birçok enzimin katalitik döngüsü sırasında da serbest radikaller ortaya çıkar. Bu enzimlerden biri ksantin oksidazdır. Ksantin oksidaz hasarlanmamış dokularda bir dehidrojenaz olarak vardır, pürinlerin yıkım yolunda hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu basamaklarında elektron akseptörü olarak moleküler oksijenden (O_2) çok NAD^+ kullanır. Oksijensizliğe bağlı olarak ADP' nin ATP' ye fosforilasyonunun azaldığı durumlarda (iskemi durumlarında) ADP yıkılır ve pürin bazı, ksantin oksidazın bir oksidaz olarak etkili olmasıyla hipoksantine dönüştürülür. Ksantin oksidazın, oksidaz olarak aktivite göstermesi durumunda hipoksantin ksantine ve ksantin ürik aside dönüşürken moleküler oksijen kullanılmakta, moleküler oksijen hidrojen peroksit indirgenmektedir. Yoğun fiziksel egzersizin ürik asit konsantrasyonlarını arttırdığı bilinmektedir. Artan ürik asit kaslara difüze olarak kası oksidasyon hasarından korur. Serum ve kaslardaki ürik asit; singlet oksijen, HOCl, peroksi radikali ve peroksi nitrit ve ozon üzerine direk antioksidan etki gösterir. Bazı durumlarda plazmanın antioksidan kapasitesinin %50' den fazlasını oluşturur (Jenkins 2000).

İskemi durumlarında oksijen seviyesi düşük olduğundan önemli hasar olmaz. Ancak oksijen seviyesi reperfüzyon sırasında normale dönünce iskemi yerinde ksantin oksidaz etkisiyle fazla miktarda hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit radikali oluşur, bunların etkisiyle de iskemi/ reperfüzyon hasarı denen durum ortaya

çıkar. Ksantin oksidazın özellikle intestinal mukoza hücrelerinde görülen iskemi/reperfüzyon hasarında önemli faktör olduğu düşünülmektedir.

1.3.2. Enzim olmayan antioksidanlar

Çizelge 1.1. Serum antioksidan aktivitesine katkıda bulunan enzim olmayan bileşikler ve fonksiyonları (Mccord 1993)

Askorbik asit	$\cdot\text{O}_2$ ve $\text{OH}\cdot$ in direkt yakalayıcısı
Haptoglobülin	Serbest hemoglobini bağlar
Hemopeksin	Serbest Hem'i bağlar.
Transferrin	Demir iyonlarını bağlayarak serbest radikal oluşumunu önler.
Ürik asit	Radikal yakalayıcı ve lipid peroksidasyonu inhibitörü
α tokoferol	Zincir kırıcı olarak peroksi ve alkoksi radikallerini engeller
Glukoz	$\text{OH}\cdot$ radikali yakalayıcısı
Bilirübin	Albümine bağlanarak yağ asitlerini peroksidasyondan korur.
Albümin	Cu^{+2} gibi geçiş metallerini bağlar
Serüloplazmin	Demirin transferrine bağlanmasını kolaylaştırır. Aynı zamanda ekstrasellüler SOD gibi davranarak etki gösterir.

1.3.2.1. E vitamini

E vitamini yağda çözünen en güçlü antioksidandır. Hücrelerde oldukça bol miktarda bulunur ve lipid peroksidasyonunu durdurur. Çoklu doymamış yağ asitlerinden lipid hidroperoksitlerin oluşumunu önler ve bu nedenle zincir kırıcı antioksidan özelliğindedir (Evans 2000). HDL, VLDL ve LDL yapısında bulunarak LDL oksidasyonunu önler (Muntenau 2004).

1.3.2.2. C vitamini

Suda çözünür yapısı nedeniyle olasılıkla ekstraselüler sıvıların en önemli antioksidanıdır. Sıvılarda hidroksit, süperoksit, yağ asidi peroksi radikalleri, alkoksi radikallerini nötralize etme yeteneğine sahiptir. Vitamin E ve GSH' nın rejenerasyonunu sağlar (Carr 1999).

1.3.2.3. Retinoid ve karotenoidler

Lipidlerin ve hücre zarlarının yapısında yer alır. Flavin ve porfirinlerin zararlı etkilerini önlemede singlet oksijeni baskılamada, peroksit radikallerini önlemede görev alır (Fang 2002).

1.3.2.4. Glutatyon

Hem endojen hem de eksojen bir antioksidandır. Glutatyon, glutatyon peroksidazın katalize ettiği tepkime ile reaktif radikallere karşı korur. Aynı zamanda direk antioksidan özellikleri vardır, vitamin E ve C' nin işlevsel antioksidan kapasitesini artırır (Fang 2002).

1.4 Oksidatif stresin belirlenmesi

Serbest radikallerin aktivitesinin belirlenmesine yönelik metodların kendine göre avantaj ve dezavantajları bulunur ve altın standart bir metod belirlenmemiştir (Asami 1997; Finaud 2006). İki ana grup metod benimsenmiştir:

1. Serbest radikal aktivitesini dolaylı olarak gösteren testler: lipid, protein ve DNA oksidasyon ürünlerinin ölçülmesi
2. Serbest radikal aktivitesini direk gösteren testler: elektron spin rezonans (ESR) çalışmaları

Bu metodlardan en sık kullanılanı indirek yöntemlerdir, indirek yöntemlerden de en sık tercih edileni lipid peroksidasyon ürünleridir.

Lipid peroksidasyonunu belirlemede; oksidasyonun birincil ürünleri olan konjuge dienler ve lipid hidroperoksinin ölçümü yapılabilir. İkincil ürünler olan MDA, hexan, pentan ve etan gazı ölçümü reaktif radikal aktivitesini gösterebilir. MDA ölçümü en fazla kabul gören oksidatif stres belirteçidir ancak sekonder ürün olduğundan sonuçları dikkatle değerlendirmek gerekir (Jenkins 2000; Groussard 2003). Bazı çalışmalar egzersize bağlı oksidatif stres değerlendirmede MDA' nın uygun olmadığını göstermiştir (Groussard 2003).

Lipid peroksidasyonu hücrel membran hasarına neden olduğundan CK ve myoglobin dolaylı oksidatif stres markeri olarak kullanılabilir ancak egzersiz durumunda alınacak muhtelif travmalara bağlı olarak spesifitesi düşüktür (Finaud 2006)

1.5. Egzersiz ve oksidatif stres ilişkisi

1.5.1. Egzersizin oksidatif stres ve reaktif oksijen radikali oluşumuna olan etkilerine dair bulgular

1982 de Davies ve arkadaşları treadmill koşu yapan ratların kas homojenatında elektron paramagnetik rezonans ölçümüyle serbest oksijen radikali artışını gösterdiler (Davies 1982). Bu çalışmada serbest radikal türü semikinon olarak bulundu. Aynı çalışmada E vitamini eksikliğinin tek başına veya egzersizle birlikte serbest radikal oluşumuna ve lipid peroksidasyonu gibi bazı hücrel metabolik bozuklukların gelişimine neden olduğu gösterildi. Benzer nitelikteki diğer bir çalışmada yoğun egzersiz yaptırılan genç ve yaşlı ratların iskelet kasında ve yaşlı ratların kalp kasında reaktif oksijen radikali oluşumunun belirgin arttığı gösterildi (Bejma 1999). İn vitro ortamda elektriki uyarılan iskelet kasında elektron paramagnetik rezonans sinyallerinde %70 artış olduğu gösterildi (Jackson 1985). O'Neil ve arkadaşları egzersiz yoğunluğuyla orantılı olarak hidroksi radikali artışı olduğunu gösterdi (O'Neill 1996).

Bu in vivo ve invitro deneyler egzersizin iskelet kasında ve myokardda reaktif oksijen radikali oluşumuna neden olabileceği yönünde yeterli kanıt vermesine rağmen çalışmalarda bazı metodolojik sorunlar mevcuttur. Reaktif oksijen radikali

oluşumu kas aktivitesi durduktan 1-2 dakika sonra kesilmektedir (O'Neill 1996). Bu nedenle in vivo çalışmalarda doku hemojenatı yapılarına kadar geçen sürede reaktif oksijen radikali yapımı durduğundan egzersiz anında üretilen reaktif oksijen radikali tam olarak belirlenememektedir. Yine bu çalışmalarda antioksidan sistemler inhibe edilmediğinden antioksidan faktörler reaktif oksijen radikali ölçümünü aksi yönde etkileyebilmektedir. Bahsedilen bu iki faktör nedeniyle reaktif oksijen radikali ölçümünün yapıldığı in vivo çalışmalar gerçekte olan yapımdan daha düşük bir sonuç veriyor olabilir. Reaktif oksijen radikali oluşumunu inceleyen in vitro çalışmalar ise suni ortamda yapıldığından vücudun normal egzersiz durumunu tam olarak yansıtmayabilir (Ji 1999).

1.5.2. Egzersiz sonucu oksidatif stres oluşumunun mekanizmaları

Egzersizle oksidatif stres oluştuğu yönünde ciddi bulgular olmasına rağmen egzersizle serbest radikal oluşumunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Serbest radikal artışında bir veya birden fazla mekanizmanın bir arada çalışması rol oynuyor olabilir. Egzersiz bilimciler egzersiz ve dinlenme sırasında serbest radikal oluşumundaki en önemli mekanizmanın mitokondri iç membranında solunum zincirindeki kaçağa bağlı olduğunu düşünmektedir. Solunum zincirini oluşturan dört enzim kompleksindeki birçok redoks merkezi moleküler oksijen tarafından kolayca oksitlenebilmekte ve superoksit radikali oluşabilmektedir. Mitokondri solunum zincirinde oksijenin tamamı yakını kompleks 4 sitokrom c oksidaz tarafından kullanılmaktadır. Ancak kompleks 4' ün redoks kimyası süperoksit kaçağına neden olmamaktadır. Ancak kompleks 2 ve 3' ün elektron alıcıları tarafından elektron transferinin uyumsuzluğu istirahat koşullarında kullanılan toplam oksijenin %2'sinin süperoksit radikaline dönüşmesine neden olabilmektedir (Boveris 1972; Boveris 1973). Bu bulgu nedeniyle egzersiz sırasında aktif kaslarda oksijen kullanımı istirahat koşullarına göre 100 kata kadar artabileceğinden reaktif oksijen radikali oluşumunun da artması beklenen bir sonuçtur. Bunun yanında in vitro çalışmalarda radikal kaçağının egzersiz sırasında azalabildiği yönünde de bulgular vardır (Boveris 1973; Herrero 1997). Mitokondrial sitozolik oksijen düzeyinin egzersiz yoğunluğundan bağımsız bir şekilde sabit kalması egzersize bağlı serbest radikal

artışına neden olabilir. Bunu destekler nitelikte deliller hipoksik koşullarda oksidatif stres artışı gözleminde gelmektedir (Bailey 2001). Buna rağmen mitokondrial oksijenin azalmasının serbest radikal artışına neden olabileceğini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

Serbest radikal artışının olası diğer bir mekanizması da solunum siklusunda rol alan kompleksler haricindeki mitokondrial enzimlerdir. Hayvan deneylerinde mitokondri membranına bağlı gliserol 3-fosfat dehidrogenaz (mGPDH) ın membran komplekslerinden daha fazla serbest radikal oluşumuna neden olabileceği ileri sürülmüştür (Drahota 2002; Miwa 2003). Bu enzim sitozolik GPDH ile beraber NAD'nin indirgenmiş formunun mitokondriye transportundan sorumludur. mGPDH'nin aktivitesi fiziksel aktivite ile artmaktadır ve artmış mGPDH aktivitesinin artan hidrojen peroksit üretimine neden olduğu gösterilmiştir (Jesina 2004). Ancak mGDPH enziminin insanlarda egzersize bağlı artan serbest radikal üretimine neden olduğunu gösteren çalışma bulunmamaktadır.

