

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



OVEREKTOMİZE SIÇANLARDA
RESVERATROL UYGULAMASI VE YÜZME
EGZERSİZİNİN KALSİYUM VE KEMİK
METABOLİZMASI ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Ubeyde GÜLNAR


2018

ONAY SAYFASI


Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü


Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.


Prof. Dr. Cengiz ARSLAN

Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof.Dr.Vedat ÇINAR


Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof.Dr.Vedat ÇINAR

Doç.Dr.Ragıp PALA

Dr.Öğr.Üyesi.Kürşat Yusuf AYTAC

Dr.Öğr.Üyesi.Aykut DÜNDAR

Dr.Öğr.Üyesi.Fatih Mehmet UĞURLU



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Ubeyde GÜLNAR

10.07.2018

İmza

ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

“Overektomize Sıçanlarda Resveratrol Uygulaması ve Yüzme Egzersizinin Kalsiyum ve Kemik Metabolizması Üzerine Etkisi” isimli doktora tez çalışmamda; Fırat Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi Beden Eğitimi ve Spor Öğretmenliği Bölüm Başkanı ve danışmanım Sayın Prof.Dr. Vedat ÇINAR’a, çalışma süreci boyunca her zaman desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Abdulkerim Kasım BALTACI ve Sayın Prof.Dr. Rasim MOĞULKAÇ’a, Selçuk Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Prof.Dr. Süleyman PATLAR’a, yine tezin uygulama aşamasında yardımları olan Fırat Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesinde görevli Arş. Gör. Taner AKBULUT’a ve Arş. Gör. M. Emre KARAMAN’a teşekkürü bir borç bilirim. Doktora eğitimimin başından sonuna kadar yanımda olan ve kendilerine ait olan zamanımdan fedakârlık eden kıymetli eşim Elife GÜLNAR’a, kızım Halenur ve oğlum Muhammed Erdem GÜLNAR’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ONAY SAYFASI	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	4
3. GİRİŞ	7
3.1. Resveratrol	8
3.1.1. Resveratrolün Metabolizması	9
3.1.2. Resveratrol'ün Antioksidan Etkileri	10
3.1.3. Resveratrolün Biyolojik Etkileri	11
3.1.4. Resveratrol ve Egzersiz	11
3.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	12
3.2.1. Malondialdehid (MDA)	15
3.2.2. Süperoksit radikali	16
3.3.3. Hidroksil radikali	16
3.3.4. Hidrojen peroksit	16
3.3.5. Egzersiz ve Serbest Radikaller	16
3.3.6. Antioksidan Sistem (Antioksidanlar)	18

3.3.7.	Enzimatik Antioksidanlar Süperoksit Dismutaz (SOD)	18
3.3.8.	Katalaz (CAT)	19
3.3.9.	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	19
3.3.10.	Glutasyon (GSH)	20
3.3.11.	Egzersiz ve antioksidanlar	20
3.4.	Kemik	21
3.4.1.	Kemik Doku Hücreleri	22
3.4.2.	Kemik Biyokimyası	25
3.4.3.	Kemik yapım markırları	26
3.4.3.1.	Alkalen fosfataz	26
3.4.3.2.	Osteokalsin	27
3.4.4.	Kemik Yıkım Markırları	28
3.4.4.1.	Hidroksiprolin	28
3.4.4.2.	Pridinolin	29
3.5.	Kemik Mineral Yapısı	29
3.5.1.	Kalsiyum	30
3.5.2.	Fosfor (P)	30
3.5.3.	Magnezyum (Mg)	31
3.5.4.	Demir (Fe)	31
3.5.5.	Bakır (Cu)	32
3.5.6.	Çinko (Zn)	33
3.5.7.	Selenyum (Se)	34
3.6.	Egzersizin Kemik Yoğunluğu Üzerine Etkisi	34
3.7.	Beslenmenin Kemik Yoğunluğu Üzerine Etkisi	36

3.8.	Kalsiyum (Ca)	37
3.8.1.	Kalsiyum Metabolizması	38
3.8.2.	Kalsiyum ve Egzersiz	39
4.	GEREÇ VE YÖNTEM	41
4.1.	Çalışma Protokolü	41
4.2.	Araştırma Grupları	41
4.3.	Overektomi	42
4.4.	Uygulanacak Yüzme Egzersizi	43
4.5.	Analizler	43
4.5.1.	Serum'da Element Analizleri	43
4.5.1.1.	Serumda kemik yapım ve yıkımıyla parametrelerin analizi	43
4.6.1.	Serum Serbest Radikal ve Antioksidan Parametrelerinin Tayini	44
4.6.1.1.	Serum Malondialdehid (MDA) Düzeylerinin Belirlenmesi	44
4.6.1.2.	Serum Glutasyon Analizi	44
4.7.	İstatistiksel Analizler	45
5.	BULGULAR	46
6.	TARTIŞMA	51
7.	KAYNAKLAR	61
8.	EKLER	77
Ek 1.	Etik Kurul Kararı	77
9.	ÖZGEÇMİŞ	78

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Resveratrol'ün cis ve trans izoformları	9
Şekil 2. Kemik doku hücreleri	22



TABLULAR LİSTESİ**Sayfa No**

Tablo 1.	Araştırma Gruplarının Serum MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	46
Tablo 2.	Araştırma Gruplarının Serum Demir, Magnezyum ve Bakır Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	47
Tablo 3.	Araştırma Gruplarının Grupların Serum Çinko, Selenyum, Kalsiyum ve Fosfor Düzeylerinin Karşılaştırılması	48
Tablo 4.	Araştırma Gruplarının Grupların Serum Alkalen Fosfataz, Hidroksipirolin, Osteokalsin ve Pridinolin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

RES	: Resveratrol
SIRT1	: Sessiz Bilgi Düzenleyicileri
LDL	: Low Density Lipoprotein
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
NO	: Nitrik Oksit
NO₂	: Nitrojen Dioksit
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
MDA	: Malondialdehid
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
GSH	: Glutasyon
DKK	: Doruk Kemik Kütlesi
PTH	: Parathormon

ALP : Alkalen fosfataz

OP : Osteoporoz

PYD : Pridinolin

HYP : Hidroksipirolin

OC : Osteokalsin

Ca : Kalsiyum

P : Fosfor

Mg : Magnezyum

Fe : Demir

Cu : Bakır

Zn : Çinko

Mn : Manganez

Se : Selenyum

1. ÖZET

Overektomize Sıçanlarda Resveratrol Uygulaması ve Yüzme Egzersizinin Kalsiyum ve Kemik Metabolizması Üzerine Etkisi

Bu çalışmanın amacı; Overektomize Sıçanlarda Resveratrol Uygulaması ve Yüzme Egzersizinin Kalsiyum ve Kemik Metabolizmasını nasıl etkilediğinin araştırılmasıdır.

Çalışma F.Ü. Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen Spraque–Dawley cinsi 56 adet erişkin dişi sıçan üzerinde aynı merkezde gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan deney hayvanları 8 gruba ayrıldı.

Dört hafta devam eden çalışmadan sonra hayvanların hepsinden sabah 09:00-10:00 saatleri arasında dekapitasyonla gerekli analizlerde kullanılmak üzere kan örnekleri alınarak analiz zamanına kadar kan örnekleri -80 oC’de muhafaza edilmiştir.

Alınan kan örneklerinde kalsiyum, magnezyum, mangan, demir, bakır, çinko, fosfor ve selenyum düzeyleri atomik emisyon cihazında tayin edilmiştir. Kemik yapımıyla ilişkili olarak Alkalen Fosfataz, Osteokalsin düzeyleri, Kemik yıkımıyla ilişkili olarak da Hidroksi pirolin ve pridinolin düzeyleri tayin edilmiştir. Serum MDA düzeyinin belirlenmesi Uchiyama ve Mihara yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Sonuç mg/g olarak tanımlanmıştır. Örneklerin GSH miktarları Ellman’s metoduyla ölçülmüştür.

Gerçekleştirilen çalışmada grupların serum MDA düzeyleri karşılaştırıldığında, grup 2, grup 5 ve grup 6’nın diğer gruplara göre önemli

düzeyde yüksek MDA düzeylerine sahip olduğu görüldü ($P<0,05$). Grup 1, grup 3, grup 4, grup 7 ve grup 8'in MDA düzeyleri ise birbirine benzemekle ($P>0,05$) birlikte diğer gruplardan önemli düzeyde düşük olarak belirlendi ($P<0,05$). Çalışmada grupların serum GSH düzeyleri incelendiğinde, grup 4, grup 7 ve grup 8'in diğer gruplara göre önemli düzeyde yüksek GSH düzeylerine sahip olduğu tespit edildi ($P<0,05$). Grup 2, grup 5 ve grup 6 serum GSH düzeylerinin ise önemli düzeyde düşük olduğu görüldü ($P<0,05$). Grup 1 ve grup 3 GSH düzeylerinin de grup 2, grup 5 ve grup 6'dan önemli şekilde yüksek olduğu belirlendi ($P<0,05$).

Gerçekleştirilen çalışmada, tüm grupların serum demir ve magnezyum düzeyleri arasında önemli bir fark tespit edilmedi ($P>0,05$). Çalışmada grupların serum bakır düzeyleri karşılaştırıldığında, en yüksek bakır düzeyi grup 6'da elde edildi ($p<0,05$). En düşük serum bakır düzeyleri ise grup 2, 3 ve 4'te tespit edildi. Çalışmada grup 1, 5, 7 ve 8'in serum düzeyleri ise birbirine benzerdi ($P<0,05$).

Gerçekleştirilen çalışmada, tüm grupların serum selenyum düzeyleri arasında önemli bir fark tespit edilmedi ($P>0,05$). Gerçekleştirilen çalışmada, en yüksek serum çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri, grup 5 ve 6'da elde edildi ($P<0,05$). En düşük serum çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri ise grup 1, 3, 7 ve 8'de tespit edildi ($P<0,05$). Grup 2 ve 4'ün serum çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri ise birbirine benzerdi ($P>0,05$).

Gerçekleştirilen çalışmada, grup 5 ve grup 6'nın serum alkaline phosphatase ve osteocalcine düzeyleri önemli şekilde diğer gruplardan düşüktü ($P<0,05$). En yüksek alkaline phosphatase ve osteocalcine düzeyleri ise grup 7 ve 8'de elde edildi ($P<0,05$). Diğer grupların serum alkaline phosphatase ve

osteocalcine düzeyleri ise birbirine benzerdi ($P>0,05$). Çalışmada en yüksek serum hidroxyproline ve pyridinoline düzeyi grup 5 ve 6'da elde edildi ($P<0,05$). En düşük alkaline phosphatase ve osteocalcine düzeyleri ise grup 7 ve 8' de elde edildi ($P<0,05$). Diğer tüm grupların serum Osteocalcine düzeyleri ise farklı değildi ($P>0,05$).

Sonuç olarak; Overektomize, egzersiz yaptırılan overektomize ve sadece egzersiz yaptırılan sıçanlarda artan serbest radikal üretimi ve dolayısıyla doku hasarı resveratrol desteğiyle önlenebileceği sonucuna varılmıştır

Yine çalışmamızda overektomize, egzersiz yaptırılan overektomize sıçanlarda kemik yıkımına bağlı olarak arttığı düşünülen çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri resveratrol desteğiyle kontrol değerlerine yaklaştığı görülmüştür.

Çalışma sonuçlarına göre; overektomize, egzersiz yaptırılan overektomize sıçanlarda artan kemik yıkımını gösteren belirteçlerin resveratrol desteğiyle baskılanması resveratrolün kemik kayıplarını önlediğini göstermektedir.

Çalışmamızın vurgulanması gereken en önemli sonucu; resveratrol desteğinin ovaryumları alınmış sıçanlarda kemik dokudaki kayıpları önlediğinin sonucuna varılmasıdır.

Anahtar Kelimeler: Egzersiz, Kemik, Element Metabolizması, Overektomi, Resveratrol, Serbest Radikaller

2. SUMMARY

The Effect of Resveratrol Application and Swimming Exercise on Calcium and Bone Metabolism in Ovariectomized Rats

The purpose of this study is; Resveratrol application in ovariectomized rats and investigation of how swimming exercise affects calcium and bone metabolism.

Study F. Ü. A total of 56 adult female Sprague-Dawley rats were obtained from the Center for Experimental Medicine Research and Implementation at the same center. The experimental animals used in the study were divided into 8 groups.

Blood samples were collected from all animals for decades between 09:00 and 10:00 hours and then kept at -80°C until analysis.

Calcium, magnesium, manganese, iron, copper, zinc, phosphorus and selenium levels were determined in the blood samples of the receiver. Alkaline phosphatase, osteocalcin levels in relation to bone formation, and hydroxy pyrroline and pyridinoline levels in relation to bone destruction have been determined. Determination of serum MDA levels was performed by Uchiyama and Mihara methods. The result is expressed in mg / g. The GSH amounts of the samples were measured by Ellman's method.

When the serum MDA levels of the groups were compared, it was seen that group 2, group 5 and group 6 had significantly higher levels of MDA than the other groups ($P < 0,05$). MDA levels of group 1, group 3, group 4, group 7 and

group 8 were similar ($P > 0.05$) were significantly lower than the other groups ($P < 0.05$). When the serum GSH levels of the study groups were examined, it was found that group 4, group 7 and group 8 had significantly higher GSH levels than the other groups ($P < 0.05$). Group 2, group 5 and group 6 serum GSH levels were found to be significantly lower ($P < 0.05$). Group 1 and group 3 GSH levels were significantly higher than group 2, group 5 and group 6 ($P < 0.05$).

There was no significant difference between serum iron and magnesium levels in all groups ($P > 0.05$). When the serum copper levels of the groups were compared in study, the highest copper level was obtained in group 6 ($p < 0,05$). The lowest serum copper levels were found in groups 2, 3 and 4'. Serum levels of groups 1, 5, 7 and 8 were similar in the study ($P < 0.05$).

There was no significant difference between the serum selenium levels of all groups in the study ($P > 0.05$). In the study performed, the highest serum zinc, calcium and phosphorus levels were obtained in groups 5 and 6 ($P < 0.05$). The lowest serum zinc, calcium and phosphorus levels were detected in groups 1, 3, 7 and 8 ($P < 0.05$). Serum zinc, calcium and phosphorus levels in groups 2 and 4 were similar ($P > 0.05$).

In the study, serum alkaline phosphatase and osteocalcine levels of group 5 and 6 were significantly lower than the other groups ($P < 0.05$). The highest alkaline phosphatase and osteocalcine levels were obtained in groups 7 and 8 ($P < 0.05$). Serum alkaline phosphatase and osteocalcine levels of the other groups were similar ($P > 0.05$). The highest serum hydroxyproline and pyridinoline levels in the study were obtained in groups 5 and 6 ($P < 0.05$). The lowest alkaline

phosphatase and osteocalcine levels were obtained in groups 7 and 8 ($P < 0.05$). Serum osteocalcine levels of all other groups were not different ($P > 0.05$).

As a result; Overactomized, exercise-induced ovariectomy and increased free radical production only in exercise-treated rats and thus tissue damage can be prevented with resveratrol support

In our study, zinc, calcium and phosphorus levels, which are thought to increase due to bone destruction in ovariectomized, exercise-induced osteotomized rats, were found to approach control values with the support of resveratrol.

According to the study results; suppression of markers showing increased bone resorption in ovariectomized, exercise-induced ovariectomized rats with resveratrol support suggests resveratrol inhibits bone loss.

The most important result that our work should be emphasized is; resveratrol support is the conclusion of osteoporosis in rats that have lost bone tissue losses.

Keywords: Exercise, Bone, Element Metabolism, Overectomy, Resveratrol, Free Radicals

3. GİRİŞ

Günümüzde spor ve egzersiz ansiklopedik anlamından ayrı olarak daha geniş kapsamlı tanımıyla “kişinin sağlık durumunu iyileştiren ve bu iyi durumu devam ettiren hareketler bütünü” şeklinde ifade edilmektedir (1). Koruyucu rolünden ayrı olarak egzersiz ve spor bir tedavi aracı olarak da değer kazanmaktadır (2). Araştırmacılar genelde beslenme, fiziksel gelişme ve performansı devam ettirme arasındaki ilişki üzerinde durmaktadır. Konu ile ilgili yapılan araştırmalarda fiziksel aktivite ile beslenme arasındaki ilişkiyi ortaya koyabilmek için iki yöntem sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi; fiziksel aktiviteye katılanlara farklı içerikli besinsel takviyeler vererek fizyolojik değişiklikleri incelemek, ikincisi ise fiziksel aktivitenin metabolizma üzerindeki etkilerini tespit etmektir (3).

Canlıların yapısında rol alan elementlerin sayısı bugün için doksanın üzerindedir. Esansiyel elementler, eser elementler ile major veya makro elementler olarak ayrılmaktadır. Elementler dokularda çok küçük miktarlarda bulunan, dokunun yaş ağırlığının 1 gramına pikogramdan mikrograma kadar değişen oranlarda bulunmalarına rağmen, hayat için gerekli ve önemli elementlerdir (4).

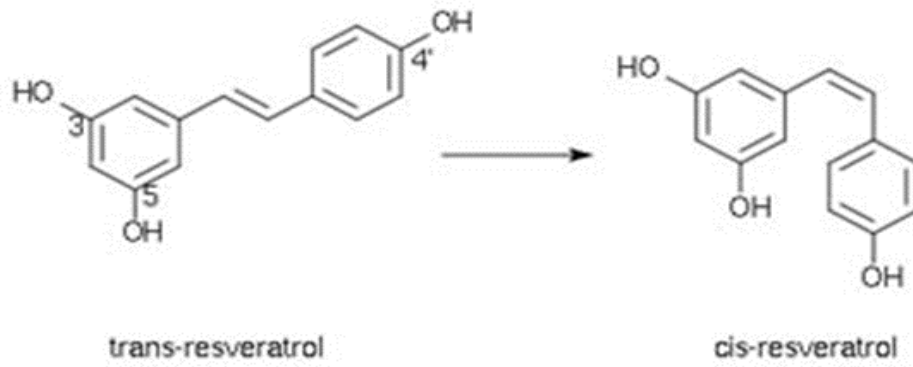
Resveratrol koroner damarları genişleten, ventriküler aritmiyi azaltan, trombosit agregasyonunu ve düz kas proliferasyonunu inhibe eden ve bununla birlikte glikoz metabolizmasını iyileştirerek, lipit profilini düzelter ve kalp-damar hastalıklarında koruyucu olarak önemli roller üstlenmektedir. Ayrıca yaşlanmada, Alzheimer hastalığında, diabetes mellitusun komplikasyonlarının önlenmesinde,

inflamatuvar hastalıklarda ve kanserde etkili olduğu düşünülmektedir. RES bu etkisini farklı mekanizmalarla ortaya koyar. Serbest radikalleri yok ederek, metal iyonlarını bağlayarak ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırarak antioksidan bir potansiyel göstermektedir (5). Metabolizma üzerinde destekleyici etkiler oluşturduğu düşünülen resveratrol son dönemde ilgi çeken bir takviye gıda ürünüdür.

