

Yüzme Egzersizi Yaptırılan Farelere Alfa-Lipoik Asit Uygulamasının Lipid Peroksidasyon, Kreatin Kinaz ve Laktat Düzeyleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Investigations of The Alpha-Lipoic Acid Administration on Lipid Peroxidation, Creatin Kinase and Lactate Levels of Mice Exposed to Swimming Exercise

Mürşit Ceyhun BİRİNCİ¹, Ali KARADENİZ²

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Yaşar Doğu Spor Bilimleri Fakültesi, Beden Eğitimi ve Spor Öğretmenliği Bölümü, Samsun, Türkiye

² Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji, Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

Özet

Amaç: Bu çalışmada, yüzme egzersizi yaptırılan farelere alfa-lipoik asit (ALA) uygulamasının lipid peroksidasyonu, kreatin kinaz ve laktat düzeyleri üzerine etkisi incelendi.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada 20-25 gram (gr) ağırlığında, 30 adet Swiss albino cinsi fare kullanıldı. Fareler kontrol, ALA-50 ve ALA-100 şeklinde her grupta 10 adet olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 10 gün boyunca intraperitoneal (i.p.) izotonik serum uygulandı. ALA gruplarına ise 10 gün boyunca i.p. yolla sırasıyla 50 ve 100 mg/kg konsantrasyonlarda ALA uygulandı. Onuncu günün sonunda fareler yüzme havuzlarına alınarak test edildi. Yüzme testi sonrası farelerin kas ve kan örnekleri alınarak biyokimyasal olarak incelendi.

Bulgular: Elde edilen veriler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ALA uygulanan grupların yüzme süresinde, GSH, GSH-Px ve SOD seviyelerinde artış, CK, LDH ve MDA değerlerinde ise azalma olduğu görüldü.

Sonuç: Sonuç olarak akut tüketici yüzme egzersizi yaptırılan farelerin kas dokusundaki hasarın varlığı biyokimyasal olarak tespit edildi. ALA uygulamalarının tüketici yüzme egzersizinin oluşturduğu oksidatif hasarın engellenmesinde ve kas yorgunluğunun geciktirilmesinde etkili olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Alfa lipoik asit, Fare, Kas, Oksidatif stres, Yüzme

Abstract

Objective: In this study, the effect of alpha-lipoic acid (ALA) administration on the lipid peroxidation, kreatin kinase and lactate levels in mice exposed to swimming exercise was examined.

Materials and Methods: In this study 30 adult Swiss albino mice weighing 20-25 g were used. The mice were divided into three groups as control, ALA-50 and ALA-100 each consisting of 10. The mice in control group received intraperitoneal (i.p) isotonic serum throughout 10 days. The ALA-50 and ALA-100 groups were given 50 and 100 mg/kg concentrated ALA, i.p. At the end of the 10th day, the mice were taken into the swimming pools and subjected to swimming test. After the swimming test, the muscles and blood samples of the mice were collected and analyzed biochemically.

Results: When the data obtained were compared with the control group, there was an increase at the swimming period, GSH, GSH-Px and SOD values, and a decrease at the levels of CK, LDH and MDA.

Conclusion: As a result, the presence of the damage in muscle tissues of the mice performed acute swimming exercise was biochemically detected. We believe that it will be possible to be able to preventing or delaying oxidative damage and muscle fatigue caused by strenuous swimming exercise by the administration of alpha lipoic acid.

Keywords: Alpha lipoic acid, Mouse, Muscle, Oxidative stress, Swim

Yazışma Adresi: Ali KARADENİZ, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Onikişubat, Kahramanmaraş, Türkiye

Telefon: 05055235868 **e-mail:** karadenizali@hotmail.com

ORCID No (Sırasıyla): 0000-0002-7258-1217, 0000-0002-0976-9380

Geliş tarihi: 28.02.2022

Kabul tarihi: 19.03.2022

DOI: 10.17517/ksutfd.1080134

GİRİŞ

İnsanlar fiziksel kuvvet ve dayanıklılığı artırmak, çeşitli vücut fonksiyonlarını iyileştirmek ya da varolan bozukluklarını düzeltmek için çeşitli bireysel egzersiz programları yapmaktadır (1). Günümüzde sağlık alanında çalışma yapan araştırmacıların büyük bir kısmı bazı özel hareketlerin hergün tekrar edilmesinin sağlık üzerine olumlu etkisinin olduğu konusunda fikir birliğine varmışlardır. Bu olumlu etkiler ya doğrudan organ ve sistemler üzerinde direkt oluşmakta ya da indirekt olarak bu hareketlerden kaynaklı duygusal/psşik durumun iyileşmesi sonucunda meydana gelmektedir (2,3).