Egzersizle ilişkili oksidatif stresin diğer bir olası mekanizması iskemi reperfüzyon hasarındaki mekanizma ile açıklanabilir. Yoğun egzersizde kasların kan ihtiyacını karşılamak amacıyla kan dolaşımında meydana gelen değişiklikler birçok organda geçici doku hipoksisine neden olur. Ayrıca yoğun egzersizde kasın ihtiyacı eğer karşılanamazsa kas liflerinde de göreceli hipoksi meydana gelebilir (Packer 1997). İskemik durumlarda ksantin dehidrogenaz kalsiyum aracılıklı proteazlar tarafından ksantin oksidaza dönüştürülür. Egzersiz sonrası istirahatte hipoksik dokuların reoksijenizasyonu ile hipoksantin ksantine ve sonrasında ürate dönüşümü sırasında yan ürün olarak süperoksit meydana gelir. Egzersiz sonrasında plazma ksantin oksidaz düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (Hellsten 1996; Hellsten 1997). Bunu destekler nitelikte egzersiz sonrasında kan hipoksantin, ksantin ve ürat düzeyleri artmakta (Bangsbo 1992; Vina 2000) ve allopürinol ile ksantin oksidazın inhibisyonu ksantin oksidazın egzersiz sonrasında artmış oksidatif strese neden olduğunu göstermektedir (Vina 2000). Bu mekanizma iskelet kası haricinde de egzersiz sonrası oluşan oksidatif stresi açıklamasına rağmen egzersiz sürecinde oluşan oksidatif stresi açıklamaktan yoksun görünmektedir (Vollaard 2005).

Serbest radikaller hücre hasarı yapmalarına rağmen egzersizle oluşan hücre hasarı da serbest radikal artışına neden olabilir. Egzersiz metabolik ve mekanik yollarla hücre

hasarına neden olabilir (Pyne 1994). Sonuç olarak egzersize yanıt olarak tetiklenen inflamatuvar cevap nedeniyle etkilenen dokuların nötrofiller ve diğer fagositik hücrelerle infiltrasyonu gelişir. Bunu takip eden solunumsal yangı süperoksit, hidrojen peroksit ve diğer radikallerin oluşumuna sebep olur. Nötrofillerde bulunan myeloperoksidaz ve demir içeren enzimler hidrojen peroksiti potent bir oksidan olan hipoklorik aside çevirir. Oluşan nötrofil aktivasyonu saatlerden günlere kadar değişen sürelerde kalıcı olabilir. Bu aktive olan hücreler süperoksit, hidrojen peroksit gibi oksidatif enzimlerle hasarlı dokuları ortadan kaldırmaya çalışır. Nötrofil sayısı ve aktivitesinin egzersiz sonrasında belirgin arttığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Pyne 1994; Vollaard 2005).

1.5.3. Egzersize bağlı oksidatif stresin kas performansına olan olumsuz etkileri

Kas kontraksiyonu için minimal düzeyde reaktif oksijen radikaline ihtiyaç vardır (Andrade 1998; Coombes 2001; Reid 2001). Bunun yanında kasta artmış olan reaktif oksijen radikali kontraksiyonda zayıflamaya ve egzersiz sonrası kaslarda hasara ve ağrıya neden olur (Reid 1992; Jackson 1993; McArdle 2001; Cooper 2002). Reaktif oksijen radikali konsantrasyonunun artma miktarı ve süresi ile orantılı olarak kas kuvveti azalması ve kas yorgunluğu ortaya çıkar (Coombes 2002; Finaud 2006). Mitokondri reaktif oksijen radikallerinin etkilerine hassas olduğundan artmış oksijen radikali konsantrasyonu mitokondrial ATP sentezini bozar ve aerobik enerji üretim yollarının yerine anaerobik yollara doğru kaymaya neden olur. Anaerobik enerji üretimi asidoza ve inorganik fosfor artışına neden olarak kas yorgunluğuna neden olur (Reid 1992).

Hücrenin redoks durumu aktin ve myozin gibi kontraktıl proteinlerin ve hücrel kalsiyum pompasının çalışmasında önem taşır. Bu nedenle reaktif oksijen radikali konsantrasyonu arttığında hücrel redoks durumu değişir ve kontraktıl proteinlerin fonksiyonu ve kas kontraksiyonunun kalsiyum aracılıklı düzenlenmesinde bozukluklar oluşur (Evans 2000). Hücrel aksiyon potansiyeli de reaktif oksijen radikali artışından etkilenir (Finaud 2006). Nitrik oksidin kas ağrısına bağlı kas kuvvet kaybına neden olduğu gösterilmiştir (Radak 1999). Nitrik oksit membran potansiyelinde hiperpolarizasyona ve kalsiyum ATPazı inhibe ederek

kontraktil proteinlerde disfonksiyona neden olabilir (Radak 1999). Tüm bu bahsi geçen mekanizmalar aracılığı ile egzersize bağlı oksidatif stres kasta kuvvet kaybı ve güçsüzlüğe neden olabilir.

1.6. Antioksidan desteğinin yararlı etkileri

Antioksidan desteğinin egzersiz üzerine olan olumlu etkilerine yönelik çalışmalar tartışmalı sonuçlar vermiştir. Bunun başlıca nedeni antioksidan maddelerin türleri ve miktarıdır. Yanı sıra sporcuların egzersiz ve antrenman düzeyleri, fiziksel aktivite türü, yaş ve beslenme durumu gibi faktörlerde çalışma sonuçlarını etkileyebilmektedir (Goldfarb 1999; Clarkson 2000). Teorik olarak antioksidanların egzersize bağlı reaktif radikalleri nötralize ederek faydalı etkiler göstermesi beklenir. Ancak çalışmaların büyük bir çoğunluğunda antioksidan desteğinin egzersiz performansı ve fiziksel kapasiteyi etkilemediği görülmüştür (Clarkson 2000; Evans 2000; Laursen 2001). Bazı çalışmalarda tek tip yerine çoklu antioksidan desteğinin daha iyi sonuçlar verdiği ileri sürülmüştür (Schroder 2000; Margaritis 2003; Palazzetti 2004). Çalışmaların çoğu antioksidan eksikliği bulunmayan atletlerin performansında antioksidan eklenmesinin fayda sağlamadığını göstermiştir (Clarkson 2000). Öte yandan egzersizle oluşan serbest radikale bağlı hasarın önlenmesi ve optimum sağlık koşulları için antioksidan gereklidir. Ancak normal diyet her zaman antioksidan gereksinimi açısından yeterli değildir (Guilland 1989; Schroder 2000). Bu nedenle bazı çalışmalarda antioksidan desteğinin özellikle yüksek performans isteyen atletlerde yararlı olabileceği ileri sürülmüştür (Margaritis 2003; Palazzetti 2004). Mega dozda kullanıldıklarında antioksidanlar prooksidan etki göstererek serbest radikal oluşumunu arttırabilir, bu durum vitamin C ve karoten için gösterilmiştir (Childs 2001; Laursen 2001).

1.7. Nar ve nar suyunun antioksidan özellikleri

Nar (*Punica granatum*) Akdeniz ve Ortadoğu'da ki toplumların geleneksel tedavilerinde yüzyıllardır kullanılagelmiştir (Gurib-Fakim 2006). Narın toplam ağırlığının yaklaşık %52'si yenilebilir kısmı olan meyve ağırlığı olup bunun %78'i nar suyundan %22'si çekirdek kısmından oluşmaktadır. Saf nar suyu antioksidan

aktiviteye sahip olan vitamin C ile antosiyaninler, punikalajin, ellajik ve gallik asit gibi polifenolik bileşikler içermektedir. Nar günümüzde anti-kanser, antiproliferatif, apoptotik, anti-inflamatuar (Seeram 2005; Lansky 2007), HIV-I inhibitör, mikrobisit (Neurath 2004), kardioprotektif (Sumner 2005), lipid düşürücü ve lipid oksidasyonunu önleyici (Rosenblat 2006) olumlu etkilere sahiptir.

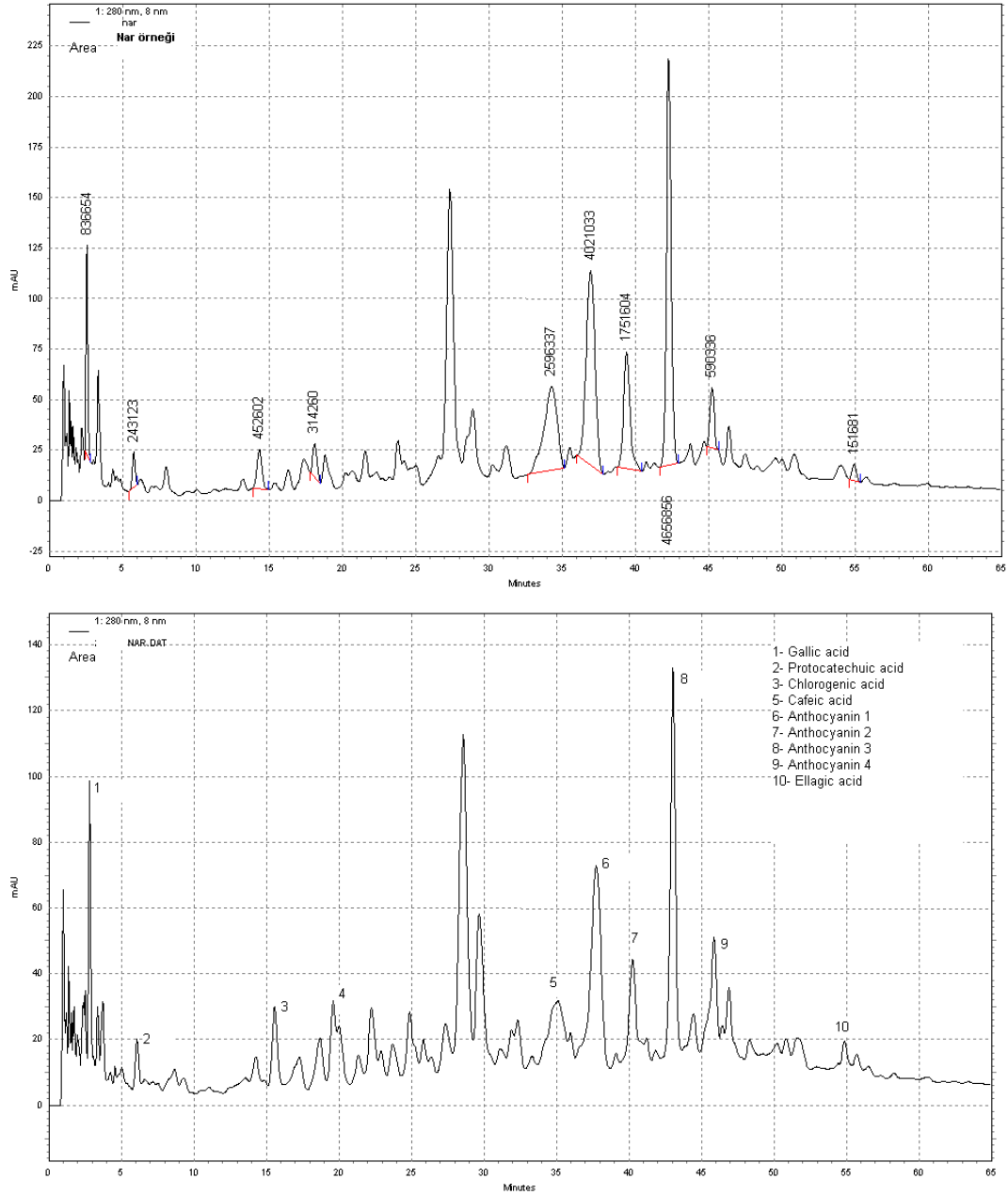
Birçok araştırmada nar ve nardan elde edilen yan ürünlerin güçlü bir serbest radikal süpürücü ve etkili bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (de Nigris 2005; Rosenblat 2006). Nar suyunun gramında yaklaşık 63 mikrogram antioksidan polifenol bileşiği bulunur (Ricci 2006). Nar suyunda bol miktarda bulunan tanin (punicalin ve punicalagin) ve antosiyaninler gibi polifenolik flavanoid antioksidanlar molar bazda; vitamin C, E, koenzim Q-10 ve alfalipoik asit gibi birçok maddeden daha güçlü bir antioksidan aktiviteye sahiptir, Aynı zamanda nar suyu diğer tüm meyvelerden ve kırmızı şaraptan daha fazla antioksidan aktiviteye sahiptir (de Nigris 2006). Nar suyundaki antioksidan maddelerin sadece in vitro ortamda değil aynı zamanda in vivo ortamda da olumlu antioksidan özellikleri gösterilmiştir (de Nigris 2006; Faria 2007)

Çizelge 1.2.: Nar Suyunun İçerdiği Antioksidan Değerleri

Pik No	Antioksidan	Standart Kons.	Birim	Standart alan değeri	Örnek Alan değeri	Örnek Kons.	Birim
1	Gallic acid	1000	ppm	31114019	696283	22.38	ppm
2	Protocatechuic acid	1000	ppm	30641894	207204	6.76	ppm
3	Chlorogenic acid	250	ppm	7995808	559297	17.49	ppm
5	Cafeic acid	1000	ppm	69644339	2596337	37.28	ppm
10	Ellagic acid	50	ppm	2459409	151681	3.08	ppm

Nar suyunun antioksidan madde içeriğini tespit etmek amacıyla HPLC sisteminde kromatogramları alınmış ve elde edilen alan değerleri bilinen standartlarla karşılaştırılmıştır. Buradan madde miktar tayinleri yapılmıştır. Antosiyaninlerin

varlığı gösterilmiş ancak standart konsantrasyonları olmadığı için miktar tayini yapılamamıştır.