Bu bilgiler ışığında, son zamanlarda egzersiz ile beslenme arasındaki ilişkinin araştırılması konusuna ilgi artmıştır.

3.1. Resveratrol

Polifenoller, bitkiler tarafından sentezlenen ve savunmadan tozlaşmaya kadar geniş bir yelpazedeki işlevlere sahip olan bileşiklerdir. Son zamanlarda, bu bileşikler tıbbi araştırmalara olan ilginin artmasına neden olmuştur. Bu grupta en çok değerlendirilen polifenol, üzüm ve çileklerde (3,5,4-trihidroksi-stilben) bulunan resveratrol (RES) olmuştur (6). Üzümlerde, kırmızı şarapta dahil olmak üzere çeşitli yiyecek ve içecekler bulunur (7). RES, farklı stres koşullarına ve enfeksiyonlara yanıt olarak bitkiler tarafından üretilir (8). 50-100 µg / g ıslak ağırlık RES (9) içeren taze üzüm kabuğu ile birlikte çilek, üzüm, fıstık ve çam gibi çeşitli bitki türlerinde bulunur; kimyasal olarak, steroid olmayan bir bileşik ($C_{14}H_{12}O_3$) olan RES, östrojen benzeri bir biyolojik aktivite gösterir. Resveratrol'ün trans ve cis şekilleri bulunur.



Şekil 1. Resveratrol'ün cis ve trans izoformları

Ağızdan alınan RES'in emilimi diğer bilinen polifenoller quercetin ve katekinden daha etkilidir (10). Son zamanlarda RES'in (anti-diyabetik, oksidatif, iltihaplı, kanserli ve asemptomatik ağrı kesici) sayısız farmakolojik aktivitesi, in vitro ve in vivo çalışmalarla aydınlatılmıştır (8). Ayrıca RES, genlerin önemli bir aktivatörüdür (11). RES, sessiz bilgi düzenleyicileri'nin (SIRT1) sinyal yolunu aktive ederek ve dolayısıyla mitokondriyal fonksiyonu takviye ederek enerji kullanımını artırır. Metabolizmanın, kanserin, yaşlanmanın ve uzun ömürlülüğün önemli regülatörleri olan SIRT'ler, stresle bağlantılı sinyal iletim yolları ile anlamlı derecede ilişkilidir (12).

3.1.1. Resveratrolün Metabolizması

Sağlıklı bireyler tarafından tüketildiğinde, düşük biyoyararlanımı olan RES, 30-60 dk içinde plazmada en üst düzeye ulaşır (13) ve kalp, karaciğer ve böbrekler gibi organlarda birikir (10). Sıçanlara uygulanan RES böbrekler ve plazmada 60, kalp kasında 120, karaciğerde ise 30 dakikada maksimum yoğunluğa ulaşır (14). Buna ek olarak, RES, karaciğer mikrosomlarındaki glukuronidasyon reaksiyonu ile modifiye edilir. Hızla absorbe olan ve dokulara

aktarılan RES, öncelikle idrarla atılır (15). RES'un çoğunluğu jejunum tarafından absorbe edilir ve daha az miktarda ileum ile emilir (16).

Boşaltma süresi, RES'un plazma yoğunluğuna bağlıdır. Bununla birlikte, üretilen miktar ile atılan miktar arasında bir korelasyon bulunmamaktadır. İdrarda özellikle az miktarda glikosile edilmemiş RES bulunur. Böbreklerde ağırlıklı olarak doğal formunda bulunmasına rağmen, idrar esas olarak konjuge formunu içerir (16).

3.1.2. Resveratrol'ün Antioksidan Etkileri

Oral olarak alınan resveratrol'ün vitamin E, vitamin C ve glutatyon gibi önemli antioksidanlara göre hücredeki miktarı daha azdır. RES'in Low density lipoprotein (LDL) oksitlenmesini önlediği, serbest oksijen radikalleri ile diğer oksidan molekülleri temizlediği rapor edilmiştir (17).

LDL oksidasyonu sırasında doymamış yağ asitinden bozulma ürününün oluşumunun ölçülmesiyle, trans resveratrolün bakır şelasyonunu etkilediği gözlemlenmiştir. LDL'ye eklenen Trans-resveratrolün bakır kataliz oksidasyonunu azalttığı saptanmıştır (18).

Başka bir çalışmada RES'in kolesterol sentez ve biyosentezinde limit belirleyen enzim olan squalen monoksijenaz enzimini inhibe ettiği bildirilmiştir (19).

RES'in, LDL oksidasyonunun önlenmesinde C ve E vitamininden daha güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu bulunmuştur (20).

3.1.3. Resveratrolün Biyolojik Etkileri

RES'in cAMP oluşumunu artırdığı (21), eikosanoid oluşumunu sınırladığı, protein kinaz C (22) ve siklooksigenaz aktivitesini azalttığı birçok çalışmayla ortaya koyulmuştur (23).

Kırmızı şarap tüketiminin fazla olduğu Fransa'da yüksek yağlı beslenmeye rağmen koroner kalp hastalığına düşük oranda rastlanması RES tüketiminin fazla olması ile ilişkilendirilmiştir (24).

RES'in ve biyolojik faydaları üzerine yapılan çalışmalarda;

1) RES'in kalp-dolaşım sistemi üzerine faydalı etkilere sahip olduğu bildirilmiştir.

2) RES'in antikanserojen özelliği de ortaya koyulmuştur. RES'in bu etkiyi sitokrom P450 1A1 ve protein tirozin kinaz aktivasyonunu azaltarak yaptığı varsayılmaktadır. Ayrıca prostoglandin sentezini azaltarak tümör büyüme hızını yavaşlattığı bildirilmiştir (25).

3) RES'in bazı çalışmalarda beyinde, kalp kasında ve böbrekte koruyucu özelliği olduğu gösterilmiştir. Böbrekteki koruyucu etkisi nitrik oksit (NO) miktarını artırmasına bağlanmıştır (26).

4) RES'in anti-aging özelliklerinin olduğuda bildirilmiştir (27).

5) Orta derecede mantar önleyici etkisi de bildirilmiştir (28).

3.1.4. Resveratrol ve Egzersiz

Diyet alışkanlıklarına ek olarak, fiziksel egzersiz, sağlıklı bir yaşam biçiminin önemli bir bileşeni olarak düşünülür. Orta derecedeki egzersizin,

kardiyovasküler hastalıklar (29), tip II diyabet (30), metabolik sendrom (31) ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar da dahil olmak üzere primer ve sekonder hastalıkların önlenmesinde yararlı olduğu gösterilmiştir (32,33). Hormisizm terimi, küçük yoğunluklarda toksik maddelere maruz kalma ve bunlara uyum sağlama fenomenini açıklamak için önerilmiştir (34). Metabolizmanın fiziksel egzersize yaptığı uyarlamalı cevap bu çerçevede açıklanmaktadır. Yoğun fiziksel egzersize bağlı serbest radikal üretimindeki artışa yanıt olarak, metabolizma antioksidan sistemini harekete geçirir (35). Yaygın olarak kaloriyi sınırlayan bir faktör (36) olarak kabul edilen RES, egzersizde artan O₂ gereksinimlerini karşılamak için O₂ nakil sistemindeki adaptasyonları etkiler. Birçok durumda, RES, egzersiz sırasında molekül yollarını aktive eder (37, 38) ve performansı artırıcı bir etki yaratır (39). Tersine, insan çalışmaları, RES'un kardiyovasküler hastalığı olan gruplarda egzersizin yararlı etkilerini sınırladığını ortaya koymaktadır (40,41). Sonuç olarak, RES'un egzersiz üzerindeki etkileri tartışmalıdır ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyar.

3.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Nötr bir atomda, proton sayısı, elektron sayısına eşittir ve bu halde iken atom reaktif değildir. Elektron alan ya da veren atom, elektriksel olarak yüklü hale geçmekte ve iyon olarak adlandırılmaktadır. İyonlar reaktif ve oldukça kararsız yapılardır (42). En dış yörüngesinde, elektronu çiftleşmemiş atomlara veya moleküllere serbest radikal denir. Birçok inorganik bileşik, NO ve NO₂ (Nitrojen dioksit) gibi, dış orbitallerinde çiftleşmemiş bir elektron içerir ve bu tanıma serbest radikal denir. Bununla birlikte yine oksijende bir radikaldir (43). Eşlenmemiş elektron, serbest radikallere büyük bir reaktivlik kazandırarak

organizmada birçok biyolojik materyale zarar vermekte; bunun yanısıra çeşitli kanser türleri, kalp-damar hastalıkları katarakt ile bağışıklık sisteminde zayıflamaya ve sinir sistemi dejenerasyonuna bağlı hastalıklara da neden olmaktadır (42).

Organizmada oluşan serbest radikaller, ya iç kaynaklı ya da dış kaynaklıdır. Reaksiyonların bir sonucu olarak oluşan en etkili radikaller Reaktif Oksijen Türleri (ROT)' dir. Organizmadaki en aktif ROT üreticileri fagosit hücrelerdir. Farklı metabolik yangımlarla uyarıldıklarında, oksijeni indirgeyerek peroksit (H_2O_2), superoksit (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-), hidrojen gibi ROT'ları oluştururlar. Diğer ROT kaynakları; yine oksijenin katıldığı mitokondriyal elektron taşıma zinciri, doymamış yağ asitlerinin ve katekolaminlerin oksidasyonu ile nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH) bağımlı oksidazlardır (44).

Organizmada en fazla oluşan serbest radikaller reaktif nitrojen türleri (RNS) ile reaktif oksijen (ROS) türleridir. Normal metabolizmanın sürdürülmesi, hücrelerde enerji üretimi ve bağışıklık sisteminde önemli rol oynayan nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizmaları için gerekli olan birçok reaksiyonda serbest radikaller üretilmekte ise de fazla miktarda üretildiklerinde metabolizmaya ciddi zarar verebilmektedirler (45,46,47).

Dışarıdan alınan besin maddelerinden, organizma içerisinde oksijen kullanılarak enerji sağlanması esnasında oluşan reaktif moleküller; "serbest oksijen radikalleri", "oksidan moleküller" veya "reaktif oksijen partikülleri" olarak tanımlanmaktadır. Bu moleküller, diğer moleküller ile kolaylıkla elektron alışverişine girebilme özelliğine sahip olup, başlıcaları; tekli oksijen (singlet

oksijen, $1O_2$), süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$), hidroksil ($\cdot OH$), peroksil ($ROO\cdot$) ve alkoksil ($RO\cdot$) radikalleridir (48). Bu moleküllerin aşırı üretimi ve/veya indirgenmelerinin yetersiz kalması, hücrelerin redoks durumlarında değişikliğe yol açmakta ve hücre makro moleküllerinin yüksek enerjili serbest radikaller tarafından okside olmasına neden olmaktadır. Aerobik organizmalarda oluşan bu moleküller protein, lipid ve DNA hasarlarına neden olan metabolik reaksiyonlara yol açmaktadırlar. Bu reaksiyonların sebep olduğu tahribatların engellenemediği ya da savunma sistemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda, serbest radikaller organizmada artış göstererek hücre ve doku hasarları oluşturmaktadır. (45, 49).

Serbest radikallerin, hücre membranlarındaki Mg^{++} , Ca^{++} ve ATPaz enzimi üzerine etkileri sonucunda kalsiyum'un hücre içi düzeyini artırdığı belirtilmiştir (50,51). Hücre içi kalsiyum düzeyinin artışı, proteolitik bir enzim olan "calpain"ın şiddetli aktivasyonuna ve buna bağlı olarak da kas proteinlerinin dejenerasyonuna neden olmaktadır. Özellikle kas gelişimi üzerinde rolü olan desmin, bu proteinlerden biridir. Bu şekilde miyofibriler yapıda ortaya çıkan yıkım, kastaki normal gerilimin gerçekleşmesini engellemektedir (52).

Serbest oksijen radikalleri, kükürt içeren aminoasitler ile doymamış aminoasitlerin (triptofan, tyrozin, fenilalanin, metiyonin, sistein, histidin) oksidasyonuna neden olarak proteinlerin parçalanmasına, agregasyonuna ve hücre enzimlerinin fonksiyonlarında bozulmalara neden olmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin, nükleer ve mitokondrial DNA' daki heterosiklik bazlarla ve deoksiriboz-fosfatlarla da reaksiyon vermesi sonucunda DNA bazları modifiye olmakta, riboz-fosfat zinciri kırılmakta ve hücrelerin enerji kaybetmeleriyle nekrotik tipte hücre ölümü gerçekleşmektedir (53,54). Radikal oksijen türlerinin

DNA'ya etkisi sonucunda oluşan 8-hidroksi deoksiguanozin (8-OHdG)'in plazmadaki düzeyinin yüksek bulunması, oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak kabul edilmektedir (55).

Oksidatif stres kavramı, vücudun antioksidan savunma sistemi ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna yol açan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir (56).

ROT'ların çok fazla birikmesiyle birlikte oksidatif stres, membran lipidlerindeki doymamış yağlardaki bağları kopararak membran seçiciliği ve geçirgenliğini artırmakta, ayrıca membran viskozitesini de değiştirmektedir (57).

3.2.1. Malondialdehid (MDA)

Organizmada serbest radikal meydana getiren başlıca olaylar, heksoz monofosfat yolu, mitokondrial elektron transportu, ksenobiotiklerin metabolizması, doğal uyararla fagositik hücrelerin aktivasyonu, biyokimyasal ve biyosentetik yıkım olaylarıdır. Serbest radikallerin hücre dışı etkileri hücrelerin arasında kalan boşluklarda ve sıvılarda ortaya çıkarlar (58).

MDA, membran iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitelerinin değişmesi gibi birçok olumsuz durumun ortaya çıkmasına neden olabildiği gibi DNA bazları ile de kolayca reaksiyona girebilmektedir. Tüm bu olumsuz etkileri, MDA'ya mutajenik, genotoksik ve kanserojenik nitelik kazandırmaktadır (53).

MDA, Serbest radikallerden etkilenen membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda gelişir. MDA, oksidatif hasarın, sistematik dolaşımda düzeyi saptanabilen dolaylı göstergesidir. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA doku reaksiyon zincirindeki hızın bir

göstergesi olarak da kullanılır (59). Egzersize yanıt olarak da yine “oksidatif stres marker”ı olarak genellikle MDA kullanılmaktadır (60).

3.2.2. Süperoksit radikali

Süperoksit radikali, oksijen kaynaklı bütün radikaller arasında en fazla ve en kolay oluşandır. Bu durumun, oksijenin suya indirgenmesi zincirinde ilk oluşan radikal olmasından kaynaklandığı düşünülür. Diğer radikallerin oluşumunda süperoksit radikali sebep olabilir.

3.3.3. Hidroksil radikali

Oksijen radikalleri arasında yarılanma ömrü en kısa olan dolayısıyla en az aktif olan radikaldir. Bu durumdan dolayı en toksik radikaldir ve kaynağından fazla uzaklaşmadığından yakınındaki hedefleri etkiler.

3.3.4. Hidrojen peroksit

Hidrojen peroksitin kendisi reaktif değildir. Ancak biyolojik olarak önemli bir oksidandır. Geçici metaller ile etkileşerek, reaktivitesi çok yüksek olan hidroksil radikalini oluşturabilir. Küçük, yüksüz moleküller olduğu için; hücre membranlarının hidrojen perokside geçirgenliği suya olduğu gibidir. Böylece hücre membranlarından diğerlerine göre çok daha kolay difüze olabilir (61).

3.3.5. Egzersiz ve Serbest Radikaller

Fiziksel hareket; karaciğer ile kas dokusunda oksidatif stresi ve serbest radikal oluşumunu uyararak, lipid peroksidasyonuna sebep olur. Bu durum, egzersizin yoğunluğuyla ilgilidir (62).

Yoğun bir egzersizle birlikte, iskelet kası hücrelerine giden oksijen miktarı büyük oranda artar ve bunun yanında ATP tüketim hızı, ATP üretim hızını geçer. Hücrelerde oluşan metabolik stres serbest radikal üretimini önemli miktarda artırır. Normal koşullar altında, serbest radikaller düşük bir hızla üretilir ve antioksidan sistemin gelişmesine izin verilir. Fakat aşırı serbest radikal üretilmesi halinde, hücresel savunma sisteminin kapasitesi aşılr, hücredeki canlılık kaybolur ve hücre nekrozu oluşur. Bunun sonucunda, yoğun egzersiz kas hasarı ve inflamasyon oluşturur (63).

Deneysel hayvan çalışmalarının çoğunda, kas dokusundaki MDA düzeylerinin egzersiz sonrasında yükseldiği rapor edilmiştir. Bir çalışmada, orta şiddetdeki koşma sırasında % 68, şiddeti yüksek koşma egzersizinden sonra iskelet kasındaki MDA düzeylerinde % 120 oranında artış saptanmıştır (64). Ancak bir çalışmada, orta şiddetdeki egzersizden sonraki MDA düzeylerini istirahat düzeyi ile karşılaştırdıklarında, kas ve karaciğer dokularında bir farklılık bulmamışlardır (65).

Organizmanın egzersize MDA yanıtında bireyin antrenman seviyesi ile ilişkilidir. Jenkins ve ark (1984), Antrene olan ve olmayan sıçan gruplarında yapılan bir çalışmada, akut şiddetli egzersizin idrar MDA miktarlarında anlamlı derecede bir artış meydana getirmediği bulunmuştur (66). Başka bir çalışmada; ağır bir egzersizden sonra MDA düzeyindeki yükselmenin, antrene olan sıçanlarda antrene olmayanlara oranla daha az olduğu bulunmuştur (67).