Dış yörüngesinde bir veya birden fazla çiftlenmemiş elektron içeren, reaktivitesi yüksek, yarılanma ömürü kısa olan moleküllere serbest radikaller adı verilir. Hidroksil ($\bullet\text{OH}$), süperoksit (O_2^-), nitrik oksit (NO) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) önemli serbest radikallerdir (4,5). Organizmada serbest radikaller, normal metabolik süreç içerisindeki biyokimyasal reaksiyonlar sırasında meydana gelen maddeler olup hücrede pek çok fizyolojik olaylara aracılık ederler. Meydana gelen bu radikaller hücredeki mevcut antioksidan sistemler tarafından ortamda uzaklaştırılırlar (4). Normalde vücutta oluşan reaktif oksijen türleri ile antioksidan enzimler arasında kritik öneme sahip bir denge vardır (6). Bu denge serbest radikaller yönüne kayarsa, hücrede hasar veya ölüm bağı olarakta doku işlevlerinde bozukluk oluşur (7). Şiddetine ve süresine bağı olarak egzersiz hücredeki metabolik olayları ve oksijenin kullanımını artırarak serbest radikallerin oluşumunu hızlandırmaktadır Serbest radikal oluşum hızı antioksidan kapasiteyi aşarsa lipid peroksidasyon (LPO) adı verilen zincir reaksiyona neden olmaktadır (8,9).

Tiyol grubu bir antioksidan olan alfa lipoik asit (ALA) normalde fizyolojik sistemlerde bulunan bir mikromoleküldür (10). Bu moleküle yüksek reaktivite özelliğini katan şey onun okside olmuş ditiyolan hal-kasıdır. (11). Günlük olarak besinlerle yeteri miktarda alınmasına rağmen hücre mitokondrisinde de novo olarak da lipoik asit sentaz enzimi tarafından sentezlenmektedir (10).

Dışarıdan eksojen olarak verildiğinde ALA serbest radikalleri süpürücü, metaller ile şelasyon yapıcı, glutatyon enziminin, alfa tokoferolun ve askorbik asitin sentezi gibi pek çok antoksidan etkiler göstermektedir (12). Redükte formu olan dihidrolipoik asit (DH-LA)'nın antioksidan gücü ALA'dan daha fazladır (13). ALA'nın her iki formunda $\bullet\text{OH}$, singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) ve hipokloröz asit (HOCl)'i doğrudan temizler, H_2O_2 'i ise redükte eder. Oksidatif strese karşı uzun süreli fizyolojik dozlarda ALA alan kişilerde antioksidan savunmanın güçlendiği bildirilmiştir (14-16). Bildirilen bu

güçlü antioksidan özelliklerinden dolayı bu çalışmada, tüketici yüzme egzersizi yaptırılan farelere ALA uygulamasının iskelet kasında meydana getirdiği biyokimyasal değişiklikler incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Etik Kurul, Deney Hayvanları ve Gruplar

Bu çalışmaya ait bütün deneysel uygulamalar Atatürk Üniversitesinde bulunan Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi ile yine aynı üniversitenin Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamıza, Atatürk Üniversitesine ait Etik Kurulun 27.04.2011 tarih ve 2011.2.1/13 numaralı kararı ile onay belgesi alınmıştır.

Araştırma için Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma merkezi tarafından üretilen, ortalama ağırlığı 20-25 gr olan, 30 adet Swiss albino erişkin dişi fareler kullanıldı. Uygulamalar boyunca etik kurul şartları gözetilerek farelerin bakım ve beslemeleri sağlandı. Farelerin bakım, besleme ve barınmaları araştırma merkezinin 21 ± 2 °C'lik üretim odalarında ad libitum standart pelet tipi yem verilerek sağlandı.

Deneysel uygulamalara başlamadan önce fareler bireysel kafeslerine alındı ve 7 gün boyunca ayrıldıkları bu yeni ortama alışmaları sağlandı. Yedinci günün sonunda fareler herbirinde 10 adet fare bulunan 3 gruba ayrıldı. Gruplar ve uygulamalar şu şekildedir;

Kontrol: Bu gruptaki farelere 10 gün boyunca izotonik serum intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı.