Şekil 1.3. HPLC de elde edilen kromatogramlar a)nar suyu(üstte) b)standart(altta)

(Kromatografik analizler LC-10 AD-VP gradient pompa, Rheodin valfli 20 µl loop, SPD-M10A fotodiyod dedektörden oluşan Shimadzu (Shimadzu, kyoto, japan) HPLC sisteminde yapılmıştır.

Flavonoidlerin ayrımı Guendz ve arkadaşlarının HPLC için tanımladıkları metoda (un kısmi modifikasyonu) göre yapılmıştır. Her bir örnek iki defa çalışılmıştır. Ayrım için Teknokroma tracer extrasil ODS2 250×4.6 mm boyutlarında partikül çapı 5 µm kolona (Barselona, İspanya) dakikada 0.7 ml akış hızında enjeksiyon yapılmıştır. 270 nm de 40 °C de dedeksiyon yapılmıştır. Elde edilen kromatogramlardaki bileşikler retansiyon zamanına göre standartlarla karşılaştırılarak tanımlanmıştır.)

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Denekler

2.1.1. Çalışma grubu

Çalışmaya 18–35 yaş arası herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan, düzenli olarak spor yapan ve profesyonel olarak futbol oynayan 16 gönüllü erkek alınmıştır.

Gönüllülerden 2 farklı müsabakanın öncesinde ve sonrasında kan numuneleri alınmıştır. İlk müsabakada gönüllülere herhangi bir şey verilmeden müsabaka öncesi ve sonrasında kan numuneleri alınmıştır. İkinci müsabakada ise gönüllülere müsabakadan önce ve devre arasında 10 ml/kg nar suyu ikiye bölünerek içirilmiş ve aynı şekilde müsabaka öncesi ve sonrasında 5'er ml kan örneği alınmıştır.

2.1.2. Kontrol grubu

Kontrol grubunu oluşturmak üzere 18–35 yaş arası sistemik hastalığı bulunmayan, spor yapmayan 15 erkek gönüllü birey alınmıştır. Kontrol grubundaki 15 bireyden yine 5'er ml kan numunesi alınmıştır.

2.2. Kan örneklerinin alınması ve saklanması

Çalışma ve kontrol grubu bireylerden alınan venöz kan örnekleri hemen eritrosit, plazma ve serum fraksiyonlarına ayrılıp derin dondurucuda (-20 °C) saklanmıştır.

2.3 Gereçler

2.3.1 Nar suyunun hazırlanması

Nar suyu; Bir ölçek elde hazırlanmış nar konsantresine beş ölçek su eklenerek hazırlanmıştır.

2.3.2. Cihazlar

B. Braun Melsungen marka homojenizatör,
Heraus marka Labofur 200 model soğutmalı santrifüj,
Unicam, Helios- α spektrofotometre,
Ayrılabilir sabit otomatik pipetler, cam pipetler,
Vestel derin dondurucu (-20 $^{\circ}$ C) ve Arçelik (+4 $^{\circ}$ C) soğutucu,
Kone 60i otoanalizör,
Sartorius Basic hassas elektronik tartı
Shimadzu marka HPLC sistemi

2.3.3. Kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Sigma-Aldrich Kimyasal A.Ş. (St Louis, MO, USA)' den sağlanmıştır.

2.4. Çalışılacak Testler ve Metodları:

2.4.1. Temel biyokimyasal parametreler

Testler Thermo scientific kitleri kullanılarak Kone 60i Otoanalizöründe çalışılmıştır. Bu kitlerde Glukoz, Glukoz oksidaz metodu ile, AST (aspartat aminotransferaz) , ALT (alanin aminotransferaz), LDH (laktat dehidrogenaz) ve CK (kreatine kinaz) ise IFCC nin tavsiye ettiği metodlarla, Bilirubin Diazo metoduyla,

Üre, Tiffany ve arkadaşlarının modifiye üreaz metodu ile, Kreatinin Heinegard and Tiderstrom tarafından modifiye edilmiş Jaffe metodu ile, Na (sodyum), K (potasyum) ve Cl (klor) ise İSE(iyon selektif elektrod) ile, Ca (kalsiyum)için ise arsenazo III boya metodu, P (fosfor) içinse CK 340nm de NAD den NADPH oluşumu sırasında oluşan absorbans değişikliğini ölçen bir enzimatik yöntem gibi metodlar kullanılmıştır.

2.4.2. Malondialdehit (MDA) düzeyinin ölçülmesi

MDA düzeyi plazma, eritrositlerde ve eritrosit zarında ölçülmüştür. Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan MDA, oksidasyonun dolaylı bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. MDA düzeyi Dahle yöntemi ile ölçülmüştür. Dahle' nin spektrofotometrik yöntemi temel olarak MDA ile tiyobarbiturik asitin (TBA) oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın ölçülmesine dayanmaktadır (Dahle 1962).

Bu analizde kullanılan reaktifler ve hazırlanması:

Fosfat tamponu (pH 6; 100 mM) 2.13 gr Na_2HPO_4 ile 11.56 gr KH_2PO_4 distile suda çözülerek hacim 1 litreye tamamlanarak hazırlanmıştır.

TBA çözeltisi (%2 w/v) 200 mg katı TBA 10 ml distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

Trikloroasetik asit çözeltisi (TCA; %20 w/v) 100 gr katı TCA, 500 ml 0.6 N HCL de çözülerek hazırlanmıştır.

Etil alkol (%95, v/v).

Ölçümde aşağıdaki protokol kullanılmıştır

Çizelge 2.1. MDA düzeyi ölçüm yöntemi protokolü

	Numune	Kör
Süpernatant	100 µl	100 µl
Etil alkol (%95)	1 ml	1 ml
Fosfat tamponu	1 ml	1 ml
TCA	1 ml	1 ml
TBA	1 ml	-

Deney tüpleri 30 dakika kaynar suda inkübasyondan sonra 20 dakika 6000 x g santrifüj edilir. Kör tüplere TBA spektrofotometrik ölçüm sırasında konular ve 532 nm dalga boyunda distile suya karşı absorbanları ölçülür.

MDA düzeyinin saptanmasında MDA standardının verdiği absorbanstan yararlanıldı. Bu amaçla tetraetoksipropan (MA: 220,3; d=0.92; %96) MDA standardı olarak kullanıldı.

Tetraetoksipropanın (TEP) molaritesinin hesaplanması: Yoğunluğu (d) 0,92 olduğuna göre 1 litresi 920 gr eder, %96'lık çözelti olduğundan da bunun 883,2 gramı TEP' dir. MA 220,3 olduğuna göre 1 litre TEP stok çözeltisinde 4 mol TEP vardır ve buna göre molaritesi de 4 M' dir. Bu stok çözelti etil alkolle 400.000 kat seyreltilerek 10µM MDA standardelde edildi ve bu standart kullanılarak deney protokolü uygulandığında standardın OD' si 0.152 ve standart körünün OD' si de 0,090 ölçüldü. Buna göre $\Delta OD(st)$ 0,062 olarak hesaplandı. Numunenin OD' sinden körün OD' si çıkarılarak $\Delta OD(nm)$ elde edildikten sonra aşağıdaki formül kullanılarak MDA konsantrasyonu hesaplandı.

$$\Delta OD(st) / \Delta OD(nm) = C(st) / C(nm)$$

$$C(nm) = \Delta OD(nm) \times C(st) / \Delta OD(st)$$

$$C(nm) = \Delta OD(nm) \times 10 \mu M (MDA) / 0,062$$

$$C(nm) = \Delta OD(nm) \times 161,3 \mu M (MDA) = nmol/ml (MDA)$$

Elde edilen sonuç; nmol/mg cinsinden MDA değerleri verildi.

2.4.3. Superoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin ölçümü

SOD aktivitesi eritrositlerde ölçülmüştür. Yöntemin temeli ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan superoksit radikali SOD tarafından ortadan kaldırılamadığında reaksiyon ortamında bulunan nitroblue tetrazolium (NBT) bileşiğinin indirgenmesi esasına dayanır (Durak 1996). İndirgenmiş NBT 560 nm dalga boyunda en iyi absorbanı veren menekşe rengi oluşumuna neden olur. Ortamda eğer SOD aktivitesi varsa menekşe rengi oluşumu önlenir. Buna göre SOD

enzim aktivitesi (1U), NBT' un indirgenmesini %50 inhibe eden enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

Analizde kullanılan reaktifler ve hazırlanışı:

Reaktif 1' in hazırlanışı (toplam hacim 490 ml):

-Ksantin 9.1 mg alınarak toplam hacim 200 ml olacak şekilde distile suda birkaç damla 1 N NaOH ile çözülür.

-NBT 12.3 mg alınarak distile su ile 100 ml hacme tamamlanır.

-EDTA (disodyum tuzu, dihidrat) 25 mg alınıp distile suyla 100 ml hacme tamamlanır.

-Na₂CO₃ 2,54 gr alınarak distile su ile 60 ml hacme tamamlanır.

-Sığır albumin 30 gr alınıp distile su ile 30 ml hacme tamamlanıp çözülür.

Ksantin oksidaz (XO) çözeltisi hazırlamak için 100M XO 1 ml 3,2M amonyum sülfatta çözülür.

CuCl₂ çözeltisi için 108 mg CuCl₂ 100ml distile suda çözülerek hazırlanır.

Numuneleri çalışmadan önce ölçülebilecek miktardaki aktiviteyi belirlemek için kaç kat seyreltileceğini denemek gerekir. Analiz şu protokole göre yapılır:

Çizelge 2.2. SOD aktivitesi ölçüm yöntemi protokolü

	Numune	Kör
Reaktif 1	2,75 ml	2,75 ml
Süpernatant	100 µl	-
XO	50 µl	50 µl
Oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edilir. Şu şekilde devam edilir		
CuCl ₂	100 µl	100 µl
Süpernatant	-	100 µl

Kör ve numunenin absorbansları 560 nm dalga boyunda distile suya karşı okunur. Elde edilen absorbans değerleri şu formülde yerine konarak SOD aktivitesi hesaplanır:

SOD aktivitesi (U/ml)= [(K_{OD}-Nm_{OD})/K_{OD}] x F x Seyreltme faktörü (mg/ml). Bu aşamadaki hesaplamalarda F değeri 20 alınmıştır.

2.4.4. Katalaz aktivitesinin ölçümü

Katalaz aktivitesi eritrositlerde ölçülmüştür. Yöntemin temeli hidrojen peroksitin 240 nm dalga boyunda verdiği absorbansın katalaz enziminin katalizlediği reaksiyon sırasında gösterdiği azalmaya ve bu azalmanın spektrofotometrik olarak izlenmesine dayanmaktadır (Aebi 1974).

Absorbansta dakikalık düşme hızı enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır. Katalaz aktivite ölçümünde kullanılan reaktifler şu şekilde hazırlanmıştır:

Fosfat tamponu (pH 7; 50 mM) Na_2HPO_4 ve KH_2PO_4 ile hazırlandı.

H_2O_2 stok çözeltisinden (%30 v/v) 0,2 ml alındı ve 100 ml fosfat tamponu (pH 7; 50 mM) ile seyreltilerek çalışma için kullanılan H_2O_2 çözeltisi elde edildi.

Çalışma kuartz küvete 0.01 ml süpernatant konularak distile suya karşı 240 nm dalga boyunda absorbansın 1 dakika izlenmesi protokolüne göre gerçekleştirildi.

Bir dakikanın sonundaki absorbans fark (ΔOD) ve H_2O_2 'nin molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak katalaz aktivitesi hesaplandı. Buna göre μM numune kullanılarak yapılan analizlerde Katalaz enzim aktivitesi şu formülle hesaplandı:

Katalaz aktivitesi (IU/mg) = $(\Delta\text{OD}/\text{dk}) \times F$. Bu çalışmada hesaplamalarda F değeri 7320 alınmıştır.