Bu farklılıkların, deneklerin sağlık durumları ile birlikte egzersizin şiddetine bağlı olabileceği düşünülebilir.

3.3.6. Antioksidan Sistem (Antioksidanlar)

Serbest radikallerin oluşumlarını inhibe eden, bunların neden oldukları oksidasyon olaylarını engelleyen, zararlı etkilerini azaltma veya yok etme fonksiyonu gösteren maddeler “antioksidanlar” olarak adlandırılmaktadırlar.

Antioksidanların oksidan maddelerle karşılaştıklarında oksidasyonu geciktirerek, inhibe ederek, serbest radikali zayıf bir moleküle çevirerek veya radikale bir hidrojen iyonu aktararak etkisiz hale getirdikleri bildirilmektedir (68,69,70).

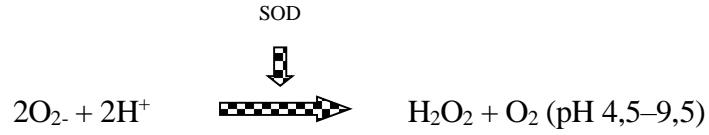
Antioksidanlar, kimyasal yapılarına göre enzimatik olanlar ve enzimatik olmayanlar şeklinde sınıflandırılmaktadır (70).

Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-s-transferaz, Glikoz-6-Fosfat Dehidrogenaz, mitokondriyal sitokrom oksidaz ve hidroperoksidaz intrasellüler savunma sisteminin enzimatik antioksidanları olarak tanımlanırken, glutatyon (GSH), bilirubin, seruloplazmin, askorbat, transferin, β -karoten, α - tokoferol, melanin, ürik asit ve albümin ise enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılmıştır (71,72).

3.3.7. Enzimatik Antioksidanlar Süperoksit Dismutaz (SOD)

Antioksidan enzimlerin en önemlilerinden biri olan SOD, oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunmaktadır. Memeli dokularında SOD enzimi, temelde hücre içi yerleşimli olup eritrositlerin, hepatositlerin ve beyin hücrelerinin mitokondri matrikslerinde, %10 kadarı ise hücre dışında bulunmaktadır. SOD, serbest radikallere karşı ilk tepkimeye giren enzimdir. Endojen olarak üretilerek, süperoksit radikalinin hücre hasarı oluşturmasını

engellemektedir. SOD, süperoksit radikalinin hidrojen peroksit (H_2O_2) haline dönüşümünü, peroksidazlar aracılığıyla da moleküler oksijene (O_2) indirgenmesini sağlamaktadır (73,69).



Süperoksit dismutaz dokular arasındaki aktiviteleri bakımından farklılık gösterir. En yüksek düzeyleri karaciğerde kalbe göre 4 kat daha fazla görülür. Enzim aktivitesinin düzenlenmesi, doku oksijenasyonuna duyarlı olan biyosentezi aracılığı ile yapılır. Süperoksit dismutaz, Süperoksit radikallerinin potansiyel substratlarla reaksiyona girmesini ve böylece hidroksil radikali gibi daha toksik ürünlerin oluşmasını önler.

3.3.8. Katalaz (CAT)

Hepatositlerin mitokondrilerinde, eritrositlerin sitoplazmalarında ve diğer hücrelerin ise özellikle peroksisomlarında yer almaktadır (73). Beyin, kalp ve iskelet kaslarında az miktarlarda bulunurken, canlı organizmada karaciğer, böbrek, eritrosit, kemik iliği gibi dokularda da bulunur. CAT, hidrojen peroksiti (H_2O_2), su ve moleküler oksijene çevirerek etkisiz hale getirmektedir (73). CAT, antrenman ve egzersizle ilişkili olarak SOD ve GSH-Px' den daha az çalışılmaktadır (51).

3.3.9. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Bir substratın oksidasyonunu geciktiren ya da önleyen düşük molekül ağırlığına sahip antioksidanlardır. Endojen (glutatyon, lipoik asit ve Co Q10 vb)

olabildikleri gibi dışarıdan besinlerle de (askorbik asit, karotenoidler, α -tokoferol ve polifenoller vb) alınabilmektedirler (71,72).

3.3.10. Glutasyon (GSH)

GSH önemli bir intraselüler antioksidandır. Plazma, kan hücreleri, beyin, akciğer, böbrekler gibi birçok doku ve organda bulunmakla birlikte en yüksek oranda hepatositlerde (10 mM) tespit edilmiş olup büyük oranda karaciğerde depolanmaktadır. Karaciğerde çözünebilir tripeptid (glutamik asit, sistein ve glisin) bir yapıda sentezlenmektedir. Okside edilmiş hali (GSSG) serbest radikallerin inhibe edilmesinde, indirgenmiş hali (GSH) ise hücrelerdeki sülfidril gruplarının stabile edilmesinde; tokoferol ve askorbatın rejenerasyonunda görev yapmaktadır. Bunun yanı sıra GPx'in kofaktörü olarak ta işlev görmektedir. Oksidatif stresin belirlenmesinde en çok kullanılan ve dokularda en fazla miktarda bulunan antioksidandır. Oksidatif durumlarda, GSH oranı azalmaktadır. Peroksitlere karşı okside olarak onları indirgemekte ve serbest radikallerle tepkimeye girerek, dokuları oksidatif hasarın zararlı etkilerinden korumaktadır (69,74,75).

3.3.11. Egzersiz ve antioksidanlar

Oksijen tüketimine paralel artan serbest radikaller, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları içeren bir savunma sistemi tarafından etkisizleştirilir. Egzersizle birlikte, ROT ve antioksidanlar arasında bir dengesizlik oluşur. Bu dengesizlik oksidatif stres olarak adlandırılır (76).

Araştırmalar, yüksek şiddetli egzersizlerde ROT üretiminin arttığı ve bu durumun oksidatif hasarı artırdığını ortaya koymuştur. Aniden yapılan

submaksimal egzersizlerin lipid peroksidasyonunu artırdığına dair belirtiler bulunmaktadır (77,78). Serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma kapasite arasındaki denge bozulduğunda hücrelerde hasar oluşmakta, reaktif oksijen türleri, nükleik asit, protein ve lipitler tahrip olmaktadır. Bir çalışmada bisiklet ergometresinde yapılan egzersizin (%50 maxVO₂) lipid peroksidasyonunu artırdığı rapor edilmiştir. Sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ile antioksidan savunma sistemi denge durumundadır (79).

3.4. Kemik

Sürekli bir yenilenme içinde olan kemik, yapısal olarak çok dayanıklı ve karmaşık bir dokudur (80).

Mineralize kollajen yapısı ile birçok minerali içinde bulunduran ve özelleşmiş bağ dokusu olan kemiklerin fonksiyonları, vücut hareketlerini sağlamak, yaşamsal organlar ve kemik iliği için koruyucu bir rol üstlenmek, kalsiyum fosfor homeostasisi için rezerv olmak ve metabolik dengeyi sağlamaktır (81).

Uzun kemiklerin içinde boş bir kanal, diğer kemiklerde ise süngerimsi dokunun olduğu bir alan bulunur. Kemik iliğinin yerleştiği kısım burasıdır. Genç bireylerde daha fazla kan yapıcı elemanlar bulunduğundan dolayı, görünümü kırmızı renklidir ve buna kırmızı kemik iliği de denilir (82).

Kemiklerin yapım ve yıkımı hayat boyu devam eden bir süreçtir. Bir döneme kadar yapım yıkımdan fazladır. Yaşamın ileriki dönemlerinde yapım ve yıkım eşitlenir ve daha sonra yıkım yapımdan daha fazla olur. Yapılan düzenli egzersizlerle kemikte oluşan yıkımın azaltılması, özellikle kadınlarda ileri

yaşlarda sıkça görülen osteoporoz oluşumunun yavaşlatılması amaçlanmaktadır (83).

Eklemler ve bağ dokuların biraraya gelmesiyle oluşan iskelet sistemi, boyutlarına ve şekillerine göre; uzun (ossa longa), kısa (ossabrevia), düzensiz (ossairregularia), yassı (ossa plana) ve sesamoid kemiklerden (ossasesamoidea) oluşur (84). Toplam ağırlığımızın yaklaşık %17' sini oluşturan kemiklerin sayısı; yetişkin bir insanda yaklaşık 206 – 213 arasındadır. Doruk Kemik Kütlesi (DKK); büyüme ve gelişme sırasında ulaşılan en yüksek kemik kütlesi oranıdır. (85).

3.4.1. Kemik Doku Hücreleri

Kemik dokuda yer alan hücreler osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlardır (86,87).



Şekil 2. Kemik doku hücreleri

Osteoblastların yaşam süresi yaklaşık 3 ayken osteoklastların ortalama yaşam süresi yaklaşık 2 hafta kadardır (87).

Osteoblastlar: Kemik yapımını sağlayan, mineralizasyonu düzenleyen ve kemik matriksini sentezleyen hücrelerdir (88). Başlıca görevleri kemik kalsiyum ve fosfor dengesini ayarlamak, hidrokiapatit kristallerinin oluşumunu sağlamak ve kemik matriks sentezidir. Bu hücrelerin mezaşimal kökenli osteoprognotör hücrelerden kök aldıkları düşünülür. Bunun yanında osteoblastların kök aldıkları hücrelerin kemik iliği kök hücresi, kondrosit kök hücresi ve adipositler olduğu düşünülür (89,87). Osteoblastlar alkale fosfataz enzimi bakımından zengindir. Kemik yapımının arttığı hallerde bu enzimin aktivitesi artar. Egzersizin oluşturduğu fiziki stres, dışarıdan uygulanan baskının da etkisiyle hücrelere iletilir ve yeni kemik yapımı için osteoblastlar uyarılırlar (83,90). Osteoblastlar erişkinlerde kemiğin mineralizasyon alanının 8-10 µm uzağında bulunurlar (91). Kemik matriksin kollojen dışı proteinlerinin yaklaşık %40-50'sini oluşturan kemik kalitesinden sorumlu osteonektin ve osteokalsin gibi proteinleride osteoblastlar sentezlerler. Osteoblastlarda, glukokortikoidler, parathormon (PTH) ve D vitamini için reseptörler bulunur. Yine kemik mineralizasyon hızının düzenleyicisi olan alkale fosfataz (ALP) da osteoblastların ürünüdür. ALP'nin kemik mineralizasyonunu nasıl etkilediği bilinmemekle beraber yokluğu kemik mineralizasyonu bozar. Osteoblastlar, değişerek lakuna içinde bulunan ve kemik yatağı ile çevrelenmiş olan osteositlere veya yüzey hücrelerine dönüşürler (87,91).

Osteositler: Olgunlaşmış kemiğin ara maddesi içinde yayılmış fakat sayısız uzantılar ile kompleks bir hücresel ağ oluşturacak biçimde bağlantılar kuran büyük hücre tipidir. Yaklaşık ömürleri 25 yıldır. Fonksiyonları tam olarak

bilinmemesine rağmen, kemik yapımında ve ara madde sentezinde görev alırlar. Kemik dokusundaki en fazla bulunan hücredir. Kemiğin gelişimi sırasında yeni doku oluşurken, kemik yüzeylerinde bulunan osteoblastların bir kısmının salgı hızlarında yavaşlama olur. Büyüyerek gelişen kemik dokunun içinde kalırlar. Kemik matriksi içinde kalan osteoblastların metabolizmaları ve morfolojik yapılarında değişiklikler meydana gelir. Değişime uğrayan osteoblastlar osteosit adını alır. Bir sinsityum görevi gördükleri düşünülen osteositlerin fizyolojik önemi tam olarak bilinmemektedir. Yetişkin bir kemik dokuda osteosit bağlantıları ve bu osteositlerin yüzey osteoblastları ile birlikte meydana getirdikleri bağlantılar bir osteosit-osteoblast ağı oluştururlar. Osteositler D vitamini ve PTH'a cevap verebilmektedir. Osteositlerin kalsiyum metabolizmasındaki fonksiyonları da tam olarak bilinmemektedir. Kemik dokunun tekrar yapılanma için kemiğin haraplanması gerekir. Genelde fiziksel strese maruz kalan kemik dokusunda harablanma görülür. Harab olan bölgenin yeniden yapılanması osteoklastların o alana gelmesi ve rezorbsiyon bölgesi oluşturmaları gerekir. Bu hasardan en fazla etkilenen hücreler osteositler olduğundan ve yüzeydeki osteoblastlar ile ilişkilerinden dolayı onarma mekanizmasını başlatan hücreler oldukları varsayılmaktadır (89,91,92).

Kemik dokudaki stresin oranı, kemik yapımı ile yüklenme arasındaki ilişkiyi gösterir. Stres, kemik dokuda yeniden yapılanmanın kontrolü için uyarı oluşturur. Bu durumdan en fazla etkilenen hücreler yüzeye yerleşen osteoblastlar ve osteositlerdir. Daha önce yapılan çalışmalarda, bu uyarıya en erken cevap veren hücrelerin osteositler olduğu bulunmuştur (89).

Yüzey (lining) hücreleri: Yüzey hücreleride osteoblastlar ile aynı soydan gelen kemik doku hücreleridir. Dinlenik durumda normal kemik yüzeyi 1-2 µm kalınlığında mineralize olmamış matriks ile kaplıdır. Matriksin üzerinde uzun, düz yapılı yüzey hücreleri yer alır. (87). Osteoklast oluşumunun öncüsü olan bu hücrelerin kemik dokunun neresine tutunacağını gösteren uyarının, bu hücreler tarafından yollandığı varsayılmaktadır. Bunun yanında osteosit dönüşümünde yine bu hücreler başlatır (93,87).

Osteoklastlar: Erişkinlerde osteoklastlar, yaklaşık olarak 50-100 µm büyüklüğünde birden fazla nükleusa sahip, çok sayıda mitokondri, lizozom ve serbest ribozom içeren hücrelerdir. Monosit makrofaj sistemi ile hematopoetik kök hücrelerden uç alırlar (93). Osteoklastlar kemik yüzeyinde veya kemik yüzeyindeki boşluklarda bulunurlar. Yapılarındaki en belirgin özellik kıvrımlı kenarları ve membrandaki parmak şeklinde olan çıkıntılardır (87, 94). Osteoklastlar, kendilerine özel saydam bölge denilen bir alan tarafından çevrelenmiş durumdadırlar. Bu yapıların sitoplazmalarında aktin benzeri yapılar vardır. Bu saydam bölge ile kemik yüzeyine tutunur ve rezorbsiyon başlar (94). Ortamdaki mevcut kalsiyum yoğunluğuda osteoklast aktivitesini etkilemektedir. Endotel hücrelerinden salgılanan endotelin, nitrik oksit ve reaktif oksijen radikallerinin de osteoklast aktivitesini etkilediğine dair çalışmalar bulunmaktadır (89,94).

3.4.2. Kemik Biyokimyası

Kemik, çok sayıda madde ve faktörün katıldığı yapım ve yıkım işlemlerinin birbirini takip ettiği dinamik ve karmaşık bir dokudur. Kemiğin bu

aktif siklusunu yakından izleyebilmek için, yapım ve yıkım sırasında ortaya kan birtakım protein ürünleri ve enzimlerinden faydalanılır ve bunların tümüne kemiğin biyokimyasal markırları denir.

Bir dokuya ait özelliklerin tanımlanmasında kullanılacak markırların kabul edilebilir olması için ilk olarak o dokuya spesifik olmalıdır. Markırın metabolizması ile ilgili tüm detaylar bilinmeli ve dolamda hiçbir organdan etkilenmemelidir.

Kemik markırları, ergenlik dönemdeki uygun kemik gelişiminin takibinde de kullanılabilir. Bilindiği gibi, ergenlik dönemdeki yetersiz kemik gelişimi sonraki dönemlerde prematüre osteoporoza neden olabilir (95).

Kemik yıkım ve yapımını doğru olarak tanımlayacak spesifik markırların bulunmasıyla, metabolik kemik hastalıklarının farklı formları daha kolay ayırt edilebilmiştir (96).

3.4.3. Kemik yapım markırları

3.4.3.1. Alkalen fosfataz

Alkalen fosfataz (ALP) osteoblastların membranlarına yapışıktır. Kemik yapımını göstermek için eskiden beri çok yaygın olarak kullanılır. Ancak görevi tam olarak bilinmemektedir. ALP' n 4 çeşit izoenzimi mevcut olup kemik izoenzimi özellikle, kemik ve karaciğer hastalıklarının ayırıcı tanısında kullanır (97). ALP'nin izoenzimleri, elektroforez, izoelektrik fokuslama, lektin presipitasyon ve immünassay yöntemleri ile ölçülebilirse de kesinlik açısından en uygun yöntem immünassay'dır (98).

Osteoporoz tanısında osteoblastlardan kaynaklanan bu enzim fraksiyonunu ölçmek gereklidir. 13 ile 17 yaşları arasındaki çocuklarda total alkale fosfataz düzeyinin %87'sinin kemik izoenzimine, %8.5'unun karaciğer izoenzimine, %1.5'unun barsak fraksiyonuna ait olduğu gösterilmiştir (99).

Bütün dokularda, özellikle hücre membranlarında bulunan bir enzim olan Alkale fosfataz enzimi fosfat esterlerinin alkali ortamda (pH:8-10) hidrolizini katalizler. Enzim aktivitesi için çinko ve magnezyum gereklidir. Kalsiyum ve inorganik fosfat ise aktiviteyi inhibe eder. Plazma alkale fosfataz enzimi, üç farklı gen lokusu tarafından kodlanır ve bu üç farklı lokustan intestinal, plasental, karaciğer ve böbrek kökenli alkale fosfataz enzimleri sentezlenir. Serumda alkale fosfatazın 11 farklı izoenzimi mevcuttur. İzoenzimleri arasındaki farklı yapıda değişik oranda bulunan siyalik asit oluşturur. Normal pediatrik popülasyonlarda total serum alkale fosfataz aktivitesinin %80-90'nı kemik orijinlidir. Sağlıklı kişilerde alkale fosfataz aktivitesinin yarısı kemikten ve artı kalanı da karaciğerden köken alır. Plazenta ve barsak formları ise daha az yoğunluktadır (100). Alkale fosfataz aktivitesi kemik hastalıklarında en sık kullanılan biyokimyasal göstergelerden biridir.