ALA-50 mg/kg: Bu gruptaki farelere 10 gün boyunca 50 mg/kg konsantrasyonda ALA i.p. olarak uygulandı.

ALA-100 mg/kg: Bu gruptaki farelere 10 gün boyunca 100 mg/kg konsantrasyonda ALA i.p. olarak uygulandı.

Bütün gruplardaki fareler 10. günün sonunda bireysel olarak yüzme havuzlarına alınarak tüketici yüzme testi uygulandı.

Yüzdürme Testi

Kontrol ve deneme gruplarına ait farelerin yüzme testi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan 30 ± 1 °C'lik su sıcaklığı olan akvaryumda yapıldı. Bu test Zhao ve ark. (17)'nin bildirdikleri metoda uygun olarak gerçekleştirildi. Bildirilen bu teste göre farelerin kuyruklarına vücut ağırlıklarının %5'i oranında ağırlık bağlanarak havuza alındı. Devamında kronometre çalıştırılarak farelerin tükenene kadar yüzmesi beklendi. Farelerin yüzerken suya batması, devam eden 8 sn'lik içinde tekrar yüzeye dönmemesi ve su içinde hareketsiz kalması farede tükenme kriteri

olarak kabul edildi. Bu sırada kronometre durdurularak her fare için yüzme süresi tespit edildi.

Tükendiği tespit edilen fareler egzersiz sonrası havuzdan hemen alınıp anestezi edilerek ötenazi işlemi gerçekleştirildi. Gruptaki her hayvanın bir adet *M. gastrocnemius* kası ile kan örnekleri antikoagulanlı boş cam tüplere alındı. Biyokimyasal analizler için alınan kas dokuları izotonik salin ile yıkanıp kurutulmuş, kanlar ise serumları için 2000 devirde 5 dk santrifüj edildi. Elde edilen kas ve serum örnekleri -80°C'lik derin dondurucuda analiz edilinceye kadar saklandı.

Biyokimyasal Analizler

Analiz için dondurucudan çıkarılan kas örnekleri öncelikle tüplere konuldu. Tüplere konulan kasların üzerine daha sonra kendi tartı ağırlıklarının 10 katı Tris tamponu ilave edilerek homojenizatör ile parçalandı. Parçalanmış dokular daha sonra +4°C'lik buzdolabında beklemeye alındı. Vorteksleme yapıp devamında ultrasonik katör ile hücre membranlarının parçalanması sağlandı. Elde edilen süpernatantlar ependorf tüplere alındı. Ependorf tüpler yeniden 16000 devirde 30 dk santifürüj yapıldı, üstteki süpernatant mikropipet ile küçük ependoforlara alınarak biyokimyasal analizleri yapıldı. Elde edilen süpernatantlarda biyokimyasal olarak malondialdehit (MDA) (18), glutatyon (GSH) (19,20), süperoksit dismutaz (SOD) (21) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) (22) ve kreatin kinaz (CK) (23) analizleri ilgili referanslarda belirtilen protokollere uygun olarak yapıldı. Serum laktat dehidrogenaz (LDH) tayininde ise Mc Queen (24)'ün bildirdiği yöntem kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel olarak değerlendirmede elde edilen verilere SPSS 17.0 ile Varyans analizi Duncan testi uygulandı. Sonuçlar ortalama (X) ve standart sapma (S.D.) şeklinde verilirken önem derecesi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Makroskobik Bulgular

Tüketici yüzdürme egzersizi sonrası yapılan makroskobik incelemede hiçbir grupta herhangi bir patoloji tespit edilmedi. Akciğer, kalp, karaciğer ve böbrek gibi gözle görülebilen bütün organların rengi, kıvamı ve büyüklüğü normaldi. Üstelik bu organların üzerinde veya çevre dokularında herhangi bir yapışma veya apse benzeri patolojik bir durum gözlenmedi.

Yüzme süresi

Yüzme sürelerine bakıldığında, ALA'nın 50 ve 100 mg/kg'lık konsantrasyonlarının verildiği her iki gruptaki farelerin kontrol grubu farelere kıyasla daha uzun süre yüzdüğü tespit edildi ($p < 0.05$) (Tablo 1).

MDA, CK ve LDH

Sunulan çalışmada LPO'nun varlığını işaret eden olan MDA ile kas hücrelerindeki yıkımlanmanın bir göstergesi olarak kabul edilen CK ve LDH enzim düzeyleri sadece i.p. izotonik serum uygulanan kontrol grubunda önemli oranda artmıştı ($p < 0.05$). Bu artışla birlikte ALA'nın 50 ve 100 mg/kg'lık dozlarının uygulandığı gruplarda ise bu üç enzimin miktarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşüktü (Tablo 1).