2.4.5. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin ölçümü

Plazma ve eritrositlerde hesaplanmıştır. Bu yöntem GSH (indirgenmiş glutasyon) ile H_2O_2 'nin GSH-Px enziminin etkisi ile su ve GSSG'ye (yükseltgenmiş glutasyon)'e dönüşümünü izleyen basamakta GSH redüktaz enziminin NADPH oksidasyonunu, oluşan GSSG miktarına bağlı olarak gerçekleştirilmesi esasına dayanmaktadır (Paglia 1967). Bu reaksiyonda GSSG ürünü oluştuğunda NADPH yükseltgenerek NADP'ye dönüşecektir. Spektrofotometrik olarak 340 nm dalga boyunda NADPH absorbansının düşmesinin izlenmesi ile GSH-Px aktivitesi belirlenir. Bu analiz için kullanılan reaktifler şu şekilde hazırlanmıştır:

Fosfat tamponu Fosfat tamponu (pH 7; 50 mM fosfat; 5,6 mM EDTA) 4,2 gr Na_2HPO_4 ile 2.72 gr KH_2PO_4 ve 2.08 gr EDTA (disodyum tuzu, dihidrat) 1 litre suda çözülerek hazırlanır.

GSH çözeltisi 250 gr katı GSH 5 ml fosfat tamponunda çözülerek elde edilir.

Katı NADPH 15 mg, 2,5 ml fosfat tamponunda çözülür.

GSH redüktaz enzimi çözeltisinden 10 μl alınarak 1 ml 3,2 M amonyum sülfatta seyreltilir.

Sodyum azid 65 gr tartılarak 5 ml fosfat tamponunda çözülür. Deney protokolü şu şekildedir:

Çizelge 2.3. GSH-Px aktivitesi ölçüm protokolü

Fosfat tamponu	2,5 ml
GSH	100 μl
NADPH	50 μl
GSH redüktaz	100 μl
Sodyum azid	100 μl
Süpernatan	100 μl

Spektrofotometrede fosfat tamponu ile 340 nm dalga boyunda sıfırlanır, maddeler yukarıda belirtilen miktarlarda kuartz küvete konularak 1 dakika süre ile absorbansı izlenir ve elde edilen sonuç kör değeri kabul edilir. Aynı küvete 100 H_2O_2 eklenerek 1 dakika daha izlenir, bu defa elde edilen sonuç numune değeridir. Her iki değer arasındaki fark (ΔOD) GSH-Px aktivitesi ile doğru orantılıdır. Enzim aktivitesinin hesaplanmasında ΔOD ve NADPH' nin molar absorpsiyon katsayı kullanılır. Buna göre GSH-Px aktivitesinin hesaplanmasında şu formül kullanılmıştır. GSH-Px aktivitesi (mIU/mg) = ($\Delta\text{OD}/\text{dk}$) x F
F değeri bu hesaplamada 4800 olarak alınmıştır.

2.4.6. Ksantin oksidaz (XO) aktivitesinin ölçümü

Plazma ve eritrositlerde ölçülmüştür. Bu yöntemin esası ksantinden ürik asitin oluşumunun aşamasında 293 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümüne dayanır

(Hashimoto 1974). Oluşan ürik asitin absorbanı XO aktivitesi ile doğru orantılıdır. Analizdeki reaktifler ve hazırlanışı şu şekildedir:

Fosfat tamponu (pH 7,5; 50 mM fosfat; 0,5 mM EDTA) 3 gr Na₂HPO₄ ile 0,5 gr KH₂PO₄ ve 93 gr EDTA (disodyum tuzu, dihidrat) distile suda çözülerek toplam hacim 500 ml' ye tamamlanır.

Ksantin çözeltisi (2 mM) 7,6 gr katı ksantin 25 ml fosfat tamponunda çözülerek hazırlanır. Analiz protokolü şu şekildedir:

Çizelge 2.4. XO aktivitesi ölçüm protokolü

Fosfat tamponu	2,8 ml
Ksantin çözeltisi	0,1 ml
Süpernatant	0,1 ml

Analiz tüpündeki çözeltinin absorbanı 293 nm dalga boyunda distile suya karşı ölçülür. Aynı çözeltiler oda sıcaklığında inkübe edilerek absorbanları 1 ve 24 saat sonra yeniden ölçülür. Ölçüm değerleri arasındaki fark (ΔOD) ve ürik asitin molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak enzim aktivitesi hesaplanır. Buna göre XO aktivitesi şu formülle hesaplanır:

$$XO \text{ aktivitesi (mIU/mg)} = (\Delta OD/dk) \times F$$

Analizde F değeri 3000 alınmıştır.

2.5. Nar Konsantresinin İçerik Tayini

Nar konsantresinin içeriğini tespit etmek amacıyla HPLC de UV detektörde 280 nm dalga boyunda kromatogram alınmıştır.

2.6. İstatistiksel Yöntemler

Verilerin istatistiksel analizi SPSS for Windows istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur. Futbolcularla kontrol gruplarının maç öncesi ve maç sonrası oksidatif stres

parametrelerinin karşılaştırmaları Mann Whitney U testi ile yapılmıştır. Fulbolcuların maç öncesi ve sonrası oksidatif stres düzeylerinin karşılaştırmasında ise Wilcoxon testi kullanılmıştır. Tüm analizlerde $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Profesyonel sporcular ve kontrol grubu bireylerin oksidatif stres belirteçleri açısından karşılaştırması

Kontrol bireylerle profesyonel sporcuların maç öncesi oksidatif belirteçler açısından karşılaştırılmasında eritrosit içi ksantin oksidaz düzeyinin sporcularda ($p<0.001$), peroksidaz aktivitesinin ise kontrol grubunda ($p=0,021$) anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (çizelge 3.1). Katalaz ve superoksit dismutaz için ise anlamlı fark görülmemiştir. Yine eritrosit içi MDA değerleri açısından da anlamlı fark bulunmamıştır. Benzer şekilde eritrosit zarı MDA açısından da kontrol grubu ve sporcu grubu arasında fark saptanmamıştır (çizelge3.2).

Çizelge 3.1. Kontrol Grubu ve Çalışma grubu bireylerin maç öncesi eritrosit içi oksidatif Stres Göstergeleri Açısından Karşılaştırması. MÖ: maç öncesi

		Sporcu	Kontrol	p
MDA (nmol/ml)	1. MÖ	308,6±35,74	333,4±30,08	>0,05
	2. MÖ	314,8±34,10		>0,05
CAT (IU/ml)	1. MÖ	48220±12222	41138±6445	>0,05
	2. MÖ	50370±13112		>0,05
GSH-Px (IU/ml)	1. MÖ	35,14±3,90	43,20±3,90	<0,001
	2. MÖ	37,20±4,24		=0,001
SOD (U/ml)	1. MÖ	1833±329,4	2135±394,6	>0,05
	2. MÖ	1942±434,1		>0,05
XO (Miu/ml)	1. MÖ	2,086±0,628	1,271±0,598	0,021
	2. MÖ	2,105±0,675		0,016

Çizelge 3.2. Çalışma grubu ve kontrol grubunun eritrosit zarı MDA değerlerinin karşılaştırması. MÖ: maç öncesi

		Sporcu	Kontrol	p
MDA (nmol/ml)	1. MÖ	14,03±1,74	13,00±1,85	>0,05
	2. MÖ	15,86±1,95		>0,05

Profesyonel sporcularla kontrol grubunun plazma oksidatif stres durumu bakımından karşılaştırmasında sporcularda maç öncesi dönemde plazma/ serum laktat düzeyinin daha yüksek ($p<0,001$), MDA' nın ise anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu bulunmuş, peroksidaz ve ksantin oksidaz aktivitesi açısından ise anlamlı fark bulunmamıştır (çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Sporcu ve kontrol gruplarının plazma/ serum oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırması. MÖ: maç öncesi

		Sporcu	Kontrol	p
Laktat (mg/dl)	1. MÖ	32,79±7,413	20,23±7,379	<0,001
	2. MÖ	34,26±10,18		<0,001
MDA (nmol/ml)	1. MÖ	2,926±0,829	4,177±0,390	=0,001
	2. MÖ	3,326±1,302		0,014
GSH-Px (IU/ml)	1. MÖ	0,563±0,034	0,558±0,023	>0,05
	2. MÖ	0,582±0,055		>0,05
XO (mIU/ml)	1. MÖ	0,250±0,094	0,230±0,083	>0,05
	2. MÖ	0,221±0,095		>0,05

Kontrol grubu ile profesyonel sporcular plazma biyokimya parametreleri açısından karşılaştırıldığında her iki grubun kan elektrolit ve transaminaz ve renal fonksiyon testleri yönünden optimal sınırlar içinde olduğu ancak sodyum, potasyum ve kalsiyum elektrolitlerinin sporcularda anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmüştür (çizelge 3.4). Kas hasarının bir göstergesi olan kreatine kinaz ve laktat dehidrogenaz düzeyleri de aynı şekilde sporcu grupta daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 3.4. Kontrol grubu ve profesyonel sporcuların maç öncesi kan biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması. MÖ: maç öncesi

	Sporcu	Kontrol	P
Glukoz	90,06±16,82	92,00±11,05	>0,05
AST	25,00±9,244	21,00±6,938	>0,05
ALT	14,50±6,908	17,13±19,49	>0,05
Total Bilirubin	1,156±0,483	1,267±1,363	>0,05
Kreatinin	1,131±0,153	1,167±0,104	>0,05
Sodyum	144,6±4,031	141,4±2,557	0,004
Potasyum	4,475±0,343	4,147±0,150	0,034
Klor	103,4±3,741	98,73±2,219	<0,001
Kalsiyum	11,46±0,616	10,40±0,527	<0,001
Fosfor	3,594±0,608	3,987±0,385	0,034
CK	286,1±240,9	136,0±45,85	0,017
LDH	320,5±116,9	257,6±53,62	0,036
Üre	34,81±8,001	34,20±7,664	0,781
BUN	16,18±3,709	16,00±3,565	0,905

3.2. Profesyonel sporcuların maç öncesi ve maç sonrası oksidatif stres ve kan biyokimyası parametrelerinin değerlendirilmesi

Sporcuların maç öncesi ve maç sonrası eritrosit içi MDA düzeyi, katalaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz ve ksantin oksidaz aktivitelerinde farklılık izlenmemiştir (çizelge 3.5). Ayrıca eritrosit zarı MDA düzeyi benzer bulunmuştur (çizelge 3.6)

Çizelge 3.5. Çalışma grubu bireylerin 1. maç öncesi ve sonrası eritrosit içi oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırması

	Maç Öncesi	Maç Sonrası	p
MDA (nmol/ml)	308,6±35,74	319,6±29,24	0,306
CAT (IU/ml)	48220±12222	49089±11892	1,000
GSH-Px (IU/ml)	35,14±3,90	34,80±4,51	0,698
SOD (U/ml)	1833±329,4	1839±438,3	0,877
XO (µiu/ml)	2,086±0,628	2,255±0,418	0,498

Çizelge 3.6. Çalışma grubu bireylerin maç öncesi sonrası eritrosit zarı MDA değerlerinin karşılaştırması

	Maç öncesi	Maç sonrası	p
MDA (nmol/ml)	14,03±1,74	13,32±2,97	0,345

Profesyonel sporcularda plazma/ serum laktat düzeyi maç öncesi dönemde maç sonrasına göre anlamlı yüksek bulunurken MDA, peroksidaz ve ksantin oksidaz açısından farklılık görülmemiştir (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7. Çalışma grubu bireylerin maç öncesi ve sonrası plazma/ serum oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırması

	Maç öncesi	Maç sonrası	p
Laktat (mg/dl)	32,79±7,413	26,26±6,939	0,019
MDA (nmol/ml)	2,926±0,829	2,953±0,921	0,665
GSH-Px (IU/ml)	0,563±0,034	0,583±0,070	0,576
XO (mIU/ml)	0,250±0,094	0,252±0,100	0,842

Kan biyokimyasal parametrelerine bakıldığında maç sonrasında sodyum, potasyum ve klor düzeylerinin plazmada belirgin şekilde azalma gösterdiği (her biri

için $p=0,001$), tersine kalsiyum ve fosfor düzeylerinin artma gösterdiği saptanmıştır (çizelge 3.8). Kas hasarının göstergesi olan kreatine kinazda da anlamlılık sınırına yakın bir artma olduğu görülmüştür ($p=0,052$).