3.4.3.2. Osteokalsin

Osteokalsin, kemik Glutamik asit (Gla) protein (BGP) olarak da bilinir, kemik matriksin majör nonkollajen proteindir (97,98). Kemik yapımını gösteren duyarlı ve özgün bir markır olarak kabul edilir. Osteokalsinin görevi tam olarak bilinmemekle birlikte, hidroksiapatit kristalleri ve kalsiyumla bağlanır (98). Sentezi için aktif D-vitaminine, karboksilasyonu için K-vitaminine ihtiyaç

duymaktadır. Kanda, parsiyel ve tam karboksilasyonlanm iki formu bulunur. Özellikle osteoporozu olan yallarda parsiyel karboksilasyonlu formunun varlığı ile kalça kırık riskinin arttığına dair bulgular vardır (101). Serum ve plazmada ölçümü immünassay yöntemi ile yapılır (98). Osteokalsin yüksekliği; hiperparatiroidizm, hipertiroidizm ve kemik metastaz vakalarından görülür. Serum osteokalsin düzeyi yaşa bağlı artar, menopoz döneminde artışına devam eder, menopoz tedavisi sonrası düşer. Yeni geliştirilen insan antikoru kullanılarak yapılan sandviç immünassay yöntemi ölçüm için daha güvenilirdir (102). Serum örneklerini saklarken, mümkün olduğunca düşük ısılarda bekletmek gerekmektedir.

3.4.4. Kemik Yıkım Markırları

3.4.4.1. Hidroksiprolin

Birkaç yıl öncesine kadar en iyi tanımlanan ve en çok kullanılan kemik yıkım markırı hidroksiprolindi. Hidroksiprolin kollajen üzerinde var olan prolinin hidroksilasyonu ile oluşur ve kollajenin yapısında en fazla bulunan aminoasittir (97,98). Kollajenin yıkımı ile dolaşıma salınır ve hidroksiprolin ölçümü bu nedenle kemik dokusu açısından anlamlıdır. Ancak hidroksiprolinin diğer proteinlerin yapısında da bulunması yanında, diyetle alınan jelatinöz maddelerden etkilenmesi ve karaciğerde büyük kısmının metabolize olması en büyük dezavantajlarıdır (98,103). Ölçüm sonuçlarından emin olmak için en az iki kez ölçüm yapılması önerilmektedir. Yapılan ölçümlere özen gösterildiğinde özellikle paget hastalarında, osteoporozda ve osteoporoz tedavisine yanıtın izlenmesinde iyi sonuçlar alındığı belirtilmiştir (103).

3.4.4.2. Pridinolin

Pridinolin son zamanların en dikkat çekici kemik yıkım markıdır. Görevi, ekstrasellüler matriks içindeki kollajen moleküllerin stabilizasyonunu sağlamaktır

Pridinolinler, çocukluk çağında ve menopoz sonrasında yüksek miktarda idrarla atılırlar. Ayrıca bazı endokrin hastalıklarda (hipertiroidizm) ve tümoral vakalarda da yüksek miktarda buldukları bildirilmiştir. Sabahki ilk ve 24 saatlik idrar örnekleri incelendiğinde pridinolin çapraz bağlarının sirkadiyen bir ritim gösterdikleri saptanmıştır. Sabahki ilk idrar ölçümleri yerine 24 saatlik örneklerde çalışılması tercih edilmektedir (103).

Bugünkü teknik gelişmeler, pridinolin çapraz bağlarının ölçümünü neredeyse alkalen fosfataz ölçümleri kadar kolaylaştırmaktadır. İdrar dışında serum örneklerinde de ölçülebilmesi kemik yıkımında en güvenilir markının pridinolin çapraz bağları olabileceğini düşündürmektedir (103).

3.5. Kemik Mineral Yapısı

Kemiğin mineral yapısı ve değişiklikleri konusu halen tam olarak açıklığa kavuşmuş değildir. İncelenen bir kemiğin makroskopik yapısı değişik zamanlarda oluşan inorganik partikül depolanmalarından dolayı heterojen bir yapı gösterir. İlk depolanan partiküllerin görünümü sonradan depolanan benzer partiküllerden farklıdır. Bu zamanla kemik inorganik matriksinde oluşan kimyasal değişikliklerin sonucudur. Karbonat, magnezyum, sodyum gibi diğer iyonların miktar ve lokalizasyonları farklı olabilir. Kemik yüzeyde mineralizasyon, kollajen lifleri boyunca düzenli bir şekilde oluşur (104).

Matür bir kemiğin major minerali hidroksiapatittir. Kemik matriksin mineralizasyonu oktokalsiyum fosfat ya da amorf kalsiyum fosfatın kemik matriksi içine yerleşmesi ile başlar daha sonra hidroksiapatite dönüşürler. Kemiğin yapısındaki en önemli mineral kalsiyumdur. Kalsiyumdan sonra en yoğun bulunan katyon magnezyumdur. Sodyum florid ve iki değerlikli ağır metal iyonları (stronsiyum, radyum, kurşun gibi) kemikte az miktarda depolanırlar. Kronik kurşun zehirlenmelerinde kandan kemiğe kurşun çekilerek diğer dokularda kurşunun toksik etkisi azaltılır (105).

3.5.1. Kalsiyum

Tüm vücut kalsiyumunun (yaklaşık 1400 gr) %99'u kemikte depolanmıştır. Kemikte kalsiyum, çokça hidroksiapatit ve bir miktarda amorf kalsiyum fosfat halinde bulunur. Kemik kalsiyumu ve vücudun diğer kısımlarındaki kalsiyum arasında dinamik bir denge vardır. Kalsiyum dolaşımında proteinlere bağlı ve iyonize şekilde bulunur. Yaşayan her hücrenin devamlılığı için kalsiyum iyonuna gereksinim vardır. Dolaşımdaki iyonize kalsiyum yoğunluğunun esas düzenleyicisi PTH ve D vitamindir (89,105,106).

3.5.2. Fosfor (P)

Kemikte miktar açısından ikinci sırada bulunan mineral fosfordur. Fosfor her zaman organizmadaki fosfat ile bir denge içindedir. Fosfat yiyecekler içinde bol miktarda bulunur. Bunun %50-80 kadarı idrarla atılır. İdrarla atımı PTH'nın kontrolü altındadır. PTH aktivitesi arttığında rezorbsiyonun hızlanması sonucu kemik dokudan fazla miktarda kalsiyum ve fosfat açığa çıkar. Bunu kompanse etmek için PTH etkisiyle idrarla fosfat atımı artar (104). Feçeste kalsiyum ve

fosfat benzer miktarlarda atılır. Fakat idrarda fosfat atılımı, kalsiyumun 4-5 katı kadardır (107).

3.5.3. Magnezyum (Mg)

Vücutta miktar bakımından dördüncü, intraselüler olarak ise potasyumdan sonra en çok bulunan ikinci katyondur (108). Hücrelerin hepsinde bulunur fakat kasta, kemikte ve yumuşak dokularda yoğunluğu daha fazladır (109). Ortalama bir insanda (70 kg), yaklaşık olarak 25 gr kadar bulunur (110). Magnezyum'un yaklaşık %26'sı kaslarda, %60'ı kemik doku ve dişlerde, kalan kısmı ise yumuşak dokuda ve vücut sıvılarında bulunur (111, 112). Vücutta %45'i intraselüler, %1'i ise ekstraselüler magnezyum olarak bulunur. (113). Tüketilen ve sindirilen mineral genellikle iki değerlikli magnezyum (Mg⁺²) veya magnezyum asetat yapısındadır (114). Diyetle alınan magnezyumun yaklaşık %30-50'si emilir. Magnezyumun emilimi, ince bağırsak boyunca gerçekleşir. Ancak maksimum emilim distal jejunum ve ileumda olur. Emilim hem aktif hem de pasif taşıma yolu ile gerçekleşir (115).

3.5.4. Demir (Fe)

Vücutta DNA sentezi, mitokondrial enerji metabolizması, oksijenin taşınması, elektron transportu, detoksifikasyon gibi görevleri olan Fe önemli bir elementtir (116). Bunun yanında en önemli görevi, hemoglobinin yapısında bulunması ve akciğerlerden dokuya oksijen taşımasıdır (117,118). İnsan vücudunda yaklaşık, 2-4 gr demir (kadınlarda; ~35mg/kg, erkeklerde ~45 mg/kg) bulunur (119,112).

Vücuttaki demir dengesi gastrointestinal yol ile sağlanır. Hem ve hem olmayan (nonhem) demir farklı mekanizmalarla emilir (120). Hem demir, hayvansal kaynaklı besinlerde bulunur ve emilimi hem olmayana nazaran daha kolay gerçekleşir (120,121). Emilim yaklaşık %25 oranındadır (110).

Organizmada Fe emilimi bir miktar intestinal kanalın bütün bölümlerinde gerçekleşse de emilim yeri daha çok duodondur (110). %10-30'u duodondan emilmekte, emilmeyen %70-90'ı dışkı ile atılmaktadır (114).

Demir, karaciğer, kemik iliği ve dalakta depo edilmektedir. Demirin %60'ı karaciğerde, geri kalan %40'ı ise karaciğer, dalak ve kemik iliğindeki retikuloendotelial (RE) hücrelerde bulunur (112).

3.5.5. Bakır (Cu)

70 kg ağırlığındaki yetişkin bir insan organizmasında, yaklaşık 80-150 mg bakır bulunur. Sırasıyla vücutta en fazla bulunduğu bazı bölgeler; böbrek, karaciğer, beyin ve kalptir. Bunun yanı sıra bir miktar saçta da bulunur (114,110). Toplam vücut bakırının %6'sı kanda, %23'ü kaslarda, %40'ı kemiklerde bulunur. Plazma ya da serumdaki bakır oranı 0.8-1.2 µg/ml'dir. Kandaki bakır, eritrositler ve plazmaya dağılmış halde bulunur (122).

Bakır'ın eritrositlerdeki miktarı, erkekte ve kadın'da 12.5-23.6 µmol/L iken, bu miktar plazmada erkekler için 8.8-17.5 µmol/L, kadınlar için 10.8-26.6 µmol/L 'dır (123).

Diğer iz minerallerle karşılaştırıldığında vücutta çok az bakır (~<150 mg) bulunur. Bakırın çoğu ise daha çok, karaciğerde, beyin ve böbrekte

bulunmaktadır. Diğer bakır içeren dokular ise; beyin, kalp, kemik, kas, deri, bağırsak, saç, tırnak ve dalaktır (112).

Bakır, gastrik, pankreatik ve intestinal yol ile vücuttan atılır. Az bir miktarda, idrar, deri ve saç ile dışarı atılmaktadır (120).

Bakır, elektron taşıma zincirine dolayısıyla enerji üretimine katılır. Bazı antioksidan enzimler için gereklidir (124). Çinko ile birlikte olan formu bakır/çinko süperoksit dismütaz serbest radikal hasarına karşı koruyucudur. Ayrıca, sinir sisteminde nörotransmitterlerin formasyonu beyin, akciğer ve kalp fonksiyonları için gereklidir (125).

3.5.6. Çinko (Zn)

Çinko, gen ekspresyonunda rolü olan 2000'den fazla proteinin yapısında bulunan 300'den fazla enzimatik reaksiyonda rol alan bir elementtir (126).

Plazmadaki çinko konsantrasyonu yaklaşık 15 $\mu\text{mol/L}$ ' dir ve bunun %84'ü albümine, % 15'i α 2-makroglobüline ve % 1'i ise diğer aminoasitlere bağlanarak taşınır (120,127).

Çinkonun emilimi bağırsaklarda gerçekleşir (128). Emilim yeri çoğunlukla duodenum ve proksimal jejunum olmakla birlikte, %10'u da jejunumdan, %30'u ileumdan ve % 60'ı duodenumdan emilir (129,130).

Emilimi bağırsaklarda gerçekleşen çinko, transferine bağlanarak karaciğere taşınır. Çinko'nun sinir istemi ve kemikler tarafından alımı göreceli olarak yavaştır. Kemik çinko'su, metabolik kullanım için kolayca serbestleşmez. En hızlı çinko birikimi ve dönüşümü karaciğer, böbrek, dalakta ve pankreas'ta gerçekleşir (130).

Çinko depolarında boşalma olmasına karşın, vücut emilim ve atım yoluyla vücutta denge sağlamaya çalışır (127).

Çinkonun %70-80'i dışkı (feçes) yolu ile %15-25'lik bir kısmı ise, ter ve idrar ile vücuttan atılır (112).

3.5.7. Selenyum (Se)

Prostaglandin metabolizmasında rol oynayan, hidrojen ve organik peroksitlerin alkollere ve suya redüksiyonunu katalizleyen selenyum, E vitamini ile birlikte hücreleri oksijen radikallerinin zararına karşı koruyan glutatyon peroksidaz enziminin kofaktörüdür. Organizma için önemli bir elementtir (127,131). En fazla bulunduğu yerler dalak, böbrek, kalp ve karaciğerdir. Az da olsa yağ dokusu dışındaki dokulardada bulunur. Serumdaki düzeyi 0.22 mg/dl'dir (114).

Selenyum, jejunum ve ileumdan emilir (112). İntestinalden emilim miktarı %50-80 oranında oldukça yüksektir (114).

Dokuların içerdiği yüksek selenyum konsantrasyonu sırasıyla; tiroit bezleri, böbrek, karaciğer, kalp, pankreas ve kastır. Akciğerler, beyin, kemik ve kırmızı kan hücreleri de selenyum içermektedir (112).

Selenyumun vücuttan atımı çoğunlukla idrar ve dışkı yolu ile olmaktadır (132,133).

3.6. Egzersizin Kemik Yoğunluğu Üzerine Etkisi

Kemik esas olarak vücuda destek veren, ağırlığı taşıyan, vital organları koruyan, kasların yapışması ile hareketi sağlayan bir dokudur. Bu görevi

nedeniyle yer çekimi ve dışardan gelen diğer uyarılar ile sürekli olarak mekanik bir yük taşır. Wolf yasasına göre yüklenme bölgesi ve yükün büyüklüğüne bağlı olarak kemik kütlesi ve kemik kütlesinin vücuttaki dağılımı değişime uğrar, kemiğe yük bindikçe kütle artar ve immobilizasyon osteoporozu olduğu gibi kemik üzerindeki yük azaldıkça kütle azalır (134). Fiziksel aktivite, kemik kütlesinde artışı sağlayan bir faktördür. Osteoblastlar mekanik strese duyarlı hücrelerdir. Tekrarlayan fiziksel stresin, etkilediği kemik bölgelerinde kemik formasyonunda belirgin artışa neden olduğu gösterilmiştir. İskelet devamlı fiziksel uyarı gereksinimi içindedir. Hareketsizlik kas kütlesi ve buna paralel kemik kütlesini azaltır (135). Ayrıca aerobik ya da anaerobik egzersizin kemik doku üzerinde farklı etkiler oluşturduğu da gösterilmiştir (136). Klinik çalışmaların çoğunda, çocukluk döneminde düzenli fiziksel aktivite, spora katılım ve antrenmanın boy uzunluğunu, en fazla boy uzama hızına ulaşma zamanını ve cinsiyet özelliklerinin gelişimini etkilemediğini göstermektedir (137,138). Bununla birlikte, spor dalı ve cinsiyete bağlı değişiklikler gözlenebilmektedir. Beyzbol, futbol ve basketbol oynayan ve yüzen erkek çocuklarda iyi düzeyde iskelet gelişimi görülürken; atletizm, jimnastik ve bale yapan kız çocuklarda iskelet gelişiminde gecikme söz konusudur (139). Çalışmalar değerlendirildiğinde, fiziksel aktivitenin bütün yaş gruplarında kemik büyümesi, hedef kemik kütlesi ve bölgesel kemik mineral yoğunluğuna sedanterler ile kıyaslandığında olumlu katkı sağladığı görülmektedir (137,140). Ancak elit sporcular ve yoğun egzersiz yapanlar için yaşa, antrenman sıklığına ve yapılan spor aktivitesinin tipine bağlı olarak farklı sonuçlar bildirilmektedir. Ağır egzersizin, özellikle genç kadınlarda, amenoreyle birlikte kemik kütlesi üzerinde azaltıcı

yönde etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bu tablo “kadın atlet üçlemesi” (FAT) olarak adlandırılmaktadır (141,142). Bu nedenle de pek çok araştırmacı fiziksel aktivitenin artırılması ile kemik ve kasta stres oluşturabilecek kadar yoğun egzersiz programlarının birbirinden farklı değerlendirilmesi gerektiği kanaatini taşımaktadır. Osteoporoz, düşük kemik kütlesi ve kemiğin mikromimarisinde bozukluk sonucu kemik kalitesinin bozulması ve buna bağlı kırıklarla giden metabolik kemik hastalığıdır. Osteoporoz 1900’lerin sonlarına doğru dikkatleri daha fazla üzerine çekmiştir. Bunda kırık miktarının giderek artışı önemli rol oynamıştır. Osteoporoza bağlı kemik kırıklarına erişkin dönemde sık rastlanmaktadır. Günümüzde giderek daha da yaygın olarak kabul edilen ise osteoporozun bir çocukluk dönemi hastalığı olduğudur (143). İleri yaş grubundaki kırıkların kadınlarda %50’sini ve erkeklerde %20’sini osteoporoza bağlı kırıklar oluşturmaktadır. Osteoporozun tedavisi için farklı farmakolojik ajanlar kullanılmakla birlikte, kemik dokunun mekanik uyarıya cevabının iyi bilinmesi nedeniyle osteoporozdan korunma ve tedavisinde egzersiz kullanılmaktadır (144). Egzersizin kemik yoğunluğunu nasıl etkilediğine dair yapılan çalışmaların sonuçları yaşa, egzersizin tipine, yoğunluğuna ve cinsiyete bağlı olarak farklılık göstermektedir.