GSH, GSH-Px ve SOD

Çalışmada iskelet kasında analizlerini yaptığımız antioksidan enzimlerin (GSH-Px, GSH ve SOD) düzeyi kontrol grubunda yine önemli oranda düşük olarak tespit edildi ($p < 0.05$). Ancak ALA'nın 50 ve 100 mg/kg'lık her iki dozunun uygulaması kasa ait bu üç antioksidan enzim seviyelerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede bir artışa neden olmuştur ($p < 0.05$) (Tablo 1).

Tablo 1. Kontrol ve deney gruplarına ait yüzme süresi, biyokimyasal sonuçlar ve yüzde değişim oranları

Gruplar	n	Yüzme süresi (sn)	MDA (nmol/g protein)	GSH (μ mol/mg protein)	GSH-Px (μ U/mg protein)	SOD (μ U/mg protein)	CK (U/mg protein)	LDH (mmol/L)
Kontrol	10	3200±150 ^a	47.25±4.20 ^a	2.75±0.50 ^a	4.25±0.50 ^a	0.98±0.09 ^a	1.15±0.10 ^a	70.30±6.50 ^a
ALA-50 mg/kg	10	4500±200 ^b % 40 ↑	35.30±5.50 ^b % 25 ↓	3.10±0.40 ^b % 12 ↑	5.80±0.30 ^b % 36 ↑	1.10±0.20 ^b % 12 ↑	0.85±0.07 ^b % 26 ↓	55.25±4.50 ^b % 21 ↓
ALA-100 mg/kg	10	6200±350 ^c % 93 ↑	20.50±5.20 ^c % 57 ↓	3.75±0.25 ^c % 36 ↑	7.10±0.40 ^c % 67 ↑	1.25±0.25 ^c % 27 ↑	0.70±0.10 ^c % 39 ↓	47.50±6.30 ^c % 32 ↓

a,b,c:Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasında istatistiksel önem vardır ($p < 0.05$). (X ± S.D.)

MDA: Malondialdehit, GSH: Glutatyon, GSH-Px: Glutatyon peroksidaz SOD: CK: Kreatin kinaz LDH: Laktat dehidrogenaz

TARTIŞMA

Güçlü bir egzersiz sırasında metabolik hız normalin 10, oksijen tüketimi ise 20 katına kadar yükselebilmektedir. Maksimum şiddette uzun süreli yapılan fiziksel bir egzersiz dokulara taşınan oksijenin miktarında ve dağılımında yine ciddi bozulmalara neden olmaktadır. Bu aksaklıklara bağlı olarak bir tarafta reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi de hızlı bir şekilde artmaktadır (9). Canlı organizmada serbest radikaller enerjetik, reaktif ve metabolik süreç adı verilen üç temel mekanizma ile oluşur. Bunlardan birisi olan metabolik reaksiyonlar sırasında oluşan yüksek reaktiviteye sahip ROS'lar hücrede hasara neden olur (25).

LPO, reaktif aldehid oluşumuna neden olarak ya da membran yapısını bozarak hücrede hasar meydana getirirler. Direkt hasar adıda verilen membran yapısının bozulmasında hücre membran geçirgenliğinde artış ile membranın iki tarafı arasındaki iyon dengesinde bozulmalar meydana gelir. İndirekt hasar denilen reaktif aldehid oluşumunda ise hücre membran yapısına katılan yapılar arasında çapraz bağ oluşumu ve polimerizasyon meydana gelir. Her iki durumun sonucu olarak hücre membran yapısında bozulma, iyon transportu ve enzim aktivitelerinde değişiklikler şekillenir (25,26).