Çizelge 3.8. Çalışma grubu bireylerin maç öncesi ve sonrasında kan biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması

	Maç öncesi	Maç sonrası	p
Glukoz	90,06±16,82	85,37±29,06	0,365
AST	25,00±9,244	27,18±17,28	0,938
ALT	14,50±6,908	11,18±5,844	0,093
Total Bilirubin	1,156±0,483	0,713±0,295	0,002
Kreatinin	1,131±0,153	0,888±0,209	0,001
Sodyum	144,6±4,031	122,3±13,95	0,001
Potasyum	4,475±0,343	3,538±0,563	<0,001
Klor	103,4±3,741	98,43±4,589	0,001
Kalsiyum	11,46±0,616	14,92±23,52	0,01
Fosfor	3,594±0,608	4,425±6,045	0,056
CK	286,1±240,9	406,5±346,0	0,052
LDH	320,5±116,9	316,1±118,5	0,66
Üre	34,81±8,001	32,68±5,781	0,22
BUN	16,18±3,709	15,31±2,600	0,26

3. 3. Nar suyu verilen profesyonel futbolcuların maç öncesi ve sonraki oksidatif stres ve kan biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması

Nar suyu alınan maçta müsabaka öncesi ve sonrasında eritrosit içi MDA, katalaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz ve ksantin oksidaz düzey ve aktiviteleri yönünden anlamlı farklılık saptanmamıştır (çizelge 3.9). Ancak eritrosit zarında MDA düzeyi maç sonrası grupta anlamlı yüksek bulunmuştur (çizelge 3.10).

Çizelge 3.9. Profesyonel sporcuların nar suyu verildikten sonra maç öncesi ve sonrası eritrosit içi oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırılması

	Maç Öncesi	Maç Sonrası	p
MDA (nmol/ml)	314,8±34,10	331,2±36,67	0,103
CAT (IU/ml)	50370±13112	50050±11765	0,856
GSH-Px (IU/ml)	37,20±4,24	37,06±4,37	0,776
SOD (U/ml)	1942±434,1	1834±468,5	0,215
XO (mIU/ml)	2,105±0,675	1,936±0,413	0,400

Çizelge 3.10. Profesyonel sporcuların nar suyu verildikten sonra maç öncesi ve sonrası eritrosit zarı oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırılması

	Maç öncesi	Maç sonrası	p
MDA (nmol/ml)	15,86±1,95	14,47±1,76	0,033

Nar suyu verilen maçta müsabaka önce ve sonrası dönemde plazma/serumda laktat, MDA, peroksidaz, ksantin oksidaz bakımından farklılık görülmemiştir (çizelge 3.11).

Çizelge 3.11. Profesyonel sporcuların nar suyu verildikten sonra maç öncesi ve sonrası plazma/ serum oksidatif stres göstergeleri açısından karşılaştırılması

	Maç öncesi	Maç sonrası	p
Laktat (mg/dl)	34,26±10,18	35,09±9,776	0,877
MDA (nmol/ml)	3,326±1,302	3,397±1,034	0,717
GSH-Px (IU/ml)	0,582±0,055	0,578±0,051	0,932
XO (mIU/ml)	0,221±0,095	0,245±0,172	0,326

Nar suyu verilen ma öncesi ve sonrasında alınan kan örneklerinin biyokimyasal karşılaştırmasında nar suyu alınmayan maça göre serum sodyum, potasyum, klor elektrolit düzeylerinde daha önceden olan düşmenin olmadığı ve kalsiyum, fosfor ve kreatinin kinaz düzeylerinin artmadığı görülmüştür (çizelge 3.12).

Çizelge 3.12. Profesyonel sporcuların nar suyu verildikten sonra ma öncesi ve sonrasında kan biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması (Ma Öncesi numüneler matan önce alınıp sonrasında nar suyu verilmiştir.)

	Ma öncesi	Ma sonrası	p
Glukoz	76,37±24,92	98,31±49,15	0,083
AST	22,62±6,489	26,25±6,071	0,002
ALT	6,812±3,919	7,438±3,520	0,572
Total Bilirubin	0,731±0,235	0,750±0,212	0,585
Kreatinin	1,150±0,163	1,288±0,150	0,014
Sodyum	141,4±5,278	142,3±3,198	1,0
Potasyum	4,200±0,332	4,069±0,319	0,121
Klor	98,43±4,589	98,37±2,418	0,406
Kalsiyum	10,11±0,990	10,48±0,679	0,162
Fosfor	3,694±0,860	4,150±0,935	0,033
CK	415,6±296,9	491,5±305,1	0,006
LDH	163,0±88,01	171,9±81,87	0,816
Üre	32,62±4,514	33,62±4,828	0,13
BUN	15,31±2,056	15,75±2,206	0,08

4. TARTIŞMA

Spor Hekimliğinde gözlenen gelişmelerle oksidatif stres ve egzersiz ilişkisi son zamanlarda oldukça yoğun çalışılan bir konu olmuştur. 1978 yılında Dillard ve arkadaşları (1978) egzersize bağlı olarak lipid peroksidasyonunun artışı göstermiştir. Sonrasında Davies ve ark. egzersiz sonrasında rat karaciğer ve kas dokusunda EPR (Elektron Paramagnetik Rezonans) spektroskopisi ile serbest radikal artışı tespit etmiştir (Davies 1982). Bunları takiben yapılan pek çok çalışmada egzersizin çeşitli oksidatif stres parametreleri (MDA, GSH-Px, XO, SOD, CAT v.b.) üzerine etkileri araştırılmıştır (Finaud 2006).

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA' nın fiziksel egzersiz sonrası hem arttığına hem de azaldığına dair pek çok çalışma mevcuttur. Literatürde egzersizin yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak MDA veya TBARS düzeylerinin arttığına dair pek çok yayın mevcuttur (Viinikka 2006; Duthie 1990; Kanter 1988; Lovlin 1987; Marzatico 1997).

Bunun yanında pek çok çalışmada tartışmalı olarak bu düzeylerin düştüğü gösterilmiştir (Kretzschmar 1991; Vasankari 1997; Margaritis 1997). Her iki yönde de değişimin yanı sıra kısa süreli egzersiz sonrası MDA' nın düşük bulunduğu, uzun süreli egzersiz sonrası da yükseldiğine dair genel bir kabulden bahsedilebilir. Ayrıca egzersiz sonrasında numune alınmaya kadar geçen sürenin de sonuçlar üzerine etkili olduğu görülmektedir. Egzersizden kısa süre sonra alınan numunelerde MDA düşük iken uzun süre sonrasında MDA değerlerinin yüksek bulunduğu çalışmalar bu savı desteklemektedir (Lovlin 1987; Kanter 1992; Ji 1993). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da numunelerin fiziksel egzersizin hemen sonrasında alınmış olması sebebiyle MDA düşük bulunmuş olabilir. Maç öncesi MDA değerlerinin kontrol gruplarına göre sporcularda daha düşük eğilimde olması ($p=0.06$), sporcularda yani düzenli olarak fiziksel egzersiz yapanlarda yapmayanlara göre MDA düzeylerinin daha düşük olduğunu göstermektedir. Bu durum düzenli egzersiz yapanlarda gelişen strese adaptasyon mekanizmaları nedeniyle antioksidan etkinliğin yüksek olmasına bağlanabilir. Plazma/serum ve eritrosit zarı MDA düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşük bulunurken eritrosit içi MDA düzeylerinin değişmemiş olması da gelişen

antioksidan etkinin özellikle plazma/serumdan kaynaklandığını ve düzeyinin hücre içine yansımaya yetecek seviyede olmadığını düşündürmektedir.

Serbest radikaller üzerine çalışan pek çok araştırmacının üzerinde fikir birliğine vardıkları sonuç; hem egzersizde hem de istirahatta serbest radikal üretimi aslen mitokondri iç membranında yerleşik solunum zincirindeki kaçaktan kaynaklanmaktadır. Egzersiz sırasında istirahata göre 100 kata kadar çıkan enerji ihtiyacını karşılamak için solunum zinciri aşırı çalışmaktadır. Buna bağlı olarak oluşabilecek oksijen kaçağı da yoğun serbest radikal birikimine yol açmaktadır. (Boveris 1972; Boveris 1973). Bunun dışında diğer mitokondrial enzimler de serbest radikal oluşumuna sebep olabilirler. Yakın dönemlerde yapılan hayvan deneyleri mitokondri membranına bağlı gliserol 3 fosfat dehidrogenaz (mGPDH) enziminin önemli bir serbest radikal kaynağı olduğunu göstermektedir. Sitozolik GPDH ile birlikte gliserol 3 fosfat mekiğini oluşturan bu enzimler redükte formdaki NADH'ın mitokondriye girmesinde görev almaktadır. Kalsiyum tarafından düzenlenen mGPDH aktivitesi egzersiz ile birlikte artış gösterir. Bu aktivite artışı gliserol 3 fosfat bağımlı hidrojen peroksit üretimini arttırmaktadır (Drahota 2002; Jesina 2004).

Egzersiz sonrasında GSH-Px aktivitesindeki artışın zamana bağımlı olabileceği ileri sürülmüştür. Özellikle sporcularda başlangıçta düşük olan GSH-Px aktivitesinin egzersiz sonrası saatlerde artış gösterdiği iddia edilmektedir (Cooper 2002). Aktivitedeki bu değişimin egzersizin şiddetine ve ölçüm zamanına bağlı olduğu düşünülebilir. Cooper ve ark.'nın 2002 yılında yapmış oldukları bir çalışmada GSSG düzeylerinin egzersizin hemen sonrasında artış göstermezken 7-24 saat sonunda progressif bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Yine egzersiz bağımlı lipid peroksidasyonundan korumak için maraton koşucularına uzun süreli destek verilen bir çalışmada egzersizi takiben askorbik asit, ürik asit, alfa tokoferol gibi antioksidanların da lipid peroksidasyonu ile birlikte artış gösterdiği tespit edilmiştir. Egzersizden saatler sonra antioksidan düzeyleri normale dönmüştür (Mastaloudis 2004). Bununla birlikte benzeri durumlarda GSH artışını gösteren pek çok yayın mevcuttur (Cooper 2002; Vollaard 2005). Uzun mesafe koşucularında MDA düzeyleri ile birlikte SOD ve GSH-Px aktivitelerinin de arttığı gösterilmiştir (Marzatico 1997). Yüzücülerde yapılan bir çalışmada İnal ve ark. Katalaz ve GSH-Px seviyelerindeki artış ile birlikte GSH düzeyindeki artışı da göstermişlerdir (İnal

2001). Bununla birlikte egzersiz sonrasında SOD, Katalaz ve GSH-Px aktivitelerinin değişmediğine dair bulgular da mevcuttur (Miyazaki 2001). Bisikletçilerde yapılan bir çalışmada 171 km lik bir yarış sonrasında redükte GSH seviyesi artarken GSH-Px aktivitesinde düşme tesbit edilmiştir (Finaud 2006). Egzersiz tolerans testinin oksidatif strese etkisini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada Andican ve arkadaşları pozitif egzersiz testi olan hastalarda GSH-Px aktivitesi, GSH seviyesi, ve CuZnSOD seviyelerinde anlamlı düşme tespit ederken TBARS seviyelerinde anlamlı artış izlemiştir (Andican 2001).

Egzersiz sonrasında antioksidan enzim sistemleri üzerine yapılan çalışmaların çoğunluğunda enzim aktivitelerinde artış tespit edilmiştir. Ksantin Oksidaz enzimi egzersiz sırasında harcanan ATP nin ADP ve AMP ye degradasyonu ile oluşan hipoksantini (oksijen varlığında) ürik asit ve ksantine dönüştürür. Yoğun egzersiz sırasında XO aktivitesi 10 kata kadar artabilir ve bu sayede serbest radikal birikimi oluşur. Egzersiz sırasındaki SOD ve Katalaz aktivitelerindeki artış ise uzun dönemli egzersize bağlı de novo sentezlerdeki artış sonucudur. SOD aktivitesi izoenzimler açısından incelendiğinde özellikle Mn bağımlı SOD aktivitesinin uzun süreli egzersize bağlı olarak artış gösterirken CuZn bağımlı SOD aktivitesi egzersizden etkilenmemiştir (vollaard 2005). Bir diğer çalışmada düzenli fiziksel egzersizin artmış SOD ve GSH-Px aktivitesi ile ilişkisi gösterilmiştir. İskelet kası, kalp ve karaciğer gibi organlarda fiziksel aktiviteye bağlı antioksidan enzim sistemlerinde artış gösterilmiştir. Egzersizin sıklığı ve yoğunluğu serbest radikal üretimi ile antioksidan enzim sistemleri arasındaki dengeyi belirlemektedir. Düşük yoğunluklu egzersize SOD aktivitesindeki artış eşlik ederken yüksek yoğunluklu egzersiz durumlarında GSH-Px aktivitesi artmaktadır. SOD ortamdaki artan süperoksit anyonlarını hızla H_2O_2 ve oksijene çevirirken oluşan H_2O_2 Katalaz ve GSH-Px tarafından ortamdaki temizlenmektedir (Covas 2002).