3.7. Beslenmenin Kemik Yoğunluğu Üzerine Etkisi

Kemik, mineraller ve proteinlerden oluşur. Bunun yanında vitamin gibi diğer beslenme faktörleride kemik yapımına etki eder. Bunların birinin azlığı kemik boyutu ve yoğunluğunu etkileyerek zirve kemik kitlesine ulaşmayı engeller (145). Kemik metabolizması için kalsiyum, magnezyum, flor ve fosforla birlikte, vitamin D’nin etkili olduğu bildirilmiştir (146). Yeterli kalsiyum alınması, doruk

kemik kütlesinin kazanılması erişkin kemik kütlesinin kazanılması ve korunması için önemlidir. Ayrıca yaşlanmayla gelişen kemik kaybını yavaşlatmaktadır. Diyet en uygun kalsiyum alım yöntemidir. Gıdalardaki kalsiyum biyoyararlanımı yaklaşık %30'dur. Küçük balıklar, soya fasulyesi, koyu yeşil yapraklı sebzeler, fındık, baklagiller kalsiyum ihtiyacını karşılar. Süt ve süt ürünleri en iyi kalsiyum kaynaklarıdır. Beslenmedeki bazı alışkanlıklar kalsiyum alımını etkilemektedir. Örneğin böbrekten atılan 2300 mg sodyumla birlikte 20-60 mg kalsiyum kaybedilmektedir. Yine 1 gr protein 1 mg kalsiyum kaybına neden olur (147). Metabolik olaylar için önemli olan kalsiyum yeterli miktarda alınır, tüketilen proteinin kemik yoğunluğunda artış sağladığı, kalsiyum yetersizliğinde ise alınan proteinin kemikler için bir yararının olmadığı bulunmuştur (148). Toplumlar arasında özgü farklılıklar, alışkanlıklar ve beslenme şekilleri alınan kalsiyum miktarını büyük oranda etkiler. Yapılan çalışmalar, tüketilen kalsiyum miktarının kemik yoğunluğunu etkilediğini ve yaşlanmayla birlikte meydana gelen kemik kayıplarını azalttığını ortaya koymuştur.

3.8. Kalsiyum (Ca)

Vücutta en çok bulunan katyon olan Ca önemli bir besin ögesidir. Toplam vücut ağırlığının yaklaşık % 1.5-2'si kalsiyumdan oluşur (112). Tüm vücut kalsiyumunun (yaklaşık 1400 gr) %99.9'u kemikte depolanmıştır. Kemikte kalsiyum, hidroksiapatit ve daha az olarak da amorf kalsiyum fosfat halinde bulunur. Kemik kalsiyumu ve vücudun diğer kısımlarındaki kalsiyum arasında dinamik bir denge vardır. Kalsiyum dolaşımında proteinlere bağlı ve iyonize şekilde bulunur. Yaşayan her hücrenin devamlılığı için kalsiyum iyonuna gereksinim vardır. Dolaşımdaki iyonize kalsiyum konsantrasyonunun esas düzenleyicisi PTH

ve D vitamini (105). Kalsiyumun tek kaynağı ise gıdalarla alınan kalsiyumdur. Alınan kalsiyumun önemli kısmı barsaklardan $1,25 (OH)_2 D$ vitamini etkisiyle emilir. Günde yaklaşık 1gr kalsiyum feçesle kaybedilir. İdrarla kaybı ise 150-300 mg'dır ve diurnal bir ritim gösterir (149). Bu kayıp miktarları kişinin kalsiyum gereksinimine ve alınan kalsiyuma göre değişir (89).

Enzimlerin işlevlerini yerine getirebilmeleri için kalsiyuma ihtiyaç vardır. İntrasellüler ve ekstrasellüler sıvıların dengesini de kalsiyum sağlar (121).

3.8.1. Kalsiyum Metabolizması

Kalsiyum besinlerde ve suplemanlarda çözünmeyen tuz olarak bulunur. Bir miktar kalsiyum emilmeden önce tuzdan ayrılır (112).

Günlük diyetle 500-1200 mg kalsiyum alınmakta ve bunun ancak %30-50'si (~150-460 mg) emilmektedir. Kalsiyumun aktif absorpsiyonu, kalsitriol ve kalsitriolün sentezini düzenleyen paratiroid hormon (PTH) tarafından düzenlenir (150).

Kalsiyum homeostazında böbrekler önemli göreve sahiptir. Böbrek kalsiyumunun; >%80-85'i pasif yolla, <%15-20'si aktif yolla geri emilir (151). Bağırsaktan emilimi, hem aktif taşınma ile hem de difüzyon yolu ile gerçekleşir (152).

Kalsiyum, kanda 3 farklı formda taşınır. Bir miktar kalsiyum (~%40); başlıca albumin ve prealbumin proteinlerine bağlı olarak taşınırken, bir miktar kalsiyum (>~%10); sülfat, fosfat ya da sitrat kompleksi şeklinde taşınmaktadır. %50 kalsiyum ise kanda serbest halde (iyonize) dolaşır (112).

Kalsiyum, idrar ve dışkı yolu ile dışarı atılır. İdrarla kalsiyum kaybı, 100-240 mg/gün iken, çoğu böbreklerden geri emilir. Diyet ile yüksek protein alımı idrar yolu ile kalsiyum kaybını artırmaktadır. Yüksek sodyum alımı, aşırı kafein ve diüretikler, kalsiyum dengesini etkileyerek idrar ile kalsiyum kaybını artırır (127).

Diyet ile alınan kalsiyumun yaklaşık %75-80'i fekal yol ile kayba uğramaktadır (117). Dışkı ile kayıp, 45-100 mg (3.29 ± 0.83 mmol/gün)'dir (127).

Egzersiz sırasında ter ile kalsiyum kaybı ise, yaklaşık 57 mg/saat kadar yükselebilmektedir. Sıcak havada uzun süreli egzersizlerde ter ile kayıp artmaktadır (117).

3.8.2. Kalsiyum ve Egzersiz

Kalsiyumun, kas kasılması, kan pıhtılaşması, sinir iletimi gibi görevleri olmakla birlikte, egzersiz sırasında karbonhidratların oksidasyonuna yardımcı olmaktadır (109).

Kalsiyumdan zengin beslenme, erişkinlik döneminde kemik sağlığının korunmasına yardımcı olmaktadır (153).

Özellikle yürüme, koşma, ağırlık kaldırma gibi egzersizler, kemik yapısının korunmasına yardımcı olan egzersizlerdir (124).

Sporcular sıklıkla, fiziksel performanslarını düzeltmek için değil de, kırık riskini önlemek için kalsiyum suplemanı tüketirler (154). Çoğu elit olmak isteyen ve bu nedenle çok yüksek şiddetli antrenman yapan sporcuda, steroid hormon seviyesinde azalma ve kemik kayıpları oluşmaktadır. Bu kayıplar hem erkeklerde hem kadınlarda görülmekle birlikte özellikle kadın sporcular arasında daha

yaygındır. Östrojen kaybı ve besin ögesi alımındaki yetersizlik ile seyreden bu durum, kadın sporcularda amenore, anoreksia ve osteoporoz üçlüsü yani “kadın sporcu tiradı” adını almakta ve büyük sorunlara neden olarak sağlığı ve performansı olumsuz etkilemektedir (125). Kadın sporcular, 1800 kcal/gün’den az enerji tükettiğinde, yeterli makro ve mikro besin ögesi alımı da zorlaşmaktadır (155).



4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Çalışma Protokolü

Deney hayvanları her gün yıkamak suretiyle temizlenen özel çelik kafeslerde beslendi. Yemler özel çelik kaplarda, su cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Hayvanlar her gün vücut ağırlıklarının 100 gramı başına yaklaşık 10 gr yemle beslendi. Hayvan yemleri, normal sıçan yemi (pelletler halinde) olarak Fırat Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edildi. Deney hayvanları 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ve standart oda sıcaklığı ($21\pm 1^{\circ}\text{C}$) sağlanan ortamda tutulup, resveratrol uygulamaları sıçan başına 10 mg/kg/gün olacak şekilde içme suyu içinde grup 3, 4, 7 ve 8'i oluşturan sıçanlar üzerinde gerçekleştirildi. Bu çalışma F. Ü. Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen dişi sıçanlar üzerinde aynı merkezde gerçekleştirildi. Sprague–Dawley cinsi 56 adet erişkin dişi ratların kullanıldığı çalışmada hayvanlar eşit sayıda 8 gruba ayrılmıştır.

4.2. Araştırma Grupları

Grup 1 (n:7): Hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrol grubu.

Grup 2 (n:7): Egzersiz Kontrol Grubu: Standart diyetle beslenen ve dört hafta boyunca 30 dakika/gün yüzme egzersizi yaptırılan grup.

Grup 3 (n:7): Resveratrol Kontrol Grubu: Günlük standart diyetle ek olarak dört hafta boyunca içme suyu içerisinde (10 mg/kg/gün) resveratrol verilen grup.

Grup 4 (n:7): Resveratrol+Egzersiz grubu: Günlük standart diyetle ek olarak dört hafta boyunca içme suyu içerisinde (10 mg/kg/gün) resveratrol verilen ve dört hafta süresince 30 dakika/gün yüzme egzersizi yaptırılan grup.

Grup 5 (n:7): Genel anestezi altında gerçekleştirilen ovariektomiden sonra normal diyetle beslenen kontrol grubu.

Grup 6, (n:6): Genel anestezi altında gerçekleştirilen overektomiden sonra normal diyetle ek olarak dört hafta süresince 30 dakika/gün yüzme egzersizi yaptırılan grup.

Grup 7, (n:7): Genel anestezi altında gerçekleştirilen overektomiden sonra dört hafta boyunca (10 mg/kg/gün) resveratrol verilen grup.

Grup 8, (n:7): Genel anestezi altında gerçekleştirilen overektomiden sonra normal diyetle ek olarak dört hafta boyunca (10 mg/kg/gün) resveratrol verilen ve dört hafta süresince 30 dakika/gün yüzme egzersizi yaptırılan grup.

4.3. Overektomi

Genel anestezi olarak 60 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg rompun kullanılmıştır. Overektomi uygulaması şu şekilde yapılmıştır: Ratların sırt bölgesindeki tüyler temizlendikten sonra betadin ile uygun asepsi ve antiseptiyi takiben ratlar ventral pozisyonda iken sırtın orta bölgesi ile kuyruk arasında kalan mesafenin 1/3 üst bölgesinden cilt insizyonu yapılmıştır. Cilt altı dokular serbestleştirildikten sonra spinal kasa ulaşıp, karın arka duvar kaslarından geçilerek peritoneal boşluğa girilmiştir. Overler yağ dokusu ile birlikte dışarı alınıp, yağ dokudan temizlenen over önce klempenip, daha sonra bağlanıp ve kesilmiştir. Kanama kontrolünü takiben diğer organlar peritoneal boşluğa tekrar

bırakılıp ve kas 2/0 krome kat küt ile cilt 2/0 ipek ile suture edilip, Overektomi uygulamaları grup 5, 6, 7 ve 8'i oluşturan sıçanlara uygulanmıştır.

4.4. Uygulanacak Yüzme Egzersizi

Egzersiz uzunluğu 80 cm, yüksekliği ve genişliği ise 50 cm olan ısıya dayanıklı (polietilen), yüzme havuzunda gerçekleştirilmiştir. Egzersizler overektomi uygulamaları ve resveratrol uygulamalarının başlangıcından 24 saat sonra, günlük 30 dakika süre ile 4 hafta boyunca gerçekleştirilmiştir. İkişerli gruplar halinde yüzdürülen deney hayvanları resveratrol uygulamalarının bitiminden 24 saat sonra son yüzme egzersizini takiben hemen dekapite edilerek kan örnekleri alınmıştır.

4.5. Analizler

4.5.1. Serum'da Element Analizleri

Dört hafta devam eden çalışmadan sonra hayvanların hepsinden sabah 09:00-10:00 saatleri arasında dekapitasyonla gerekli analizlerde kullanılmak üzere kan örnekleri alınarak analiz zamanına kadar kan örnekleri -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Alınan kan örneklerinde kalsiyum magnezyum, mangan, demir, bakır, çinko, fosfor ve selenyum düzeyleri atomik emisyon cihazında tayin edilmiştir.

4.5.1.1. Serumda kemik yapım ve yıkımıyla parametrelerin analizi

Kemik yapımıyla ilişkili olarak Alkalen Fosfataz, Osteokalsin düzeyleri, Kemik yıkımıyla ilişkili olarak da Hidroksi pirolin ve pridolin düzeyleri tayin edilmiştir.

4.6.1. Serum Serbest Radikal ve Antioksidan Parametrelerinin Tayini

4.6.1.1. Serum Malondialdehid (MDA) Düzeylerinin Belirlenmesi

Serum MDA düzeyinin belirlenmesi Uchiyama ve Mihara yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Analiz edilecek doku parçalara ayrıldıktan sonra tartılarak tüplere konulmuş ve 40 °C'de Misonix's Microscan ultrasonic doku parçalayıcısında 150 mM KCl'de % 10'luk homejenat oluşacak şekilde parçalanmıştır. Homojenize dokudan 2 ml alınarak üzerine sırasıyla, 2 ml % 8'lik HClO₄'ye konulup 3000 devirde 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. 0.5 ml süpernatanta 3ml % 1'lik H₃PO₄ ve 1 ml % 0.675'lik TBA ilave edilip 90°'lik su banyosunda 45 dakika inkübasyon yapılmıştır. Karışımın soğutulmasından hemen sonra, üzerlerine 4 ml n-bütanol ile ekstrakte edilecek ve n-bütanole karşı 532 nm'de absorbansı okunmuştur. Yoğunluk c=108.9A olarak sağlandı. Sonuç mg/g olarak tanımlanmıştır.

4.6.1.2. Serum Glutasyon Analizi

GSH düzeylerini belirlemek için MDA'da tanımlandığı gibi doku 4°C'de 150 mm KCl'de % 10'luk homojenat oluşacak şekilde homojenize edilerek, 3000 devirde 15 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Örneklerin GSH miktarları Ellman's metoduyla ölçülmüştür. 200µl süpernatant için, 8 ml fosfat buffer (pH 6,8), 78 ml 1 N NaOH ve 100µl Ellman's solüsyonu ilave edilerek 5 dakika bekletildikten sonra spektrofotometre cihazında 412 nm'de distile suya karşı absorbansları okunmuştur. Aktivite $a=(A_{\text{standard}}/A_{\text{örnek}}) \times C_{\text{standard}}$ olarak hesaplanmıştır. Burada cstandard=15.34 g/100 ml olarak verilmiştir.

4.7. İstatistiksel Analizler

Araştırmada grup içi ve gruplar arası ölçümler arası farklılıkların belirlenmesinde varyans analizinden yararlanılmış; farklılık bulunan grupların belirlenmesi için Duncan'ın Multiple Range Testi uygulanmıştır. Fiziksel performans değerlerinin karşılaştırılmasında ise t-testinden faydalanılmıştır. İstatistik analizler SPSS 22.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır.



5. BULGULAR

Tablo 1. Araştırma Gruplarının Serum MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması

Gruplar	N	MDA(μ mol/L)	GSH (mg/L)
Kontrol (G1)	7	6,52 \pm 1,49 ^b	263,43 \pm 28,93 ^b
Egzersiz (G2)	7	10,17 \pm 1,25 ^a	198,16 \pm 24,20 ^c
Resveratrol (G3)	7	6,60 \pm 1,09 ^b	252,11 \pm 14,37 ^b
Resveratrol+ Egzersiz (G4)	7	6,59 \pm 0,83 ^b	330,36 \pm 73,31 ^a
Overektomi+Kontrol (G5)	7	11,72 \pm 2,94 ^a	202,74 \pm 35,81 ^c
Overektomi+Egzersiz (G6)	6	11,92 \pm 2,15 ^a	212,99 \pm 48,51 ^c
Overektomi+Resveratrol (G7)	7	7,81 \pm 2,43 ^b	321,90 \pm 56,20 ^a
Overektomi+Resveratrol+Egzersiz (G8)	7	7,87 \pm 1,58 ^b	302,50 \pm 35,05 ^a

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplararası ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (P<0.05).

Gerçekleştirilen çalışmada grupların serum MDA düzeyleri karşılaştırıldığında, grup 2, grup 5 ve grup 6'nın diğer gruplara göre önemli düzeyde yüksek MDA düzeylerine sahip olduğu görüldü (P<0,05). Grup 1, grup 3, grup 4, grup 7 ve grup 8'in MDA düzeyleri ise birbirine benzemekle (P>0,05) birlikte diğer gruplardan önemli düzeyde düşük olarak belirlendi (P<0,05). Çalışmada grupların serum GSH düzeyleri incelendiğinde, grup 4, grup 7 ve grup 8'in diğer gruplara göre önemli düzeyde yüksek GSH düzeylerine sahip olduğu tespit edildi (P<0,05).

Grup 2, grup 5 ve grup 6 serum GSH düzeylerinin ise önemli düzeyde düşük olduğu görüldü ($P<0,05$). Grup 1 ve grup 3 GSH düzeylerinin de grup 2, grup 5 ve grup 6'dan önemli şekilde yüksek olduğu belirlendi ($P<0,05$).

Tablo 2. Araştırma Gruplarının Serum Demir, Magnezyum ve Bakır Düzeylerinin Karşılaştırılması

Gruplar	N	Demir ($\mu\text{g/dl}$)	Magnezyum (mg/dl)	Bakır ($\mu\text{g/dl}$)
Kontrol (G1)	7	4,51 \pm 0,37 ^a	38,72 \pm 3,01 ^a	1,16 \pm 0,35 ^b
Egzersiz (G2)	7	3,09 \pm 0,71 ^a	36,87 \pm 3,33 ^a	0,83 \pm 0,17 ^c
Resveratrol (G3)	7	4,21 \pm 0,90 ^a	37,40 \pm 1,93 ^a	0,59 \pm 0,14 ^c
Resveratrol+ Egzersiz (G4)	7	3,25 \pm 0,40 ^a	37,34 \pm 2,07 ^a	0,57 \pm 0,21 ^c
Overektomi+Kontrol (G5)	7	4,05 \pm 0,54 ^a	38,90 \pm 4,04 ^a	1,70 \pm 0,53 ^b
Overektomi+Egzersiz (G6)	6	4,36 \pm 0,21 ^a	37,11 \pm 2,53 ^a	2,76 \pm 1,57 ^a
Overektomi+Resveratrol (G7)	7	4,58 \pm 0,28 ^a	37,70 \pm 12,55 ^a	1,79 \pm 1,46 ^b
Overektomi+Resveratrol+Egzersiz (G8)	7	4,36 \pm 0,47 ^a	38,37 \pm 2,93 ^a	1,53 \pm 0,37 ^b

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplararası ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($P<0,05$).