Çalışmamızda yüzme egzersizinin neden olduğu hücre hasarın takibi LPO'nun son ürünü olan MDA düzeyinin ölçümü ile yapıldı. Çalışmamızda kontrol grubu farelerin MDA değerleri (47.25 ± 4.20 nmol/g), ALA uygulanan her iki grup ile karşılaştırıldığında önemli oranda yüksek olarak tespit edildi. MDA seviyesinin yüksek olarak bulunması egzersiz sırasında LPO'nun oluştuğunu ve kas hasarının buna bağlı olarak meydana geldiğini bildiren daha önceki çalışmaları destekleyen bir sonuçtur. Geçmişte yapılmış birçok çalışmada benzer sonuçlar bildirilmiştir. Örneğin Temiz ve ark. (27)'nin ratlarda, Semin ve ark. (28)'nin ise farelerde yaptıkları yorucu koşu egzersizleri sonrası iskelet kası ve böbrek dokularındaki LPO seviyelerini yüksek olarak bildirmişlerdir. Benzer şekilde Hara ve ark. (29) ratlarda yüzme egzersizi sonrası ölçülen karaciğer, kas ve beyin dokularındaki LPO düzeylerini oldukça yüksek bulmuşlardır.

Koruyucu olarak verdiğimiz ALA gruplarında ölçülen MDA değerleri (ALA-50 grubunda 35.30 ± 5.50 nmol/mg, ALA-100 grubunda 20.50 ± 5.20 nmol/mg) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında konsantrasyona bağlı olarak oldukça düşük olarak ölçüldü. Bu düşüşün muhtemel nedeni egzersiz sırasında meydana gelen radikallerin ALA'nın süpürücü etkisiyle ortadan kaldırılması olabilir. Sonuçlarımıza benzer olarak geçmişte yapılan pek çok çalışmada ALA uygulamalarının MDA seviyelerini önemli oranda düşürdüğü bildirilmiştir.

Örneğin; Khanna ve ark. (30) egzersiz öncesi ALA uygulamalarının egzersiz sonrası kalp, karaciğer ve gastrokinemius kasında (30), Almajed ve ark. (31) ise doksorubisin ile oluşturulan miyokard hasarındaki ALA uygulamalarının ilgili dokuları LPO'ya karşı koruduklarını tespit etmişlerdir. Lee ve ark. (32) gerbil beyin homojenatlarının bulunduğu in vitro ortama H_2O_2 ve FAS (ferrous ammonium sulfate) ilavesi ile oluşturdukları LPO miktarının ortama ilave edilen ALA'nın konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir. Bildirilen bu sonuçlar bize ALA'nın metalleri uzaklaştırması, H_2O_2 ve $\bullet OH$ gibi reaktif oksijen radikallerini temizleme potansiyeline sahip güçlü bir antioksidan ajan olduğunu düşündürmektedir (31).

Metabolik olaylar sonucu sürekli olarak meydana gelen serbest radikalleri organizmadaki mevcut antioksidan savunma sistemler tarafından ortadan kaldırılmaya çalışılır (33). Egzersiz sırasında açığa çıkan oksidan ve antioksidanların oranı egzersizin şiddetine bağlı olarak değişiklik gösterir. Bu oranın kritik sınırlar içerisinde tutulması hücre, organ ve son olarakta sistemlerin sürdürülebilir çalışmaları için oldukça önemlidir (9). Serbest oksijen radikallerinin ortamdaki uzaklaştırılmasında endojen enzimler (SOD, GSH-Px, GSH gibi) ve bazı özel vitaminler (Vitamin C, Vitamin E gibi) görev almakla birlikte eksojen antioksidanlara (ellagic asit, flavonoidler, beta karoten, likopen, resveretrol vb.) da ihtiyaç duyulmaktadır. Birçok hastalığın önlenmesi, geciktirilmesi ya da iyileştirilmesinde eksojen antioksidanlar oldukça yararlı olmaktadır (25).

Günlük olarak alınan meyve ve sebzelerde bolca bulunan antosiyaninler, fenolik asitler, flavanoller, flavonol ve tanin gibi bileşikler serbest radikallerin hücreler üzerine olan zararlı etkilerini sınırlayan güçlü antioksidanlardır. Antioksidan içeriği yüksek yiyeceklerin tüketiminin, diyabet, hipertansiyon ve kanser gibi bazı hastalıkların görülme sıklığını azaltmada etkili olduğu bilinmektedir (34). Antioksidan etki gücünün yüksek olduğu bilinen tiyol grubu kimyasal bileşiklerden birisi de ALA'dır (13). ALA eksojen olarak verildiğinde serbest radikalleri temizleyici, metalleri uzaklaştırıcı, vitamin E, vitamin C ve GSH'nin sentezi gibi bazı önemli antioksidan özellikler gösterir. ALA bu etkisini $\bullet OH$, HOCl ve 1O_2 radikallerini ortamdaki direkt uzaklaştırarak, H_2O_2 'i ise indirgeyerek gösterir (32).