Eritrosit içi GSH-Px çalışmamızda her iki maç öncesi ve sonrası sporcularda kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur. GSH-Px aktivitesinin sporcularda spor yapmayanlara göre daha düşük olması sporcuların oksidatif strese karşı daha dirençli olduklarının bir göstergesi ya da düzenli egzersizin serbest radikal oluşumunu azalttığına ifadesi sayılabilir. İlk maç ve ikinci maç sonuçlarının karşılaştırılması ile GSH-Px aktivitesinde görülen artış nar suyunun antioksidan

etkinliğinin göstergesidir. XO aktivitesindeki artış akut fiziksel egzersizin oksidatif stresi arttırdığına ancak antrenmanlı bireylerdeki güçlenmiş antioksidan mekanizmaların GSH-Px 'ın aktivite göstermesine ihtiyaç duymadan artmış oksidasyon ürünlerini ortamdan temizlediğine yorumlanabilir.

Bizim çalışmamızda serum MDA düzeyi sporcularda kontrollere göre düşük izlenmiştir. Eritrosit içi GSH-Px aktivitesi sporcularda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Eritrosit içi CAT, SOD ve MDA düzeylerinde anlamlı bir değişiklik izlenmezken XO aktivitesi anlamlı bir artış göstermiştir. Sporcularda XO aktivitesinin artmış olması aynı zamanda da serum MDA değerinin daha düşük olması sporculardaki lipid peroksidasyonundaki artışı göstermesine rağmen verilen nar suyunun antioksidan etkinliği nedeniyle serum MDA düzeyinin düşmesi nar suyunun direkt antioksidan etkinliğinin göstergesi olarak düşünülebilir. Zaten yapılan pek çok çalışma da nar suyu ekstresinde yer alan polifenol bileşikleri, antosiyaninler, katekinler, ellajik taninler gibi maddelerin doğrudan antioksidan etkinlikleri gösterilmiştir (Ricci 2006; Tzulker 2007). Ayrıca bu iki sonuç uzun süreli fiziksel aktiviteye alışık olan sporcularda antioksidan sistemlerin güçlü olması nedeniyle serbest radikal üretiminde artış olduğu halde eritrosit içi GSH sisteminin devreye alınmasına ihtiyaç duyulmaması ile de açıklanabilir. Egzersize bağlı yanıtların incelendiği diğer çalışmalarda elde edilen veriler ışığında egzersize uzun süreli bir yanıt izlemi yapılsaydı diğer enzim aktivitelerindeki artışla birlikte MDA düzeyi artışı da gözlenebilirdi.

Yine sporcularda biyokimyasal parametrelerden Laktat, CK, AST değerleri anlamlı yüksek bulunmuşken, Na, K, Cl maç sonraları düşmekte, yine maç sonrası Ca ve P değerleri yükselmektedir. Nar suyu verilmeden yapılan maç öncesi ve sonrasında görülen sodyum, potasyum, klor, kalsiyum ve fosfordaki elektrolit değişiklikleri nar suyu verilen maçın önce ve sonrasında alınan örneklerde görülmemektedir. Bu nar suyunun elektrolit dengesine katkısını belirgin bir şekilde göstermektedir. CK ve AST değerlerindeki artış vücudun egzersize fizyolojik yanıtı olarak değerlendirilebilir. İskelet kasında artmış metabolizma laktat ve CK artışına yol açarken karaciğerin artan metabolizmasının göstergesi AST' deki artıştır. Egzersize normal fizyolojik yanıt; Oluşacak tansiyon değişikliklerine ve dehidratasyona yanıt verebilmek amacıyla Su, sodyum ve tuz tutulumu şeklindedir.

Özellikle strese bağlı salgılanan ACTH' ya adrenal medulla katekolamin salgılayarak yanıt verir. Katekolaminlerin aktive ettiği renin anjiyotensin aldosteron sistemi egzersiz sırasında temel su kaybına yol açan terleme mekanizması üzerine etkilidir. Henüz daha salgılanmadan derideki ter bezlerine etki göstererek sodyum ve potasyum tutulumuna yol açar. Dolayısıyla sıvı kaybıyla paralel tuz kaybı engellenmiş olur. Ancak buna rağmen egzersize bağlı tuz kaybı fizyolojik bir durumdur. Bu nedenle sporculara tuz tabletleri önerilmektedir (Guyton 1986)

Egzersiz sırasında saniyelerle ifade edilen ani enerji ihtiyacı ATP ve kreatininden fosfat ayrışması yoluyla sağlanır. Bundan daha uzun süreli (20-30 dakikalara kadar) yoğun egzersiz dönemlerinde vücut enerji ihtiyacını kasta depo edilen glikojenin glukoz üzerinden laktik aside çeviren anaerobik glikoliz yoluyla sağlar. Bu sırada vücut hiç oksijen tüketmeden üstelik de mitokondrideki oksidatif fosforilasyonun 2,5 katı hızla ATP üretimi sağlar. Bu üretim fosfat sistemine ek olarak 30-40 sn lik maksimum efor olanağı da verir. Beraberinde vücutta laktik asit birikimi ile birlikte asidoz izelgesu gelişir. Bitkinlik olarak ifade edilen bu durumda hızlı enerji teminini sağlayan bu iki yol da (fosfat ayrışması ve anaerobik glikoliz) inaktive olur. Egzersize adaptasyonda her iki yol da enerji sağlama kapasitesini arttırır. Bağlantılı olarak her iki yol da sporcularda normalden daha uzun süreli enerji desteği sağlayabilir. Daha uzun süreli enerji ihtiyaçları aerobik yol ile karşılanır (Guyton 1986).

Kısa süreli egzersizde oluşabilecek solunumsal asidoza, egzersizin süre ve şiddetine bağlı olarak metabolik asidoz da eşlik edebilir. Vücut artan H^+ iyonunu böbrekler yoluyla uzaklaştırırken buna ters yönde Na^+ ve K^+ tutmaya çalışır (Guyton 1986). Oysa bizim çalışmamızda bunun tersi bir durum söz konusudur. Bu egzersize adapte olmuş sporcularda metabolik komponentin şiddetinin böbreğin adaptasyon mekanizmalarını harekete geçirecek kadar belirgin olmaması ile açıklanabilir. Bunun yanında verilen nar suyu ekstresinin içeriği de bu sonuçta katkı sahibi olabilir. Bu aynı zamanda glukoz, kalsiyum ve fosfordaki artışı da açıklayabilir.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları mevcuttur. Profesyonel sporcuların performansı bu çalışmada değerlendirilmemiştir. Bu nedenle oyun yerlerine ve maçta kalma sürelerine bağlı olarak farklı fiziksel performans gösteren sporcuların farklı biyokimyasal parametreleri sonuçlar üzerinde etkili olabilir. Daha da önemlisi nar

suyunun biyokimyasal parametrelerden yola çıkarak egzersiz performansı üzerine olumlu etkileri olduğu söylenebilir. Ancak performansın değerlendirilmemesi nedeniyle nar suyunun egzersiz performansı üzerine olası yararlı etkisi değerlendirilememiştir. Çalışma yöntemlerinden biri olan MDA lipid peroksidasyonunun dolaylı göstergelerinden biridir. Bu nedenle daha önceden değinilen bazı kısıtlılıklara sahiptir. Buna bağlı olarak oksidatif stresin değerlendirilmesinde MDA' nın kullanıldığı birçok çalışma farklı sonuçlar vermiştir. Nar suyunun antioksidan etkilerini direk yöntemlerle araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır. Bunun yanında, çalışmamız birçok güçlü antioksidan besin maddesini ve antioksidan vitaminleri bünyesinde barındıran nar suyunun yoğun egzersize bağlı gelişen oksidatif stresin olumsuz etkilerini önleyen yönünü araştıran ilk çalışma olma özelliğindedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Profesyonel sporcularda uzun süreli egzersize adaptasyon olarak eritrosit içi ksantin oksidaz aktivitesi artmakta peroksidaz aktivitesi ise azalmaktadır. Eritrosit içi ve plazmada katalaz ile süperoksit dismutaz aktivitelerinde değişiklik olmamaktadır. Yine plazma malondialdehit düzeyi düşmektedir.

Profesyonel sporcular kan biyokimya parametreleri açısından spor yapmayan bireylere göre egzersiz öncesi dönemde bile daha yüksek laktat, LDH, kreatine kinaz, sodyum, potasyum ve klor düzeylerine sahip olmaktadır.

Yoğun fiziki aktivite sonrasında profesyonel sporcuların MDA, katalaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz, ksantin oksidaz aktivitelerinde değişiklik olmamaktadır. Yoğun fiziki aktivite sonrasında plazma laktat, kreatine kinaz, kalsiyum ve fosfor düzeyleri artmakta ve sodyum, potasyum ve klorda düşme şeklinde elektrolit kaybı olmaktadır.

Nar suyu verilmesi antioksidan enzim aktivitelerine etkide bulunmamaktadır. Ancak nar suyu alınan maç sonrasında nar suyu alınmayan maça göre kas hasarının göstergesi olan laktat ve kreatine kinaz düzeylerinde artış görülmemektedir. Bu durum nar suyunun direk antioksidan özellik göstererek kas hasarını azaltabileceğini düşündürmektedir.

Nar suyu yoğun fiziksel aktiviteye bağlı gelişen elektrolit kayıplarını engellemektedir.

Çalışmamız nar suyunun yoğun egzersiz gerektiren sporcularda biyokimyasal parametrelere dayanarak yararlı olabileceğini öne sürmektedir. Ancak nar suyunun sporcu performansı üzerine olası faydalı etkilerini araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Sağlıklı erişkinlerde fiziksel aktivitenin eritrosit ve plazmadaki oksidan / antioksidan parametreler üzerine olan etkilerinin belirlenmesi ve yüksek antioksidan özelliği olduğu bilinen nar suyunun bu parametreler üzerine olan etkilerinin araştırılması

Özellikle ağır egzersiz olmak üzere fiziksel aktivitenin oksidatif strese neden olduğu ve oluşan oksidatif stresin egzersiz performansında kısıtlanmaya ve fiziksel yorgunluğa yol açtığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Antioksidan desteğinin oksidatif stresin performans üzerine olan olumsuz etkilerini azaltabileceği öne sürülmüştür. Bu çalışmada profesyonel futbolcularda ağır fiziksel aktivitenin eritrosit ve plazmadaki oksidan/ antioksidan parametreler üzerine olan etkisi ve yüksek antioksidan özelliği olan nar suyunun bu parametreler üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışmaya 18-35 yaş arası profesyonel futbol oynayan ve sistemik bir rahatsızlığı olmayan 16 futbolcu ile kontrol grubu olarak spor yapmayan ve herhangi bir sistemik rahatsızlığı olmayan 15 sağlıklı birey alınmıştır. Çalışma grubundaki bireylerden iki farklı müsabakanın öncesinde ve sonrasında kan örnekleri alınmıştır. Birinci müsabakada herhangi bir madde verilmemiş, ikinci müsabakada ise maç öncesi ve devre arası nar suyu verilmiştir. Alınan kan örnekleri bekletilmeden plazma ve eritrosit fraksiyonlarına ayrılmıştır. Oksidan/ anti-oksidan parametreler olarak eritrositlerde malondialdehit (MDA), katalaz (CAT), peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD), ksantin oksidaz (XO); plazmada ise MDA, CAT, GSH-Px, SOD, XO biyokimyasal yöntemlerle bakılmıştır.

Kontrol bireyleri ile profesyonel sporcuların maç öncesi oksidatif belirteçler açısından karşılaştırılmasında eritrosit içi XO düzeyinin sporcularda ($p<0.001$), GSH-Px aktivitesinin ise kontrol grubunda ($p=0,021$) anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. Profesyonel sporcularla kontrol grubunun plazma oksidatif stres durumu bakımından karşılaştırılmasında sporcularda MDA anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p=0.001$). Sporcuların maç öncesi ve maç sonrası eritrosit içi MDA düzeyi, CAT, GSH-Px, SOD ve XO aktivitelerinde farklılık izlenmemiştir. Nar suyu alınan maçta müsabaka öncesi ve sonrasında eritrosit içi MDA, CAT, GSH-Px, SOD ve XO düzey ve aktiviteleri yönünden anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p<0,05$). Ancak eritrosit zarında MDA düzeyi maç sonrası grupta anlamlı düşük bulunmuştur ($p=0,03$). Kan biyokimyasal parametrelerine bakıldığında nar suyu alınmayan maç sonrasında plazma sodyum, potasyum ve klor düzeylerinin belirgin şekilde azalma (her biri için $p=0,001$), tersine kalsiyum ve fosfor, laktat düzeylerinin artma gösterdiği saptanmıştır. Nar suyu verilen maç sonrasında daha önce görülen elektrolitlerdeki anormallikler ve laktat düzeyinde artma görülmemiştir.