Gerçekleştirilen çalışmada, tüm grupların serum demir ve magnezyum düzeyleri arasında önemli bir fark tespit edilmedi ($P>0,05$). Çalışmada grupların serum bakır düzeyleri karşılaştırıldığında, en yüksek bakır düzeyi grup 6'da elde edildi ($p<0,05$). En düşük serum bakır düzeyleri ise grup 2, 3 ve 4' te tespit edildi. Çalışmada grup 1, 5, 7 ve 8'in serum düzeyleri ise birbirine benzerdi ($P<0,05$).

Tablo 3. Araştırma Gruplarının Grupların Serum Çinko, Selenyum, Kalsiyum ve Fosfor Düzeylerinin Karşılaştırılması

Gruplar	N	Çinko (µg/dl)	Selenyum (µg/dl)	Kalsiyum (mg/dl)	Fosfor (mg/dl)
Kontrol (G1)	7	0,95±0,17 ^c	1,02±0,06 ^a	10,69±0,40 ^c	11,42±0,14 ^c
Egzersiz (G2)	7	1,19±0,31 ^b	1,17±0,19 ^a	11,40±0,82 ^b	12,28±0,89 ^b
Resveratrol (G3)	7	0,75±0,75 ^c	1,17±0,05 ^a	10,45±0,47 ^c	11,57±0,29 ^c
Resveratrol+ Egzersiz (G4)	7	1,22±0,29 ^b	1,28±0,16 ^a	11,52±0,80 ^b	12,02±0,92 ^b
Overektomi+Kontrol (G5)	7	1,31±0,38 ^a	1,00±0,36 ^a	12,58±1,00 ^a	13,57±0,45 ^a
Overektomi+Egzersiz (G6)	6	1,37±0,27 ^a	1,25±0,25 ^a	12,15±0,63 ^a	13,31±0,37 ^a
Overektomi+Resveratrol (G7)	7	0,83±0,11 ^c	1,06±0,07 ^a	10,47±0,33 ^c	11,30±0,18 ^c
Overektomi+Resv+Egzer (G8)	7	1,02±0,16 ^c	1,23±0,11 ^a	10,22±0,66 ^c	11,34±0,22 ^c

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplararası ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (P<0.05).

Gerçekleştirilen çalışmada, tüm grupların serum selenyum düzeyleri arasında önemli bir fark tespit edilmedi (P>0,05). Gerçekleştirilen çalışmada, en yüksek serum çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri, grup 5 ve 6' da elde edildi (P<0,05). En düşük serum çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri ise grup 1, 3,7 ve 8'de tespit edildi (P<0,05). Grup 2 ve 4'ün serum çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri ise birbirine benzerdi (P>0,05).

Tablo 4. Araştırma Gruplarının Grupların Serum Alkalen Fosfataz, Hidroksipirolin, Osteokalsin ve Pridinolin Düzeylerinin Karşılaştırılması

Gruplar	N	Alkalen Fosfataz (U/L)	Hidroksipirolin (ng/L)	Osteokalsin ng/ml	Pridinolin nmol/ml
Kontrol (Grup 1)	7	204,24±22,24 ^b	334,32±25,19 ^b	4,29±0,71 ^b	3246,54±763,10 ^b
Egzersiz (Grup 2)	7	207,58±15,40 ^b	342,18±101,87 ^b	3,87±0,65 ^b	3497,44±821,29 ^b
Resveratrol (Grup 3)	7	229,70±72,93 ^b	339,72±156,74 ^b	4,33±0,34 ^b	3631,04±496,81 ^b
Resveratrol+Egzer (G4)	7	207,01±16,60 ^b	331,77±37,94 ^b	4,17±0,63 ^b	3300,11±542,17 ^b
Overektomi+Kontrol (G5)	7	173,75±26,08 ^c	556,55±11,86 ^a	3,76±0,35 ^c	4859,90±932,76 ^a
Overekt+Egzersiz (G6)	6	176,03±19,28 ^c	601,26±91,52 ^a	3,33±0,99 ^c	4857,44±633,32 ^a
Overekt+Resveratrol (G7)	7	306,29±52,98 ^a	312,33±59,51 ^c	5,75±0,91 ^a	2536,63±777,65 ^c
Overekt+Resv+Egzer (G8)	7	327,88±72,68 ^a	301,22±127,51 ^c	5,36±0,96 ^a	2274,15±309,65 ^c

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplararası ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (P<0.05).

Gerçekleştirilen çalışmada, grup 5 ve grup 6'nın serum Alkalen Fosfataz ve Osteokalsin düzeyleri önemli şekilde diğer gruplardan düşüktü (P<0,05). En yüksek Alkalen Fosfataz ve Osteokalsin düzeyleri ise grup 7 ve 8' de elde edildi (P<0,05). Diğer grupların serum Alkalen Fosfataz ve Osteokalsin düzeyleri ise

birbirine benzerdi ($P>0,05$). Çalışmada en yüksek serum Hidroksipirolin ve Pridinolin düzeyi grup 5 ve 6'da elde edildi ($P<0,05$). En düşük Alkalen Fosfataz ve Osteokalsin düzeyleri ise grup 7 ve 8' de elde edildi ($P<0,05$). Diğer tüm grupların serum Osteokalsin düzeyleri ise farklı değildi ($P>0,05$).



6. TARTIŞMA

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada en yüksek plazma MDA ve en düşük eritrosit GSH düzeyleri ovaryumları alınmış egzersiz (G6), sadece egzersiz (G2) ve overektomi (G5) gruplarında elde edildi.

Oksidatif stresin osteoporoz, kemik tümörü gelişimi, diyabetin neden olduğu kemik komplikasyonları ve eklem iltihabi hastalıkları dahil olmak üzere kemik patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir (156). Bu nedenle de ovaryumları alınmış sıçanlarda kemik dokuda serbest radikal üretimindeki artış kemik yıkımıyla sonuçlanır (157). Bu bilgiler birlikte değerlendirildiğinde oksidatif stresin kemik sağlığı üzerinde zararlı etkilere yol açtığı sonuç olarak söylenebilir. Sağlıklı yaşam için önerilmesine rağmen orta düzeyde fiziksel egzersizin, oksidatif stres, inflamasyon ve kas hasarına neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle fiziksel aktivitenin yol açtığı oksidatif strese karşı diyet stratejileri geliştirmek konusunda yoğun bir çaba söz konusudur (158). Ağır bir egzersiz esnasında tüm vücut oksijen alımını dinlenme düzeyine göre yaklaşık 20 kat kadar artabilmektedir. Bununla birlikte aktif kas liflerinde oksijen tüketimi 200 kat kadar artabilmektedir. Bu gelişen olayların sonucunda da, mitokondriyal metabolik sızıntıların varlığı egzersiz sırasında serbest radikal üretiminde artışa yol açmaktadır (159,160). Hem egzersizin, hem de overektominin serbest radikal üretimini artırmasından yola çıkarak, egzersiz yaptırılan overektomili sıçanlarda artmış serbest radikal üretimi de sürpriz değildir. Bu yönüyle çalışmamızda ovaryumları alınmış egzersiz (G6), sadece egzersiz (G2) ve overektomi (G5) gruplarında elde ettiğimiz artmış MDA ve azalmış GSH değerleri beklenen bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

Biz yine çalışmamızda resveratrol uygulaması yapılmış egzersiz (G4), resveratrol uygulaması yapılmış overektomi (G7) ve resveratrol uygulaması ile egzersizin kombine yaptırıldığı overektomi (G8) gruplarında, uygulama yapılmamış gruplara oranla azalmış MDA ve artmış GSH değerleri elde ettik.

Resveratrol, üzüm ve yerkıstığı gibi yenelir bitkilerden türetilen bir fenolik fitokimyasal olup, çoklu organ sistemleri üzerinde fizyolojik etkileri olan bir biyoaktif moleküldür (158). Resveratrolün etkileri kardiyovasküler, nöronal, antineoplastik yanıtlar da dahil, nefron koruyucu bir yelpaze arasında değişir (161). Bu özelliklerine bağlı olarak da resveratrol yaygın bir antioksidan ve anti-inflamatuar bir molekül olarak tanımlanır (159,162). Buna paralel olarak, lipid peroksidasyonunun oluşturulduğu deneysel çalışmalarda resveratrol'ün oldukça etkili antioksidan olan askorbik asit / α -tokoferol kombinasyonu kadar kuvvetli etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (163). Resveratrol bir çok iltihabi durumlarda da bir antioksidan olarak rapor edilmiştir. Özellikle aşırı marofaj aktivasyonu sırasında ortaya çıkan reaktif oksijen ürünlerinin yol açtığı oksidatif stresin önlenmesinde resveratrolün koruyucu etkisi gösterilmiştir (164). Resveratrolün antioksidan etkileri nedeniyle Multipl skleroz (MS) tedavisinde de potansiyel bir katkı sağlayabileceği Ghaiad ve ark. (2016) tarafından rapor edilmiştir (165). Sıçan testisinde oluşturulan epididimal toksisitede resveratrolün testis ve epididim metabolizması üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu, testiküler ve epididimal oksidatif hasarı önlediği bildirilmiştir. Aynı çalışmada resveratrolün testis dokusunda çok yönlü koruyucu aktiviteye (steroidojenik ve antioksidan) sahip olduğu kanısına varılmıştır (166).

Son yıllarda resveratrolün, oksidatif hasarı önleme yeteneğinin yanı sıra fiziksel performansın modülasyonundaki rolü de araştırılmaya başlanmıştır (34). Yaşlı farelerde resveratrol uygulamasının lipid peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir (167). Benzer bulgular Dal-Ros ve ark. (2009) tarafından da gösterilmiştir (168). On dört sporcu üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada resveratrol uygulamasının egzersizin yol açtığı lipid peroksidasyonunu önlediği bildirilmiştir (169). Düzenli egzersiz eğitimi ayrıca reaktif oksijen türlerindeki azalmayla bağlantılı olarak damar fonksiyonlarını iyileştirir (170). Egzersiz eğitimi süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu (ifadesini) artırır (171,172). Egzersize benzer şekilde, resveratrol endotel (173,174) ve düz kas hücrelerinde bu antioksidan enzimlerin ifadesini artırır (172). Son zamanlarda, hipertansif hastalarda izole damarlarda artmış SOD2 ekspresyonu yoluyla resveratrolün ayrıca damar hasarını azalttığı gösterilmiştir (5). Resveratrolün bu özelliği nükleer faktör eritroid-kökenli 2-benzeri transkripsiyon faktörü (Nrf2) aktivasyonuna bağlı olabileceği görülmektedir (5). Egzersizin aksine, resveratrol ayrıca reaktif oksijen türlerini temizler (175,174), Bu da resveratrolün egzersiz eğitimi ötesinde oksidatif stresi hafifletmek için ek fayda sağladığını düşündürür. Zaten gerçekleştirdiğimiz çalışmada da; resveratrol uygulaması yapılmış egzersiz (G4), resveratrol uygulaması yapılmış overektomi (G7) ve yine resveratrol uygulaması ve egzersiz yaptırılmış overektomi (G8) gruplarında uygulama yapılmamış gruplara oranla elde ettiğimiz azalmış MDA ve artmış GSH değerleri resveratrolün lipid peroksidasyonu önleyici etkisinin, antioksidan aktivite aracılığıyla olduğunu gösterir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular yukarıda

raporları sunulan literatür bilgilerle de kuvvetli uyum gösterir. Özellikle çalışmamızda resveratrol uygulaması yapılmış overektomi (G7) ve yine resveratrol uygulaması ve egzersiz yaptırılmış overektomi (G8) gruplarında elde ettiğimiz azalmış MDA ve artmış GSH düzeyleri, menopoz-egzersiz ve resveratrol ilişkisinin araştırıldığı ilk çalışma olabilir. Çalışmamamızın bu kısmıyla ilgili bulguları bu yönüyle orijinal olarak değerlendirilebilir.

Fiziksel egzersizin element metabolizmasını nasıl etkilediği konusunda çelişkili bilgiler vardır. Marrella ve ark. (1993) fiziksel egzersizin element metabolizmasını önemli şekilde değiştirebileceğini rapor etmişlerdir (176). Buna karşın elementlerin kan ve dokulardaki dağılımı üzerine fiziksel egzersizin önemli bir etkisinin bulunmadığını bildiren raporlarda vardır (177). Yine egzersizin kandaki element düzeyleri üzerine etkisi olsa bile, bunun egzersizin sonucunda ortaya çıkan hemokonsantrasyon mekanizmasının doğal bir sonucu olduğunu ilersüren yayınlarda söz konusudur (178). Ağır fiziksel egzersizin eser element metabolizmasını bozarak bağışıklık sisteminde baskılanma ve enfeksiyonlara neden olabileceği bildirilerek, konunun sadece performans yönüyle değil sporcu sağlığı ve beslenmesi yönünden de önemli olabileceğine dikkat çekilmektedir (179). Bu nedenle de sporcuların sedanterlerden daha fazla minerale ihtiyaç duydukları kabul edilmektedir (180). Gerçekleştirdiğimiz araştırmada tüm grupların demir ve magnezyum düzeyleri arasında önemli bir farklılık tespit edilmedi. Ancak ilginç olarak kontrol egzersiz, resveratrol+egzersiz ve sadece resveratrol uygulanan (G2, G3 ve G4) grupların bakır düzeyleri kontrol grubuna oranla önemli şekilde azalmış bulundu. Aslında burada ilginç olan resveratrol uygulamasının egzersizden bağımsız olarak bakır seviyelerini azaltmasıdır. Birçok

çalışma bakır düzeylerindeki artışın antioksidan aktiviteyi baskıladığını bildirmektedir (181,182). Çalışmamızda sadece resveratrol uygulamasıyla elde ettiğimiz egzersizden bağımsız azalmış bakır düzeyleri resveratrolun antioksidan etkisini göstermesi bakımından önemlidir. Yine çalışmamızda kontrol egzersiz ve resveratrol+egzersiz (G2 ve G4) gruplarının çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri, kontrol ve sadece resveratrol uygulanan kontrol (G1 ve G3) gruplarına oranla önemli ölçüde yüksek seviyede bulundu. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular egzersizin bu parametrelerde meydana getirdiği artışın fiziksel aktivitenin element metabolizmasını etkilediğini bildiren araştırmacıların bulgularıyla uyumludur (183,184).

Kemik dokusunun normal fonksiyonunu yapabilmesi; kemik hacmi ve bu hacmin mikromimarik dağılımının yanısıra, çeşitli elementlerin kemik dokusundaki mineralizasyon derecesine de bağlıdır (185). Özellikle hidroksiapatit kristallerinin oluşumunda magnezyum, çinko ve fosfat başta olmak üzere çok sayıda elementlerin varlığına ihtiyaç vardır (185). Kemiklerin büyümesi, geliştirilmesi ve korunması için önemli olan elementlerden birisi de çinkodur. Çinko, kemik yapımını uyarırken, kemik yıkımını engeller, kemik dokudaki protein sentezini, kemik kütlesini ve hacmini artırır (186,187). Zaten osteoporoz hastalarında normal bireylerden (Reginster ve ark 1988) daha düşük seviyelerde iskelet çinkosu olduğu gösterilmiştir. Kemik gelişimi için gerekli olan elementlerden bir tanesi de demirdir (188). Eksikliği; kemik mineral yoğunluğu, içeriği ve kırılabilirliği gibi bozukluklara yol açar (189). Kemik dokusunda önemli olan elementlerden bir tanesi de bakırdır. Bakır kollajen gelişiminde önemlidir

(190). Bu nedenle de kemik doku ve element metabolizmasının araştırılmasında artan bir ilginin olduğu söylenebilir.

Gerçekleştirdiğimiz araştırmada çalışma gruplarının demir, selenyum ve magnezyum değerleri birbirinden farklı değildi. Mevcut çalışmada en yüksek bakır düzeyleri overektomili egzersiz (G6) grubunda elde edildi. Bakır düzeyleri yönünden grup 6'da elde ettiğimiz artış overektomize sıçanlarda egzersizin serbest radikal üretiminde ilave bir artışa yol açabileceğini düşündürmektedir. Zira birçok çalışma bakır düzeylerindeki artışın antioksidan aktiviteyi baskıladığını bildirmektedir (181,182). Buna karşın egzersiz yaptırılan overektomili sıçanlara resveratrol desteği (G8) bakır düzeylerindeki artışı geri çevirmiştir. Bu da resveratrolun bakır düzeylerini azaltmak suretiyle antioksidan yönünü gösterir. (159,183). Çalışmamızda serumdaki çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrol grubuna (G1) oranla overektomize kontrol ile overektomize egzersiz (G5 ve G6) gruplarında daha yüksek bulundu. Resveratrol uygulaması overektomize ve overektomize egzersiz (G7 ve G8) gruplarında çinko, kalsiyum ve fosfor düzeylerindeki artışı kontrol grubu (G1) değerlerine yaklaştırdı.

Diyabetik sıçanlarda ortaya çıkan kemik bozukluklarının resveratrol uygulamasıyla düzeltildiğinin rapor edilmesi (191) resveratrolun kemik metabolizması üzerindeki etkilerini gösterir. Benzer şekilde yoğun kemotreapi gören kanser hastalarında ortaya çıkan kemik harabiyetinin resveratrol desteğiyle önlenebileceği gösterilmiştir (192). Sonuç olarak resveratrolun kemik kayıplarını önleyici etkisi birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (191, 192, 193). Gerçekleştirdiğimiz çalışmada en yüksek çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri

overektomize kontrol ile overektomize egzersiz (G5 ve 6) gruplarında elde edildi. Kalsiyum ve fosforun kemik metabolizmasındaki bilinen etkilerinin yanı sıra (194,195), önemli bir eser element olan çinko da kemik metabolizmasıyla yakın ilişkilidir (186,187). Biz mevcut çalışmamızda deney hayvanlarının kemik dokudaki elemental değişikliklerini tayin edemedik. Ancak serumda elde ettiğimiz yüksek çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri bu parametrelerdeki artışın kemik dokudaki yıkımın bir sonucu olabileceğini düşündürmektedir. Zira Szatmahari ve ark (1993)'ı osteoporozda artmış çinko atılımının kemik metabolizmasındaki değişikliklerin belirlenmesinde bir kriter olabileceğine dikkat çekmektedirler (196). Yine çalışmamızda resveratrol desteği çinko, kalsiyum ve fosfor düzeylerindeki artışı overektomize ve overektomize egzersiz (G7 ve G8) gruplarında önleyerek kontrol değerlerine yaklaştırmıştır. Elde ettiğimiz bu bulgu resveratrolün kemik dokudaki bahsedilen elementlerin kayıplarını önlediğini göstermektedir.