Bu çalışmada, egzersizin neden olduğu oksidatif hasarın şiddeti ve hasarın engellenmesinde ALA'nın koruyuculuğunun kas dokusuna olan yansımaları antioksidan enzim düzeylerinin ölçümü ile araştırıldı. Bunun için çalışmadaki kontrol grubuna ait kaslarda ölçülen GSH seviyesi (2.75 ± 0.50 $\mu mol/mg$) oldukça düşüktü. GSH'daki bu düşüklüğe benzer olarak kas

dokusunda ölçülen GSH-Px seviyesi ($4.25 \pm 0.50 \mu\text{U}/\text{mg}$) ve SOD enzim aktivite değeri ($0.98 \pm 0.09 \mu\text{U}/\text{mg}$) de diğer iki grup ile karşılaştırıldığında oldukça düşük olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz bu veriler tüketici yüzme egzersizi sırasında fazlaca ROS oluşumuna ve bunların yıkımlanması için kastaki mevcut depolarda bulunan GSH, GSH-Px ve SOD enzimlerinin kullanılarak depoların tüketildiğine işaret etmektedir. Üstelik ortamda oluşan H_2O_2 'nin SOD üzerindeki direk yıkımlayıcı etkisi veya süperoksit radikallerinin dismutasyonu sırasında SOD enzimin aşırı kullanılması SOD seviyesindeki azalmanın bir nedeni olarak ileri sürülmektedir (33,34).

Çalışmamızda kullandığımız ALA'nın her iki dozu bu gruplara ait kasların GSH, GSH-Px ve SOD enzim düzeylerinde artışa neden olmuştur. Bu değerler sırasıyla ALA-50 grubu için $3.10 \pm 0.40 \mu\text{mol}/\text{mg}$, $5.80 \pm 0.30 \mu\text{U}/\text{mg}$ ve $1.10 \pm 0.20 \mu\text{U}/\text{mg}$, ALA-100 grubu için ise $3.75 \pm 0.25 \mu\text{mol}/\text{mg}$, $7.10 \pm 0.40 \mu\text{U}/\text{mg}$ ve $1.25 \pm 0.25 \mu\text{U}/\text{mg}$ 'dir. Bu durum ALA uygulanan farelerin yüzme sürelerine (ALA-50 grubu 4500 ± 200 sn, ALA-100 grubu 6200 ± 350 sn) de yansımakta olup kontrol grubuna (3200 ± 150 sn) oranla daha uzun süre yüzdükleri görülmüştür. Elde edilen sonuçlar ALA uygulamalarının dokularda antioksidan düzeyleri artırdığına ilişkin daha önce yapılmış yayınların sonuçları ile uyumluydu. Örneğin Kim ve ark. (2018), sisplatin ile ototoksitesite geliştirdikleri ratlarda kohlear LPO düzeyinde artış, GSH düzeyinde ise azalma olduğunu bildirilmiştir. Ancak i.p. ALA uygulaması yapılan ratlarda sisplatinin kohleada neden olduğu LPO artışı ve GSH azalışının engellendiği bildirilmiştir (35). Yine ratlarda andriamisin ile oluşturulan testiküler mitokondriopatide (36) ve epididimal spermelerde siklofosfamidin neden olduğu LPO artışında (37) i.p uygulanan ALA mitokondri ve spermelerdeki GSH düzeylerinde önemli bir artışa neden olmuştur.

Doku hasarı varlığının tespitinde yaygın olarak kullanılan enzimlerin başında CK ve LDH gelmektedir. Normalde hücre içi olarak bulunan bu enzimler hücrede hasar oluştuğunda önce hücreler arasına, oradan da dolaşıma aktarılarak kandaki seviyeleri arttır (16,30). Bu enzimlerin kas dışında çeşitli organ ve hücrelere özgü alt tipleri bulunmakla birlikte sunulan bu çalışmada bu enzimlerin total seviyeleri ölçüldü. Çalışmamızda her iki enzimin seviyesi kontrol grubunda (sırasıyla $1.15 \pm 0.10 \text{ U}/\text{mg}$, $70.30 \pm 6.50 \text{ mmol}/\text{L}$) oldukça yüksekti. Bu sonuçlar farelerde yüzme sırasında oluşan kas hasarının şiddetli olduğuna işaret etmektedir. Kontrol grubunda tespit edilen yüksek seviyelere oranla ALA uygulanan grupların hem CK (ALA-50 grubu $0.85 \pm 0.07 \text{ U}/\text{mg}$, ALA-100 grubu $0.70 \pm 0.10 \text{ U}/\text{mg}$) enzimi, hem de LDH (ALA-50 grubu 55.25 ± 4.50