Sonuçlarımız nar suyunun antioksidan etkinliğinin ağır fiziksel aktiviteye bağlı gelişen oksidatif stresin olumsuz etkilerini önleyebileceğini, bunun yanında sıvı elektrolit dengesini korumada faydalı olduğunu göstermektedir. Nar suyunun biyokimyasal parametreler üzerine olan olumlu etkilerinden yola çıkarak, egzersiz performansı üzerine etkilerini araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Fiziksel aktivite, oksidatif stress, serbest radikaller, antioksidanlar, nar suyu

SUMMARY

Influence of physical activity on erythrocyte and plasma oxidant/ antioxidant parameters in healthy adults and possible effects of pomegranate juice on these parameters

Several lines of studies demonstrated that physical activity, particularly strenuous exercise, results in oxidative stress, which may impair exercise performance and fatigue. Certain reports suggested beneficial role of antioxidant supplementation in exercise induced oxidative stress. Herein, we investigated influence of strenuous exercise on erythrocyte and plasma oxidant/ antioxidant parameters in professional football players. Efficacy of pomegranate juice on these parameters was studied as well.

Fifteen professional football players aged 18 to 35 and without any systemic illness and as a control group 15 healthy adults were enrolled into this study. Blood samples were obtained before and after in two different football match from study group. In the first match, no additional substance was given. In the second match, before and in the half-time period pomegranate was given to players. Blood samples were immediately obtained and separated to plasma and erythrocyte fractions. Malondialdehyde (MDA), catalase (CAT), peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD), xantine oxidase (XO) and MDA, CAT, GSH-Px, SOD, XO were analyzed by biochemical methods in the erythrocytes and plasma samples respectively. Intercomparisons were made with Mann-Whitney U test and intracomparisons within groups were performed by Wilcoxon rank tests.

Comparison of study group with control subjects revealed statistically significant increase in erythrocyte XO and decrease in GSH-Px ($p < 0,001$ and $p = 0,021$ respectively). Moreover plasma MDA was lower than that of control subjects in football players ($p = 0,001$). No significant difference was observed in erythrocyte MDA, CAT, GSH-Px, SOD, and XO levels in samples taken before and after the match ($p < 0,05$). Similarly, pomegranate juice did not affect these parameters. However MDA level of erythrocyte membrane was significantly decreased increased after ingestion of pomegranate ($p = 0,03$). Plasma electrolytes values were significantly altered after the game with decrease in sodium, potassium, chloride and increase in calcium, phosphorus and lactate ($p = 0,001$ for each). Pomegranate juice was significantly improved these electrolyte changes.

Our results indicate that pomegranate juice would be of benefit in reducing detrimental effects of oxidative stress developing after physical activity. Beside, pomegranate juice markedly prevents electrolyte alterations in these individuals. Further studies are needed in order to clarify efficacy of pomegranate juice on exercise performance.

Keywords: exercise, oxidative stres, free radicals, antioxidants, pomegranate juice

KAYNAKLAR

- AEBI, H. (1974). Catalase. Methods of Enzymatic analysis. B. HU. *New York and London*, Academic Press Inc: 673-677.
- AKKUŞ, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları.
- ALTINIŞIK M. (2008). Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar [<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01b.pdf>] erişim14.12.08
- ANDİCAN, G, KOLDAS, L., SEVEN, A., AYAN, F., SIRMACI, N., BURÇAK, G. (2001). Biochemical evaluation of oxidative stress during exercise in patients with coronary heart disease. *Clin. Biochem. Lab. Med.*, **39**: 234-238.
- ANDRADE, F. REID, MB., ALLEN, DG., WESTERBLAD, H. (1998). Effect of hydrogen peroxide and dithiothreitol on contractile function of single skeletal muscle fibres from the mouse. *J. Physiol.*, **509**: 565-575.
- ASAMİ, S., MANABE, H., MİYAKE, J., TSURUDOME, Y., HIRANO, T., YAMAGUCHI, R., ITOH, H., KASAI, H. (1997). Cigarette smoking induces an increase in oxidative damage, 8-hydroxideozgunasine, in a cetral site of the human lung. *Carcinogenesis*, **18**: 1763-1766.
- BAILEY, D., DAVIES, B., YOUNG, IS. (2001). Intermittent hypoxic training: Implications for lipid peroxidation induced by acute normoxic exercise in active men. *Clin. Sci. (Lond)*, **101**: 465-475.
- BANGSBO, J., SJODIN, B., HELLSTEN-WESTING, Y. (1992). Exchange of hypoxanthine in muscle during intense exercise in man. *Acta. Physiol. Scand.*, **146**: 549-550.
- BAST A., HAENEN R.M.M., CEES J.A. (1991), Oxidants and antioxidants:state of the art. *The Am J Med .* **91**:3c2s-3c13s
- BATES J. H., YOUNG I.S., GALWAY L., TRAUB A. I. AND HADDEN D.R. (1997): Antioksidant status and lipid peroxidation in diabetic pregnancy. *Br J Nutr.* **78**:523-532
- BEJMA, J., JI, LL. (1999). Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, **87**:465-470.
- BENZIE, I. (2000). Evolution of antioxidant defence mechanisms. *Eur. J. Nutr.*, **39**:53-61.
- BOVERIS, A., OSHINO, N., CHANCE, B. (1972). The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem. J.*, **128**: 617-30.
- BOVERIS, A., CHANCE, B. (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide: general properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem. J.*, **134**: 707-716.
- CARR, A., FREI, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am. J. Clin. Nut.*, **69**: 1086-1107.
- CHEESEMAN, K., SLAER, TF. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.*, **49**: 481-493.
- CHILDS, A., JACOBS, C., KAMINSKI, T., HALLİWELL, B, LEEUWENBURGH, C. (2001). Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free. Radic. Biol. Med.*, **31**: 745-753.
- CLARKSON, P., THOMPSON, HS. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *Am. J. Clin. Nutr.*, **72**: 637-646.
- COLLIER A, RUMLEY A, RUMLEY A. G, PATERSON J. R, LEAC J. P, LOWE G, SMALL M. (1992) Free radical activity and hemostatic factors in niddm patients with and without microalbuminuria, *Diabetes* **41**:909-913
- COOMBES, J., POWERS, SK., ROWELL, B., HAMILTON, KL., DODD, SL., SHANELY, RA., SEN, CK., PACKER, L. (2001). Effects of vitamin E and alpha-lipoic acid on skeletal muscle contractile properties. *J. Appl. Physiol.*, **90**: 1424-1430.
- COOMBES, J., ROWELL, B., DODD, SL., DEMİREL, HA., NAİTO, H., SHANELY, RA., POWERS, SK. (2002). Effects of vitamin E deficiency on fatigue and muscle contractile properties. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **87**: 272-277.
- COOPER, C., VOLLAARD, NBJ., CHOUEIRI, T., WILSON, MT. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans.*, **30**: 280-285.

- COVAS, M., ELOSUA, R., FITO, M., ALCANTARA, M., COCA, L., MARRUGAT, J. (2002). Relationship between physical activity and oxidative stress biomarkers in women. *Med. Sci. Sports. Exerc.*: 814-819.
- Cross C., Halliwell B., Boris E., Prior W. (1987). Oxygen radicals and human disease, *Ann Intern Med*: **107**; 526-545
- DAHLE, L. (1962). The thiobarbituric acid reaction and the autooxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Arch. Biochem. Biophys.*, **98**: 253-261.
- DAVIES, K., QUINTANILHA, TA., BROOKS, GA., PACKER, L. (1982). Free radical and tissue damage produced by exercise. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **107**:1198-1205.
- de NIGRIS, F. WILLIAMS-IGNARRO, S., LERMAN, LO., CRÍMÍ, E., BOTTÍ, C., MANSUETO, G., D'ARMÍENTO, FP., DE ROSA, G., SÍCA, V., IGNARRO, LJ., NAPOLÌ, C. (2005). Beneficial effects of pomegranate juice on oxidation-sensitive genes and endothelial nitric oxide synthase activity at sites of perturbed shear stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **102**: 4896-4901.
- de NIGRIS, F. WILLIAMS-IGNARRO, S., BOTTI, C., SÍCA, V., IGNARRO, LJ., NAPOLÌ, C. (2006). Pomegranate juice reduces oxidized low-density lipoprotein downregulation of endothelial nitric oxide synthase in human coronary endothelial cells. *Nitric oxide*, **15**: 259-263.
- DEKKERS, J., vanDOORNEN, LJ., KEMPER, HC. (1996). The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports. Med.*, **21**: 213-238.
- DILLARD, C., LITOV, RE., SAVIN, WM., DUMELÏN, EE., TAPPEL, AL.. (1978). Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J. Appl. Physiol.*, **45**: 927-932.
- DÍZDAROĞLU, M., JARUGA, P., BİRİNCİOĞLU, M., RODRÍGUEZ, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free. Radic. Biol. Med.*, **32** 1102-1115.
- DRAHOTA, Z., CHOWDHURY, SK., FLOYK, D., MRÁČEK, T., WILHELM, J., RAUCHOVÁ, H., LENAŽ, G., HOUSTEK, J. (2002). Glycerophosphate-dependent hydrogen peroxide production by brown adipose tissue mitochondria and its activation by ferricyanide. *J. Bioenerg. Biomembr.*, **34**: 105-113.
- DRAPPER H., Hadley M. (1990). A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous MDA. *Xenobiotica*, **20/9**: 901-907
- DURAK, I., CANBOLAT, O., KAVUTCU, M., ÖZTÜRK, HS., YURTASLANI, Z. (1996). Activities of total, cytoplasmic and mitochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patients with lung cancer. *J. Clin. Lab. Anal.*, **10**: 17-20.
- DUTHIÉ GG, ROBERTSON JD, MAUGHAN. (1990). RJ, et al. Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. *Arch Biochem Biophys.* **282 (1)**: 78-83
- ESREBAUER, H. WAG, H., PUHL, H. (1993). Lipid peroxidation and its role in atherogenesis. *Br. Med. Bull.* **49**: 566-576.
- EVANS, W. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am. J. Clin. Nutr.*, **72 (S)**: 647-652.
- FANG, Y. (2002). Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, **18**: 872-879.
- FARIA, A., MONTEIRO, R., MATEUS, N. (2007). Effect of pomegranate (*Punica granatum*) juice intake on hepatic oxidative stress. *Eur. J. Nutr.*, **46**: 271-278.
- FINAUD, J., LAC, G., FLAIRE, E. (2006). Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med.*, **36**: 327-358.
- GOLDEN, T., HINERFELD, DA., MELOV, S. (2002). Oxidative stress and aging: beyond correlation. *Aging Cell*, **1**: 117-123.
- GOLDFARB, A. (1999). Nutritional antioxidants as therapeutic and preventive modalities in exercise-induced muscle damage. *Can. J. Appl. Physiol.*, **24**: 249-266.
- GROUSSARD, C., RANNOU-BEKONO, F., MACHEFER, G., CHEVANNE, M., VINCENT, S., SERGENT, O., CILLARD, J., GRATAS-DELAMARCHE, A. (2003). Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **89**: 14-20.
- GUILLAND, J., PENARANDA, T., GALLET, C., BOGGIO, V., FUCHS, F., KLEPPING, J. (1989). Vitamin status of young athletes including the effects of supplementation. *Med. Sci. Sports Exerc.*, **21**: 441-449.