Mevcut çalışmada sıçanlarda kemik yıkımının belirteci olarak hidroksiprolin ve pridinolin tayinleri gerçekleştirilirken, kemik yapımıyla ilgili olarak da alkalen fosfataz ve osteokalsin tayinleri kullanılmıştır. En yüksek hidroksiprolin ve pridinolin düzeyleri overektomi ve egzersiz yaptırılan overektomili gruplarda (G5 ve G6) elde edilirken, en düşük hidroksiprolin ve pridinolin seviyeleri ise resveratrol uygulanan overektomili gruplarda (G7 ve G8) elde edildi.

Osteoporoz, düşük kemik kitlesi, yapısal bozulma, azalmış kemik kuvveti ve artmış kemik kırığı riski ile karakterize bir iskelet hastalığıdır (197). Yaşlı popülasyonun artışına bağlı olarak görülme sıklığı da artan osteoporoz milyonlarca insanı etkileyen bir halk sağlığı sorunudur (197,198). Özellikle

kadınlar, menopozda azalan östrojen kaynaklı hızlı kemik kaybına bağlı olarak erkeklerden daha fazla osteoporoz riskiyle karşı karşıyadır (199). Yaşlılıkta fiziksel hareketsizlik ve uzamış yatak istirahati hem kadın, hem de erkeklerde kemik kaybını artırmaktadır (200).

Resveratrol, kemik metabolizmasını etkileyebilen östrojenik, antiinflamatuvar, antioksidan ve proliferatif özelliklere sahiptir (201). Bu nedenle de osteoporoz riskini azaltmak için resveratrolün potansiyel bir tedavi aracı olarak kullanımı umut vadetmektedir (198). Resveratrol, antioksidan ve anti-inflamatuvar özellikleri nedeniyle yaşlanmayı geciktirebilecek bir bileşik olarak da değerlendirilmektedir (158). Yaşlılarda artmış inaktivite ve yaşa bağlı kemik kayıplarının önlenmesinde resveratrol desteğinin kemik dokuda osteoblastik aktiviteyi artırarak yaşa bağlı kemik kayıplarını önleyebileceği rapor edilmiştir (202). Zhang ve ark (2015) gerçekleştirdikleri çalışmalarında resveratrol'ün kemik onarımı için potansiyel bir terapötik ajan olabileceğini, özellikle inflamasyonla ilişkili kemik hastalıklarının tedavisinde mezenkimal kök hücre kaynaklı hücre terapisindeki rolünün kritik olabileceğine dikkat çekmişlerdir (203). Yine benzer şekilde, resveratrol tedavisinin kritik boyutlu kemik defektlerinin onarımını ve implantların biyomekanik tutulumunu iyileştirmesinin yanı sıra, resveratrolün bir doğal ajan olarak önemli osteojenik belirteçlerin gen ekspresyonu aktive edebileceği de gösterilmiştir (204). Menopoz östrojen eksikliği sonucu kemik kaybına neden olur. Osteopenia ve osteoporozun tedavisine yönelik farmasötik seçeneklere rağmen, kemik kaybını ve diğer menopozla ilgili semptomları önlemek için östrojenik aktiviteye sahip diyet takviyeleri kullanılır ki; resveratrol da bunlardan biridir

(205). Özellikle resveratrolün ovaryumları alınmış sıçanlarda kayada değer anti-osteoporoz etki gösterdiği, resveratrol desteğinin kemik mineral yoğunluğu, kemik hacmi / doku hacmi, trabeküler kalınlık gibi parametreler üzerinde artırıcı etkiye sahip olduğu Hao ve ark (2015) tarafından bildirilmiştir (206). Resveratrol uygulamasının egzersiz yaptırılan sıçanlarda kemik parametrelerini iyileştirdiği Cardosa ve ark (2017) tarafından da rapor edilmiştir (207).

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada resveratrol uygulaması overektomili sıçanlarda (G7 ve G8) resveratrol uygulaması yapılmayan overektomili sıçanlara (G5 ve G6) oranla kemik yıkım belirteçlerinde baskılanma, kemik yapım parametrelerinde de ise artışla sonuçlanmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, resveratrol desteğinin kemik dokuda osteoblastik aktiviteyi artırarak kemik kayıplarını önleyebileceğini ileri süren yukarıdaki araştırmacıların raporlarıyla paralellik arz eder.

Ancak çalışmamızda kontrol ve/veya egzersiz gruplarında (G3 ve G4) resveratrol desteği kemik yapım parametrelerinde anlamlı bir artışa yol açmamıştır. Elde ettiğimiz bu bulgu kritiktir. Zira resveratrol desteği ovaryumları alınmış sıçanlarda kemik dokudaki bozuklukları düzeltirken, normal sıçanların dokusunda ilave bir uyarıya yol açmamıştır. Bu da resveratrolün özellikle menoposal dönemde östrojen yoksunluğuna bağlı olarak ortaya çıkabilecek kemik kayıplarının önlenmesinde potansiyel bir tedavi aracı olacağını gösterir.

Sonuç olarak; çalışmamızın bulguları bir bütün olarak düşünüldüğünde;

1. Overektomize, egzersiz yaptırılan overektomize ve sadece egzersiz yaptırılan sıçanlarda artan serbest radikal üretimi ve dolayısıyla doku hasarı resveratrol desteğiyle önleneceği sonucuna varılmıştır.
2. Yine çalışmamızda overektomize, egzersiz yaptırılan overektomize sıçanlarda kemik yıkımına bağlı olarak arttığı düşünülen çinko, kalsiyum ve fosfor düzeyleri resveratrol desteğiyle başlangıç değerlerine ulaşarak iyileştirici etki sağlamıştır.
3. Yine overektomize, egzersiz yaptırılan overektomize sıçanlarda artan kemik yıkımını gösteren belirteçlerin resveratrol desteğiyle baskılanması resveratrolün kemik kayıplarını önlediğini gösterdiğini söyleyebiliriz.
4. Çalışmamızın vurgulanması gereken en önemli sonucu; resveratrol desteğinin ovaryumları alınmış sıçanlarda kemik dokudaki kayıpları önlediği konusundaki sonucuna ulaşmamızdır.

Sonuçta; Egzersiz uygulaması ile birlikte oluşan serbest radikallerin olumsuz etkilerini resveratrol ile ortadan kaldırarak; artan ve azalan mineral kayıplarını başlangıç seviyelerine tekrar döndürerek; egzersize bağlı kemik yıkımlarının ortaya çıkaracağı olumsuz durumları tolere ederek; hem toplum sağlığı hemde sporcu performansı üzerinde anlamlı sonuçlar doğurabileceği düşüncesindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Sarı H, Terzioğlu M ve Erdoğan F. Farklı spor branşlarındaki sporcular ile sedanter kişilerin istirahat, egzersiz ve dinlenmede solunum-dolaşım parametrelerinin karşılaştırılması, Spor Hek Derg, 1981; 16, 121 – 133.
2. Groog L, Stenman S, Groop PH, Makipemaa A and Teppo MA. The effect of exercise on urinary excretion of different size proteins in patients with insulin dependent diabetes mellitus, Scand J Clin Lab Invest, 1990; 50, 525 – 532.
3. Çınar V. Sporcu ve Sedanterlerde Ağırlık Antrenmanları ile Çinko Takviyesinin Bazı Fiziksel ve Hematolojik Parametrelere Etkisi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beden Eğitimi ve spor ABD Doktora Tezi, 2011:Elazığ.
4. Mertz W. The essential trace elements, Science, 1981; 213, 1332 – 1338.
5. Carrizzo A, Puca A, Damato A, Marino M, Franco E, Pompeo F, Traficante A, Civitillo F, Santini L, Trimarco V, et al: Resveratrol improves vascular function in patients with hypertension and dyslipidemia by modulating NO metabolism. Hypertension 62: 359-366, 2013.
6. Raj P, Louis XL, Thandapilly SJ, Movahed A, Zieroth S and Netticadan T: Potential of resveratrol in the treatment of heart failure. Life Sci 95: 63-71, 2014.
7. Voduc N, la Porte C, Tessier C, Mallick R and Cameron DW: Effect of resveratrol on exercise capacity: A randomized placebo-controlled crossover pilot study. Appl Physiol Nutr Metab 39: 1183-1187, 2014.
8. Wu RE, Huang WC, Liao CC, Chang YK, Kan NW and Huang CC: Resveratrol protects against physical fatigue and improves exercise performance in mice. Molecules 18: 4689-4702, 2013.
9. Joe AK, Liu H, Suzui M, Vural ME, Xiao D and Weinstein IB: Resveratrol induces growth inhibition, S-phase arrest, apoptosis, and changes in biomarker expression in several human cancer cell lines. Clin Cancer Res 8: 893-903, 2002.
10. Soleas GJ, Yan J and Goldberg DM: Ultrasensitive assay for three polyphenols (catechin, quercetin and resveratrol) and their conjugates in biological fluids utilizing gas chromatography with mass selective detection. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 757: 161-172, 2001.
11. Moynihan KA, Grimm AA, Plueger MM, Bernal-Mizrachi E, Ford E, Cras-Méneur C, Permutt MA and Imai S: Increased dosage of mammalian Sir2 in pancreatic beta cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice. Cell Metab 2: 105-117, 2005.

12. Milne JC, Lambert PD, Schenk S, Carney DP, Smith JJ, Gagne DJ, Jin L, Boss O, Perni RB, Vu CB, et al: Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature* 450: 712-716, 2007.
13. Walle T, Hsieh F, DeLegge MH, Oatis JE Jr, Walle UK. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* 2004; 32(12):1377-1382.
14. Bertelli AAE, Giovannini DE, Caterina RL, Bernini W, Migliori M, Fregoni M. et al, Antiplatelet activity of cis-resveratrol. *Drugs under Experimental and Clinical Research* 1996; 22: 61–63.
15. Bertelli AA, Giovannini L, Stradi R, Bertelli A and Tillement JP: Plasma, urine and tissue levels of trans- and cis-resveratrol (3,4,5-trihydroxystilbene) after short-term or prolonged administration of red wine to rats. *Int J Tissue React* 18: 67-71, 1996.
16. Signorelli P, Ghidoni R. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2005; 16 (8): 449-466.
17. Bradamante S, Barengi L, Villa A. Cardiovascular protective effects of resveratrol. *Cardiovascular Drug Reviews* 2004; 22(3):169-188.
18. Nigdikar SV, Williams NR, Griffin BA, Howard AN. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1998; 68: 258-65.
19. Laden BP, Porter TD. Resveratrol inhibits human squalene monooxygenase. *Nutrition Research* 2001; 21: 747–53.
20. Chanvitagapongs S, Draesynska-Lwiak B, Sun A. Amelioration of oxidative stress by antioxidants and resveratrol in PC12 cells. *Neuro Report* 1997; 8: 1499–1502.
21. El-Mowafy AM, Alkhalaf M. Resveratrol activates adenylate cyclase in human breast cancer cells: a novel, estrogen receptor-independent cytostatic mechanism. *Carcinogenesis* 2003; 24(5): 869-873.
22. Woo JH, Lim JH, Kim YH, Suh SI, Min DS, Chang JS, Lee YH, Park JW, Kwon TK. Resveratrol inhibits phorbol myristate acetate-induced matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting JNK and PKC delta signal transduction. *Oncogene* 2004; 23(10): 1845–1853.
23. Shin NH, Ryu SY, Choi EJ, Kang SH, Chang IM, Min KR, Kim Y. Oxysresveratrol as the potent inhibitor on Dopa oxidase activity of mushroom tyrosinase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1998; 243: 801–803.

24. Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'? *European Journal of Endocrinology* 1998; 138(6): 619-620.
25. Rocha-González HI, Ambriz-Tututi M, Granados-Soto V. Resveratrol: a natural compound with pharmacological potential in neurodegenerative diseases. *CNS Neuroscience and Therapeutics* 2008; 14: 234–47.
26. Giovannini L, Migliori M, Longoni BM, Das DK, Bertelli AA, Panichi V, Filippi C, Bertelli A. Resveratrol, a polyphenol found in wine, reduces ischemia reperfusion injury in rat kidneys. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2001; 37: 262–270.
27. Baxter RA. Anti-aging properties of resveratrol: review and report of a potent new antioxidant skin care formulation. *Journal of Cosmetic Dermatology* 2008;7: 2–7.
28. Serazetdinova L, Oldach KH, Lörz H. Expression of transgenic stilbene synthases in wheat causes the accumulation of unknown stilbene derivatives with antifungal activity. *Journal of Plant Physiology* 2005; 162(9): 985-1002.
29. Daviglus ML, Lloyd-Jones DM and Pirzada A: Preventing cardiovascular disease in the 21st Deweerdt S. Prevention: Activity is the best medicine. *Nature* 475: 16-17, 2011.
30. Bertram MY, Lim SS, Barendregt JJ and Vos T: Assessing the cost-effectiveness of drug and lifestyle intervention following opportunistic screening for pre-diabetes in primary care. *Diabetologia* 53: 875-881, 2010.
31. Church T: Exercise in obesity, metabolic syndrome, and diabetes. *Prog Cardiovasc Dis* 53: 412-418, 2011.
32. Deweerdt S: Prevention: Activity is the best medicine. *Nature* 475: S16-S17, 2011.
33. Hurley BF, Hanson ED and Sheaff AK: Strength training as a countermeasure to aging muscle and chronic disease. *Sports Med* 41: 289-306, 2011.
34. Malaguti M, Angeloni C and Hrelia S: Polyphenols in exercise performance and prevention of exercise-induced muscle damage. *Oxid Med Cell Longev* 2013: 825928, 2013.
35. Ji LL, Gomez-Cabrera MC and Vina J: Role of free radicals and antioxidant signaling in skeletal muscle health and pathology. *Infect Disord Drug Targets* 9: 428-444, 2009.
36. Dolinsky VW and Dyck JR: Calorie restriction and resveratrol in cardiovascular health and disease. *Biochim Biophys Acta* 1812: 1477-1489, 2011.
37. Mercken EM, Carboneau BA, Krzysik-Walker SM and de Cabo R: Of mice and men: The benefits of caloric restriction, exercise, and mimetics. *Ageing Res Rev* 11: 390-398, 2012.

38. Schrauwen P and Timmers S: Can resveratrol help to maintain metabolic health? Proc Nutr Soc 73: 271-277, 2014.
39. Dolinsky VW, Jones KE, Sidhu RS, Haykowsky M, Czubryt MP, Gordon T and Dyck JR: Improvements in skeletal muscle strength and cardiac function induced by resveratrol contribute to enhanced exercise performance in rats. J Physiol 590: 2783-2799, 2012.
40. Gliemann L, Schmidt JF, Olesen J, Biensø RS, Peronard SL, Grandjean SU, Mortensen SP, Nyberg M, Bangsbo J, Pilegaard H, et al: Resveratrol blunts the positive effects of exercise training on cardiovascular health in aged men. J Physiol 591: 5047-5059, 2013.
41. Olesen J, Gliemann L, Biensø R, Schmidt J, Hellsten Y and Pilegaard H: Exercise training, but not resveratrol, improves metabolic and inflammatory status in skeletal muscle of aged men. J Physiol 592: 1873-1886, 2014.
42. Diplock AT, Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, Belgium, 1998. p 59.
43. Gönenç, S. Çocuklarda 4 Haftalık Yüzme Egzersizinin Antioksidan Enzimler ve Lipid Peroksidasyonuna Etkisi, Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniv. Tıp Fak İzmir. 1995.
44. Seshiah, P.N., Weber, D.S., Rocic, P., Valppu, L., Taniyama, Y., Griendling, K.K.. Angiotension II stimulation of NADPH oxidase activity: upstream U düzeylerine etkisi. Klnk. Psikofarmakoloji Bült. 2004.14: 185-190.
45. Altan N, Dinçel AS, Koca C, 2006. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. Türk Biyokimya Dergisi, 31 (2), 51-56.
46. Valko M, Rhodes Cj, Moncol J, Izakovic M, Manzur M, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions, 2006. 160, 1-40.
47. Adewole SO, Caxton-Martins EA, Ojewole JAO,. Projective effect of quercetin on the morphology of pancreatic β -cells of streptozotocin-treated diabetic rats. Afr. J Trad. CAM, 2007.4(1):64-74.
48. Halliwell B, Gutteridge JMC, Role of free radicals and catalytic metal ions in human diseases: An Overview, Methods in enzymology, 1990. 186, 1-86.
49. Yılmaz İ, Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2010. 17 (2): 143-53.
50. Gower J, Healing G, Fuller B, Simpkin S, Green CJ, Protection against oxidative damage incold-stored rabbit kidneys by deferroamine and indomethacin. Crybiology, 1989. 26: 309-17.