mmol/L , ALA-100 grubu $47.50 \pm 6.30 \text{ mmol}/\text{L}$) enzim düzeylerinde ALA'nın dozuna bağlı olarak önemli bir azalma meydana gelmiştir. Bütün bu sonuçlar bize farelere yüzme öncesi uygulanan ALA'nın kas hücrelerindeki antioksidan kapasiteyi artırdığını; buna bağlı olarak hücrelerde membran bütünlüğünün korunduğunu, ve yüzme sırasında oluşan ROS'lara ve bunların neden olacağı hasarlara karşı hücreyi koruduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızın sonucunda elde edilen bulgular farelere eksojen ALA uygulamasının egzersize bağlı iskelet kasındaki LPO oluşumunu azalttığını göstermiştir. Ayrıca ALA uygulamalarının kas dokusundaki antioksidan enzim seviyelerini artırarak olumlu bir etki de yapmıştır. Sonuç olarak normal bir seviyede egzersizler öncesi ALA alımının yüzmede olduğu gibi diğer spor dallarında meydana gelecek oksidatif kas hasarlarını engelleyebileceği ve bununda sporcu performansları üzerine olumlu bir etki yapabileceği kanısına varıldı.

Etik Onam: Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 27.04.2011 tarih ve 2011.2.1/13 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması ve Finansman Beyanı: Bu çalışmada yazarlar arası çıkar çatışması yoktur ve herhangi bir finansman desteği alınmamıştır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti: Bu çalışmada araştırmacılar eşit oranda katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

1. Kin A. Step ve Aerobik Dansın Üniversiteli Bayanların Fizyolojik Parametrelerine Etkisinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi; Ankara: ODTÜ, 1996.
2. Baltacı Kasım A. Çocuklarda yüzme egzersizinin solunum parametrelerine etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi; Konya: Selçuk Üniversitesi, 1990.
3. Stanford D, Stanforth PR, Velasquez KS. Aerobic Requirement of bench stepping. *Int. J. Sports Med.* 1993;14:129-133.
4. Turanlıv AY. Deri Yaşlanmasında Serbest Radikallerin Yeri, 3. Uludağ Dermatkozmetoloji Günleri Sempozyumu, 2005:100-106.
5. Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS et al. Oxidative stress in human pathology and aging: molecular mechanisms and perspectives. *Cells.* 2022;11(3):552.
6. Barghi N, Bambaiechi E, Rezaei-Tavirani M, Khaleidi N. Aerobic exercises induce antioxidant pathways activation in rats. *Int J Prev Med.* 2020;11:144.
7. Öztürkcan S, Kayhan TÇ. Deri yaşlanmasına karşı medikal önlemler, *Dermatoz* 2010;1:77-82.
8. Lu Y, Wiltshire HD, Baker JS, Wang Q. Effects of high intensity exercise on oxidative stress and antioxidant status in untrained humans: A Systematic Review. *Biology (Basel).* 2021;10(12):1272.
9. Pala R, Beyaz F, Tuzcu M, Er B, Sahin N, Cinar V ve ark. The effects of coenzyme Q10 on oxidative stress and heat shock proteins in rats subjected to acute and chronic exercise. *J. Exerc. Nutrition Biochem.* 2018;22(3):14-20.