- GURIB-FAKIM, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol. Aspects Med.*, **27**: 1-93.
- GUTTERIDGE J. M.C., HALLIWELL B. (1990). The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems, *TIBS April*:129-134
- GUYTON AC. (1986). *Tıbbi Fizyoloji*, Cilt 2, 7. Basım, Nobel Tıp Kitabevi, sf. 1459-1475.
- HALLIWELL B (1994), Free radicals antioxidants and human disease:curiosity, cause and consequence?, *The Lancet*, **344**: 721-724
- HALLIWELL B (1990) Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods In Enzymol.* **105**:1-85
- HAMPTON, M., KETTLE, AJ., WINTERBOURN, CC. (1998). Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood*, **92**: 3007-3017.
- HASHIMATO, S. (1974). Spectrofotometric assay method of xantine oxidase in crude tissue homogenate. *Anal. Biochem.*, **62**: 425-435.
- HELLSTEN, Y., HANSSON, HA., JOHNSON, L., FRANDSEN, U., SJODIN, B. (1996). Increased expression of xanthine oxidase and insulin-like growth factor I (IGF-I) immunoreactivity in skeletal muscle after strenuous exercise in humans. *Acta. Physiol. Scand.*, **157**: 191-197.
- HELLSTEN, Y., FRANDSEN, U., ORTHENBLAD, N., SJODIN, B., RİCHTER, EA. (1997). Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation. *J. Physiol.*, **498**: 239-248.
- HERRERO, A., BARJA, G. (1997). ADP-regulation of mitochondrial free radical production is different with complex I- or complex II-linked substrates: implications for the exercise paradox and brain hypermetabolism. *J. Bioenerg. Biomembr.*, **29**: 241-249.
- INAL, M., AKYÜZ, F., TURGUT, A., GETSFRİD, WM. (2001). Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Med. Sci. Sports Exerc.*, **33**: 564-567.
- JACKSON, M., EDWARDS, RH., SYMONS, MC. (1985). Electron spin resonance studies of intact mammalian skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Acta.*, **847**: 185-190.
- JACKSON, M., O'FARRELL, S. (1993). Free radicals and muscle damage. *Br. Med. Bull.* **49** : 630-641.
- JENKINS, R. (1988). Free radical chemistry: relationship to exercise. *Sports Med.*,**5**:156-170.
- JENKINS, R. (2000). Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *Am. J. Clin. Nutr.*, **72 (2-Suppl.)**: 670-674.
- JESINA, P., KHOLOVA, D., BOLEHOVSKA, R., CERVİNKOVÁ, Z., DRAHOTA, Z., HOUSTEK, J. (2004). Glycerophosphate-dependent hydrogen peroxide production by rat liver mitochondria. *Physiol. Res.*, **53**: 305-310.
- Ji LL.(1993). Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc* **25 (2)**: 225-31
- Ji, LL. (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. *P.S.E.B.M.*, **222**: 283-292.
- KANTER MM, EDDY DE. (1992). Effects of antioxidants supplementation on serum markers of lipid peroxidation and skeletal muscle damage following eccentric exercise [abstract]. *Med Sci Sports Exerc* **24 (5)**: S17
- KANTER MM, LESMES GR, KAMİNSKY LA, et al. (1988).Serum creatinekinase and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometer race: relationship to lipid peroxidation. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* **57 (1)**: 60-3
- KASAI, H. (2002). Chemistry-based studies on oxidative DNA damage:formation, repair, and mutagenesis. *Free. Radic. Biol. Med.*, **33**: 450-456.
- KRENITSKY, T., SPECTOR, T., HALL, WW. (1986). Xanthine oxidase from human liver: purification and characterization. *Arch. Biochem. Biophys.*, **247**: 108-119.
- KRETZSCHMAR M, MULLER D, HUBSCHER J. (1991). Influence of aging, training and acute physical exercise on plasma glutathione and lipid peroxides in man. *Int J Sports Med.* **12 (2)**: 218-22
- LANSKY, E., NEWMAN, RA. (2007). Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J. Ethnopharm.*, **109**: 177-206.
- LAURSEN, P. (2001). Free radicals and antioxidant vitamins: optimizing the health of the athlete. *Strength Cond. J.*, **23**: 17-25.
- LORENCİO F. G., ALONSO B. O. (1999). Oxidative stress and antioxidant supplementation in type 1 diabetes. *Diabetes Care*, **22**:870-871
- LOVLIN R, COTTLE W, PYKE I. (1987). Are indices of free radical damage related to exercise intensity? *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* **56 (3)**: 313-6

- MARGARITIS, I., PALAZZETTI, S., ROUSSEAU, AS., RICHARD, MJ., FAVIER, A. (2003). Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. *J. Am. Coll. Nutr.*, **22**: 147-156.
- MARZATICO, F., PANSARASA, O., BERTORELLI, L., SOMENZINI, L., DELLA VALLE, G. (1997). Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *J. Sports Med. Phys. Fitness*, **37**: 235-239.
- MASTALOUDIS, A., MORROW, JD., HOPKINS, DW., DEVERAJ, S., TRABER, MG. (2004). Antioxidant supplementation prevents exercise induced lipid peroxidation, but not inflammation in ultra marathon runners. *Free Rad. Biol. Med.*, **36**: 1329-1341.
- McARDLE, A., PATTWELL, D., VASILAKI, A., GRÍFFÍTHS, RD., JACKSON, MJ. (2001). Contractile activity-induced oxidative stress: cellular origin and adaptative responses. *Am. J. Physiol.*, **280**: 621-627.
- McCORD J., HALLIWELL B. (1993), Human Disease; The oxidant-antioxidants balance. *Clin Biochem.* **26**:351-357
- McCORD, J. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am. J. Med.*, **108**: 652-659.
- ZACKS M.A., JIAN-JUNGEN, VYATKINA G., BHATIA V., GARG N. (2005). An overview of chagasic cardiomyopathy: pathogenic importance of oxidative stress. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* **77**(4): 695-715
- MIWA, S., St-PIERRE, J., PARTRIGE, L., BRAND, MD. (2003). Superoxide and hydrogen peroxide production by Drosophila mitochondria. *Free Rad. Biol. Med.*, **35**: 938-948.
- MIYAZAKI, H., OH-ISHI S., OOKAWARA, T., KIZAKI, T., TOSHINA, K., HA, S., HAGA, S., JI, LL., OHNO, H. (2001). Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhaustive exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **84**: 1-6.
- MOREL, D., HESSLER, JR., CHISOLM, GM. (1983). Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid. *J. Lipid Res.*, **24**: 1070-1076.
- MUNTENAU, A., ZINGG, JM., AZZI, A. (2004). Anti-atherosclerotic effects of vitamin E: myth or reality. *J. Cell Mol. Med.*, **8**(59-76).
- NEURATH, A., STRICK, N., LI YY., DEBNATH, AK. (2004). Punica granatum (pomegranate) juice provides an HIV-I entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BMC Infect. Dis.*, **4**: 1-12.
- O'NEILL, C., STEBBINS, CL., BONIGUT, S., HALLIWELL, B., LONGHURST, JC. (1996). Production of hydroxy radicals in contracting skeletal muscle of cats. *J. Appl. Physiol.*, **81**: 1197-1206.
- PACKER, L. (1997). Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. *J. Sports Sci.*, **15**: 353-363.
- PAGLIA, D., VALENTINE, WN. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **70**: 158-169.
- PALAZZETTI, S., ROUSSEAU, AS., RICHARD, MJ., FAVIER, A., MARGARITIS, I. (2004). Antioxidant supplementation preserves antioxidant response in physical training and low antioxidant intake. *Br. J. Nutr.*, **91**: 91-100.
- POWERS, S., LENNON, SL. (2000). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc. Nutr. Soc.*, **58**: 1025-1033.
- PYNE, D. (1994). Exercise-induced muscle damage and inflammation: a review. *Aust. J. Sci. Med. Sport.*, **26**: 49-58.
- RADAK, Z., KANEKO, T., TAHARA, S., NAKAMOTO, H., OHNO, H., SASVÁRI, M., NYAKAS, C., GOTO, S. (1999a). The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic. Biol. Med.*, **27**: 69-74.
- RADAK, Z., PUCSOK, J., MECSEKI, S., CSONT, T., FERDINANDY, P. (1999b). Muscle soreness-induced reduction in force generation is accompanied by increased nitric oxide content and DNA damage in human skeletal muscle. *Free Radic. Biol. Med.*, **26**: 1059-1063.
- REID, M., HAACK, KE., FRANCKEK, KM., FRANCKEK, KM., VALBERG, PA., KOBŽIK, L., WEST, MS. (1992). Reactive oxygen in skeletal muscle I: intracellular oxidant kinetics and fatigue in-vitro. *J. Appl. Physiol.*, **73**: 1797-1804.
- REID, M. (2001). Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle. Invited review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *J. Appl. Physiol.*, **90**: 724-731.

- RICCI, D., GIAMPERI, L., BUCCHINI, A., FRATERNALE, D. (2006). Antioxidant activity of Punicagranatum fruits. *Fitoterapia*, **77**: 310-312.
- ROSENBLAT, M., HAYEK, T., AVIRAM, M. (2006). Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages." *Atherosclerosis*, **187**: 363-371.
- ROSENBLAT, M., VOLKOVA, N., COLEMAN, R., AVIRAM, M. (2006). Pomegranate by product administration to apolipoprotein E-deficient mice attenuates atherosclerosis development as a result of decreased macrophage oxidative stress and reduced cellular uptake of oxidized low-density lipoprotein. *J. Agric. Food. Chem.* **54**: 1928-1935.
- SCHRODER, H., NAVARRO, E., TRAMULLAS, A., TRAMULLAS, A., MORA, J., GALIANO, D. (2000). Nutrition antioxidant status and oxidative stress in professional basketball players: effects of a three compound antioxidative supplement. *Int. J. Sports Med.*, **21**: 146-150.
- SEERAM, N., ADAMS, LS., HENNING, SM., NIU, Y., ZHANG, Y., NAIR, MG., HEBER, D. (2005). In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *J. Nutr. Biochem.*, **16**: 360-367.
- SEN, C. (2001). Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: introduction. *Med. Sci. Sports Exerc.*, **33**: 368-370.
- STOCKS J., DORMANDY T.L. (1971). The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *British J Haematol.* **20**: 95-111
- STOCKS J., DORMANDY T.L., OFFERMAN E.L., MODDEL C.B. (1972). The susceptibility to autoxidation of human red cell lipids in health and disease. *British J Haematol.* **23**: 713-724
- SUMNER, M., ELLIOTT-ELLER, M., WEIDNER, G., DAUBENMIER, JJ., CHEW, MH., MARLİN, R., RAİSİN, CJ., ORNİSH, D. (2005). Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart diseases. *Am. J. Cardiol.*, **96**: 810-814.
- TERENTIS, A., THOMAS, SR., BURR, JA., LİEBLER, DC., STOCKER, R. (2002). Vitamin E oxidation in human atherosclerotic lesions. *Circ. Res.*, **90**: 333-339.
- TZULKER, R., GLAZER, I., BAR-ILAN, I., HOLLAND, D., AVIRAM, M., AMIR, R. (2007). Antioxidant activity, polyphenol content, and related compounds in different fruit juice and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *J. Agric. Food Chem.*, **55**: 9559-9570.
- VASANKARI TJ, KUJALA UM, VASANKARI TM. (1997). Effects of acute prolonged exercise on serum and LDL oxidation and antioxidant defences. *Free Radic Biol Med.* **22** (3): 509-13
- VİİNİKKA L, VUORİ J, YLİKORKALA O. (1984). Lipid peroxides, prosta- cyclin, and thromboxane A2 in runners during acute exercise. *Med Sci Sports Exerc* **16** (3): 275-7
- VINA, J., GIMENO, A., SASTRE, J., DESCO, C., ASENSÍ, M., PALLARDÓ, FV., CUESTA, A., FERRERO, JA., TERADA, LS., REPİNE, JE. (2000). Mechanism of free radical production in exhaustive exercise in humans and rats; role of xanthine oxidase and protection by allopurinol. *I.U.B.M.B. Life*, **49**: 539-544.
- VOLLAARD, N., SHEARMAN, JP., COOPER, CE. (2005). Exercise induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Med.*, **35**: 1045-1062.
- WALLACE, S. (2002). Biological consequences of free radical-damaged DNA bases. *Free Radic. Biol. Med.*, **33**: 1-14.
- YALÇIN, A. (1998). Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*, **11**: 342-346.
- YOUNG, I., McENENY, J. (2001). Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochem. Soc. Trans.*, **29**: 358-362.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : Mehmet
 Soyadı : Altuğ
 Dogum yeri ve tarihi : Kayseri, 05.05.1970
 Uyrugu : TC
 Medeni durumu : Evli
 Askerlik durumu : Terhis
 İletisim adresi ve telefonu : Bahçelievler M. Gürşen Sitesi No:11 Gölbaşı/Ankara

II- Egitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye dogru)

Tıp Fakültesi 1995
 Lise 1988
 Ortaokul 1984
 İlkokul 1981

Yabancı dili : İngilizce

III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye dogru):

Tıp Doktoru

IV- Mesleki Deneyimi

1995-1996 Duayeri Sağlık Ocağı Fatsa
 1996-2003 Ankara Numüne Hastanesi
 2003- Özel Sektör

V- Üye Oldugu Bilimsel Kuruluslar

VI- Bilimsel ilgi Alanları

Yayınları: Nutraceuticals and Natural Products in Cardiovascular Diseases, Cancer and Hemorrhoids 2007(6 Bölümüne katkı)

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı burslar
 Ödüller
 Projeleri
 Verdiği konferans ya da seminerler
 Katıldığı paneller (panelist olarak)

VIII- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri
 Organizasyonunda katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar
 Diğer üyelikleri