10. Liang JF, Akaike T. Inhibition of nitric oxide synthesis in primary cultured Mouse hepatocytes by α -lipoic acid. *Chem. Biol. Interact.* 2000; 124:53-60.
11. St Clair D, Zhao Y, Chaiswing L, Oberley T. Modulation of skin tumorigenesis by SOD. *Biomed. Pharmacother.* 2005;59:209-214.
12. Salehi B, Berkay Yılmaz Y, Antika G, Boyunegmez Tümer T et al. Insights on the Use of α -Lipoic Acid for Therapeutic Purposes. *Biomolecules.* 2019;9(8):356.
13. Çakatay U. Pro-oxidant actions of α -lipoic acid and dihydro-lipoic acid. *Med. Hypotheses.* 2006;66:110-117.
14. Ji LL, Yeo D. Oxidative stress: an evolving definition. *Fac Rev.* 2021;10:13.
15. Podyacheva EY, Kushnareva EA, Karpov AA, Toropova YG. Analysis of Models of Doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats and mice. A modern view from the perspective of the pathophysiolgist and the clinician. *Front Pharmacol.* 2021;12:670479.
16. Greathouse KL, Samuels M, DiMarco NM, Criswell DS. Effects of increased dietary fat and exercise on skeletal muscle lipid peroxidation and antioxidant capacity in male rats. *Eur J Nutr.* 2005;44(7):429-435.
17. Zhaobao W, Bing Y. *Gastrodia elata* Blume extract ameliorates exercise induced fatigue. *Afr. J. Biotechnol.* 2010;9:5978-5982.
18. Karakoç A. Paraoksonaz polimorfizmleri ile tip 2 diabetin makro ve mikrovasküler komplikasyonları arasındaki ilişkinin araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilimdalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2008.
19. Tietze F. Enzymatic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues. *Anal. Biochem.* 1969;27:502-522.
20. Fairbans VE, Klee GG. Biochemical aspects of hematology. In: CoA. Burtis and ER Ashwood, Editors, *Tietz Textbook of clinical Chemistry*, Saunders, Philadelphia. 1999: 1991-2106.
21. Alp HH. Hiper ve Hipotiroidili Hastalarda Homosistein S-Adenozilmetiyonin ve Antioksidan Düzeyleri. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2005.
22. Paglia DE, Valentina WN. Studies on the quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 1967;70:158-169.
23. Yavaş ID, Zengin M, Kaklıkaya İ, Uzun Z, Değer O, Özcan F ve ark. Serbest oksijen radikal temizleyici olarak aprotinin'in rolü, Türk Göğüs Kalp Damar Cer. Derg. 1994;2:208-215.
24. Mc Queen MJ. Optimal Assay of LDH and α -HBD at 37 °C. *Ann. Clin. Biochem.* 1972;9(1-6):21-25.
25. Yılmaz İ. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2010;17:143-153.
26. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am. J. Clin. Nutr.* 1993; 57: 715-725.
27. Temiz A, Baskurt OK, Pekçetin C, Kandemir F, Güre A. Leukocyte activation, oxidant stress and red blood cell properties after acute, exhausting exercise in rats. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2000;22:253-259.
28. Semin I, Kayatekin BM, Gönenç S, Açıkgöz E, Uysal N, Delen Y et al. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels of intestinal and muscle tissues after a 60 minutes exercise in tarined mice, *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 2000;44:419-427.
29. Hara M, Ligo M, Othani-Kaneko R, Nakamura N, Suzuki T, Reiter RJ et al. Administration of melatonin and related indoles prevents exercise-induced cellular oxidative changes in rats. *Biol. Signals Recept.* 1997;6:90-100.
30. Khanna S, Atalay M, Laaksonen DE, Gül M, Roy S, Sen CK. Alpha-lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise. *J. Appl. Physiol.* 1999;86:1191-1196.
31. Al-Majed AA, Gado AM, Al-Shabanah OA, Mansour MA. Alpha-Lipoic acid ameliorates myocardial toxicity induced by doxorubicin. *Pharmacol. Res.* 2002;46:499-503.
32. Lee SR, Im KJ, Suh SI, Jung JG. Protective effect of green tea polyphenol (-) epigallocatechin gallate and other antioxidants on lipid peroxidation in gerbil brain homogenates. *Phytother. Res.* 2003;17:206-209.
33. Gök V, Kayacıer A, Telli R. Hayvansal ve mikrobiyal kaynaklı antioksidanlar. *Gıda Tek. Elektronik Derg.* 2006;2:35-40.
34. Güleşçi N, Aygül İ. Beslenmede yer alan antioksidan ve fenolik madde içerenli çerezler. *GUJHS.* 2016;5(1):109-129.
35. Kim KH, Lee B, Kim YR, Kim MA, Ryu N, Jung DJ, Kim UK et al. Evaluating protective and therapeutic effects of alpha-lipoic acid on cisplatin-induced ototoxicity. *Cell Death Dis.* 2018;1;9(8):827.
36. Prahalathan C, Selvakumar E, Varalakshmi P. Lipoic acid ameliorates adriamycin induced testicular mitochondriopathy. *Reprod Toxicol.* 2005;20:111-116.
37. Selvakumar E, Prahalathan C, Sudharsan PT, Varalakshmi P. Chemoprotective effect of lipoic acid against cyclophosphamide-induced changes in the rat sperm. *J. Toxicol.* 2006;217:71-78.