51. Deaton CM, Marlin DJ,. Exercise-associated oxidative stress, Clin TechEquine Pract, 2003. 2:27891.
52. Demirel H, Egzersizle oluşan kas hasarı. 7. Uluslararası spor bilimleri kongre kitabı. Antalya, 2002. 291-95.
53. Diplock AT, Gutteridge JMC, Shukie VKS, Antioxidant, free radical and polyunsaturated fatty acids in biology and medicine. Richeliven Press, London, 1993. p 437.
54. Akpoyraz M, Durak İ, Serbest radikallerin biyolojik etkileri. Ankara Tıp Mecmuası (The Journal of The Faculty Of Medicine), 1995.Vol. 48: 253-62.
55. Yu BP, Membrane alteration as a basis of aging and the protective effects of calorie restriction. Mech of Aging and Development. 2005. 126: 1003-10.
56. Mercan, U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. Yüzüncü yıl Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi Dergisi 2004. 15: 91-96.
57. Prasad, K., Karla, J., Chan, P., Chaudhary, A.K. Effect of oxygen free radicals on cardiovascular function at organ and cellular levels. American Heart Journal 1989. 117: 1196-1202.
58. Öztürk, M., Güzelhan, Y., Sayar, K., Tüzün, U. Yaygın Gelişimsel bozukluğu olan Çocuklarda Plazma Malondialdehit ve Glutatyon Düzeylerinin Araştırılması. Klinik Psikofarmoloji Bülteni 2001. 11: 155-159.
59. Yarıқтаş, M., Fehmi, D., Doğru, H., Aynalı, G., Yönden, Z., Delibaş, N. Baş-boyun malign tümörlerinde Malondialdehit Düzeyleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri 10: 65-67.
60. Aebi H, 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 2003. 105: 121-26.
61. Selamoğlu, S. Aerobik ve Anaerobik Antrenmanların Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi, Ege Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yayınlanmamış Doktora Tezi, İzmir. 1999.
62. Jenkins, R.R., Goldfarb, A. Introduction Oxidant Stress, Aging, and Exercise, Med Sci Spans Exercise 1993. 25: 210.
63. Şaşmaz, G.V. Genç Erkek Farelerde Farklı Sürelerdeki Hafif Egzersizin Kas ve Karaciğer Antioksidan Sistemlerine Etkisi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilimdalı, Yayınlanmamış Doktora Tezi Ankara, 1997.
64. Alessio, H.M. Exercise-induced Oxidative Stress. Med Sci Sports Exercise 25: 218.
65. Salmine, A., Vihko, V. 1983. Lipid Peroxidation in Exercise Myopathy, Exp. Mol. Patholç, 1993. 38:380-388.

66. Jenkins, R.R., Friedland, R., Howald, H. The Relationship of oxygen Consumption to Süperoxide Dismutase and Catalase Activity in Human Skelatal Muscle, *Int J Sports Med*, 1984. 4:11.
67. Reddy, V., Kumar, C., Prasad, T. Exercise-Induced Oxidant Stress in the Lung Tissue, Role of Dietary Supplementation of Vitamin E and Selenium, *Biochemistry International*, 1992. 26: 863-871.
68. Gutteridge JMC, Halliwell B, Transition metal ions and antioxidant proteins in extracellular fluids In: G Schott Editor. *Atmospheric Oxidation and Antioxidants*, Amsterdam, 1993. 71-95.
69. Memişoğulları R, Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 2005. 3, 30-39.
70. Tabakoğlu E, Turgut R, Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. *AVKAE Dergisi*, 2013. 3(1), 69-75.
71. Halliwell B, Free radicals and other reactive species in disease. *Encyclopedia of Life Sciences*, 2001. 1-7.
72. Kleczkowski M, Klucinski W, Sikora J, Zdanowicz M, Dizekan P, Role of the antioxidants in protection against oxidative stress in cattle, nonenzymatic mechanism (part 2). *Polish Journ Vet Sci*, 2003. 6 (4): 301-8.
73. Armstrong DA., *Methods in molecular biology*, Toronto: Humana Press, 1998.s.78-82.
74. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007. 39: 44–84.
75. Maher P, Lewerenz J, Lozano C, Torres JL, A novel approach to enhancing cellular glutatjione levels, *J Neurochem*, 2008. 107 (3), 690-700.
76. Urso M.L., Clarkson P.M.. Oxidative stress, exercise, and antioxidant. *Supplementation Toxicology*, 2003. 189: 41 -54.
77. Goldfarb A.H. Antioxidants Role of Supplementation Toprevent Exercise-İnduced Oxidative Stress, *Med Sci Sports Exercise* 1993. 25: 232.
78. Kagen V.E., Spiriche, V.B., Erin A.N. Vitamin E, Physical Exercise, and Soon, in *Nutrition in Exercise and Sport*, Hickson. J. E. and Wolinsky, L. Eds., CRC Press. 1989. 255. Boca Raton.
79. Ersoy G. Beslenme ve Egzersiz Hakkında Son Görüşler. *S T D* 1996. S. 3; 32-38.
80. Kumar V, Cotran RS, Robbins LS. *Temel Patoloji*. 5th ed. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 1984.

81. Gök E. Ailevi Akdeniz Ateşi Tanısı ile İzlenen Prepubertal Çocuklarda Kemik Mineral İçeriğinin Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, T.C Sağlık Bakanlığı Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi (Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği), İstanbul. 2006.
82. Arıncı K, Elhan A. (2001) Anatomi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi. Ankara.
83. Ganong G. Tıbbi Fizyoloji, Doğan A(eds). İstanbul, Barış Kitabevi, 1994.
84. Aktümsek, A. Anatomi Fizyoloji ve İnsan Biyolojisi. 4. Baskı. Ankara, Güneş Kitapevi, 1995.
85. Okut G. Farklı Spor Branşlarında Düzenli Antrenman Yapan 11- 13 Yaş Arası Kızlarda Kemik Mineral Yoğunluğunun Kuantitatif Ultrason Yöntemi ile İncelenmesi. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Spor Bilimleri ve Teknolojisi Programı, Yüksek Lisans Tezi. 2005; 4-27.
86. Downey PA, Siegel MI. Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. Phys Ther 2006;86:77-91.
87. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. Endocr Rev 2000;21(2):115-37.
88. Roodman GD. Advances in Bone Biology: The Osteoclast. Endocr Rev 1996;17(4):308-32.
89. Kutlu M, Odabaşı E. Kemik Doku ve Fizyolojisi. Türkiye Klinikleri J Endocrin 2004; 2:73-89.
90. Uysal AR. Paratroid ve ketabolik kemik hastalıkları. Endokrinoloji: Temel ve Klinik, Köloğlu (eds), Ankara, Medikal Network-Nobel, 1996; 317-356.
91. Ducy P, Schinke T, Karsenty G. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. Science 2000;289(5484):1501-4.
92. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. Ann N Y Acad Sci 2006;1092:385-96.
93. Compston JE. Sex Steroids and Bone. Physiol Rev 2001;81(1):419-47.
94. Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. Science 2000; 289:1504-8.
95. Blumsohn A, Hannon RA, Wrate R, et al. Biochemical markers of bone turnover in girls during puberty. Clin Endocrinol 1994; 40: 663-70.
96. Demers LM, Kleerekoper M. Advances in biochemical markers of bone turnover. Clin Chem 1994; 40: 1994-5.

97. Garnero P, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 1998; 27(2): 303-23.
98. Watts NB. Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. *Clin Chem* 1999; 45:8(B): 1359-68.
99. Şen TA, Derman O, Kımık E. Erkek adolesanlarda cinsel gelişme evrelerine göre alkalen fosfataz düzeyleri. *Türk Pediatri Arşivi*.37:33-38,2002.
100. Attila G, Matyar S. Plazma enzimlerinin tanısıl değerleri. *Mersin üniv. Tıp Fak.Derg.*1 :7382,2002.
101. Vergnaud P, Garnero P, Meunier PJ, Breat G, Kamihagi K, Delmas PD. Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: the EPIDOS study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 719-24.
102. Garnero P, Grimaux M, Demiaux B, et al. Measurement of serum osteocalcin with a human osteocalcin generated in vivo an in vitro. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 255-64.
103. Russell RGG. The assesment of bone metabolism in vivo using biochemical approaches. *Horm Metab Res* 1997; (29): 138,144.
104. Mackie EJ, Ahmed YA, Tatarczuch L, Chen KS, Mirams M. Endochondral ossification: How cartilage is converted into bone in the developing skeleton. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40(1):46-62.
105. Perez-Lopez FR. Vitamin D and its implications for musculoskeletal health in women: An update. *Maturitas*, 2007 In Pres.
106. Bayraktar M. Osteoporoz: Epidemiyoloji ve Patogenez. *Turkiye Klinikleri J Endocrin* 2004;2:90-8.
107. Bell NH: Acquired osteomalasia. In: Bardin CW (Ed). *Current Therapy in Endocrinology and Metabolism*. 4th ed. Philadelphia: Decker;1991:p. 428-32.
108. Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başıpınar N, Tiftik M. *Biyokimya*. 2. baskı. Ankara: Nobel Yayınevi, 2000; 35-53.
109. Ivy J, Portman R. *Nutrient Timing. The Future of Sports Nutrition*. USA: Basic Health Publications; 2004.
110. Baysal A. *Beslenme*. 12. Baskı. Ankara: Hatiboğlu yayınevi; 2009.
111. Baysal A. *Beslenme*. 11. baskı. Ankara: Hatiboğlu yayınevi; 2007.
112. Gropper SS, Smith JL, Groff JL. *Advanced nutrition and human metabolism*. Fifth ed. USA: Wadsworth cengage learning; 2009; p.429-512.

113. Özdemir F, Rodoplu M. Magnezyum ve osteoporoz. Osteoporoz dünyasından, 2004; 10(1): 32-7.
114. Aksoy M. Beslenme Biyokimyası. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi; 2008.
115. Bohl CH, Volpe SL. Magnesium and exercise. Crit Rev Food Sci Nutr, 2002; 42(6): 533-63.
116. Schumacher YO, Schmid A, König D, Berg A. Effects of exercise on soluble transferrin receptor and other variables of the iron status. Br J Sports Med, 2002; 36(3): 195-9.
117. Maughan RJ. Role of micronutrients in sport and physical activity. Br Med Bull, 1999; 55(3): 683-90.
118. Lukaski HC. Vitamin and mineral status: Effects on physical performance. Nutrition, 2004; 20(7-8): 632-44.
119. Zotter H, Robinson N, Zorzoli M, Schattenberg L, Saugy M, Mangin P. Abnormally high serum ferritin levels among professional road cyclists. Br J Sports Med, 2004; 38(6): 704-8.
120. King JC. Specific nutrient requirements trace elements. In: Gershwin ME, German JB, Keen CL, editors. Nutrition and immunology and practice. Totowa (New Jersey): Humana press; 2000; p.65-72.
121. Alphan E. Özel diyet yemekleri. Sağlıklı yemekler sağlıklı lezzetler. İstanbul: Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi Matbaa Birimi, 2001.
122. World Health Organization (WHO). Trace elements in human nutrition and health. Belgium, 1996. 72-139.
123. Driskell JA, Wolinsky I, editors. Sport nutrition vitamins and trace elements. Second ed. USA: CRC press, 2006.
124. Fink HH, Burgoon LA, Mikesky AE. Practical Applications in Sports Nutrition. Jones and Bartlett Publishers, Canada, 2006.
125. Colgan M. Sports nutrition guide minerals, vitamins & antioxidants for athletes. Columbia, Apple publishing, 2002.
126. Prasad AS. Zinc deficiency has been known of for 40 years but ignored by global health organisations. BMJ, 2003; 326: 409-10.
127. Insel P, Turner RE, Ross D. Nutrition. Second ed. Canada: Jones and Bartlett Publishers; 2004.
128. Malone AM. Supplemental zinc in wound healing: Is it beneficial? Nutr Clin Pract, 2000; 15(5): 253-6.

129. Tapiero H, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology: Zinc and metallothioneins. *Biomed Pharmacother*, 2003; 57(9): 399-411.
130. Ülger H, Coşkun A. Çinko: Temel fonksiyonları ve metabolizması. *Düzce Tıp Fak Derg*, 2003; 5(2): 38-44.
131. Sánchez C, López-Jurado M, Aranda P, Llopis J. Plasma levels of copper, manganese and selenium in an adult population in southern Spain: Influence of age, obesity and lifestyle factors. *Sci Total Environ*, 2010; 408(5): 1014-20.
132. Bu'gel S, Larsen EH. , Sloth JJ.,Flytlie K, Overvad K, Steenberg LC. Moesgaard S. Absorption, excretion, and retention of selenium from a high selenium yeast in men with a high intake of selenium. *Food Nutr Res*, 2008.
133. Lescure A, Rederstorff M, Krol A, Guicheney P, Allamand V. Selenoprotein function and muscle disease. *Biochim Biophys Acta*, 2009; 1790(11): 1569-74.
134. Baldwin KM, White TP, Arnaud SB, Edgerton VR, Kraemer WJ, Kram R, et al. Musculoskeletal adaptations to weightlessness and development of effective countermeasures. *Med Sci Sports Exerc* 1996;28(10):1247-53.
135. Ehrlich PJ, Lanyon LE. Mechanical Strain and Bone Cell Function: A Review. *Osteoporos Int* 2002;13:688–700.
136. Woitge HW, Friedmann B, Suttner S, Farahmand I, Muller M, Schmidt-Gayk H, et al. Changes in bone turnover induced by aerobic and anaerobic exercise in young males. *J Bone Miner Res* 1998;13(12):1797-804.
137. Hasselstrom H, Karlsson KM, Hansen SE, Gronfeldt V, Froberg K, Andersen LB. Peripheral bone mineral density and different intensities of physical activity in children 6-8 years old: the Copenhagen School Child Intervention study. *Calcif Tissue Int* 2007;80(1):31-8.
138. Eliakim A, Beyth Y. Exercise training, menstrual irregularities and bone development in children and adolescents. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2003;16(4):2016.
139. Petit MA, Macdonald HM, McKay HA. Growing bones: how important is exercise? *Curr Opin Orthop* 2006;17:431–7.
140. MacKelvie KJ, Petit MA, Khan KM, Beck TJ, McKay HA. Bone mass and structure are enhanced following a 2-year randomized controlled trial of exercise in prepubertal boys. *Bone* 2004;34(4):755-64.
141. Cobb KL, Bachrach LK, Greendale G, Marcus R, Neer RM, Nieves J, et al. Disordered eating, menstrual irregularity, and bone mineral density in female runners. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35(5):711-9.

142. Weimann E. Gender-related differences in elite gymnasts: the female athlete triad. *J Appl Physiol* 2002;92:2146–52.
143. Davies JH, Evans BA, Gregory JW. Bone mass acquisition in healthy children. *Arch Dis Child* 2005;90:373–8.
144. Blok JE, Smith R, Friedlander A, Genant HK. Preventing osteoporosis with exercise: a review with emphasis on methodology. *Med Hypotheses* 1989;30(1):919.
145. Tüzün F. Osteoporozu genel bakış. In: Tüzün F, editör. Kemik ve eklem dekadında osteoporoz ve kemik kalitesi. İstanbul And Yayınevi, 2003: 1-12.
146. Tanakol R. Metabolik kemik hastalıkları. 3. Baskı. Ankara, Nobel Tıp Kitap Evi, 1990; 111- 13.
147. Demir M, Filiz K. Spor Egzersizlerinin insan Organizması Üzerindeki Etkileri, Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi, 2004. Cilt 5, Sayı 2, 109-114.
148. Vatanparast H, Bailey DA, Baxter-Jones AD, Whiting SJ. The effects of dietary protein on bone mineral mass in young adults may be modulated by adolescent calcium intake. *J Nutr.* 2007; 137(12): 2674-9.
149. Blumsohn A, Herrington K, Hannon RA, Shao P, Eyre DR, Eastell R. The effect of calcium supplementation on the circadian rhythm of bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:730-5.
150. Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010; 5(1 Suppl): 23-30.
151. Ba J, Friedman PA. Calcium-sensing receptor regulation of renal mineral ion transport. *Cell Calcium* 2004; 35(3):229-37.
152. Xue Y, Fleet JC. Intestinal vitamin D receptor is required for normal calcium and bone metabolism in mice. *Gastroenterology*, 2009; 136(4): 1317-27.
153. Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and athletic performance. *J Am Diet Assoc*, 2009; 109: 509-27.
154. Benardot D. Advanced sports nutrition. USA: Human kinetics, 2006.
155. Manore MM. Nutritional needs of the female athlete. *Clin Sports Med*, 1999; 18(3): 549-63.
156. Isomura H, Fujie K, Shibata K, Inoue N, Iizuka T, Takebe G, Takahashi K, Nishihira J, Izumi H, Sakamoto W. Bone metabolism and oxidative stress in postmenopausal rats with iron overload. *Toxicology* 2004;197(2):93-100.

157. Baltaci AK, Sunar F, Mogulkoc R, Oztekin E. The effects of zinc deficiency and supplementation on lipid peroxidation in bone tissue of ovariectomized rats *Toxicology* 2004;203(1-3):77-82.
158. Baltaci SB, Mogulkoc R, Baltaci AK. Resveratrol and exercise. *Biomed Rep* 2016;5(5):525-530.
159. Baltaci AK, Mogulkoc R, Akil M, Bicer M. Review - Selenium - Its metabolism and relation to exercise. *Pak J Pharm Sci.* 2016;29(5):1719-1725.
160. Bicer M, Gunay M, Baltaci AK, Uney K, Mogulkoc R, Akil M. Effect of zinc supplementation on lipid peroxidation and lactate levels in rats with diabetes induced by streptozotocin and subjected to acute swimming exercise. *Bratisl Lek Listy.* 2012;113(4):199-205.
161. Malhotra A, Bath S, Elbarbry F. An Organ System Approach to Explore the Antioxidative, Anti-Inflammatory, and Cytoprotective Actions of Resveratrol. *Oxid Med Cell Longev* 2015;2015:803971.
162. Ficarra S, Tellone E, Pirolli D, Russo A, Barreca D, Galtieri A, Giardina B, Gavezzotti P, Riva S, De Rosa MC. Insights into the properties of the two enantiomers of trans- δ -viniferin, a resveratrol derivative: antioxidant activity, biochemical and molecular modeling studies of its interactions with hemoglobin. *Mol Biosyst* 2016;12(4):1276-86.
163. Tartaro Bujak I, Mihaljević B, Ferreri C, Chatgililoglu C. The influence of antioxidants in the thiyl radical induced lipid peroxidation and geometrical isomerization in micelles of linoleic acid. *Free Radic Res* 2016:1-6.
164. Luo G, Li Z, Wang Y, Wang H, Zhang Z, Chen W, Zhang Y, Xiao Y, Li C, Guo Y, Sheng P. Resveratrol Protects against Titanium Particle-Induced Aseptic Loosening Through Reduction of Oxidative Stress and Inactivation of NF- κ B. *Inflammation* 2016;39(2):775-85.
165. Ghaiad HR, Nooh MM, El-Sawalhi MM, Shaheen AA. Resveratrol Promotes Remyelination in Cuprizone Model of Multiple Sclerosis: Biochemical and Histological Study. *Mol Neurobiol* 2017;54(5):3219-3229.
166. Reddy KP, Madhu P, Reddy PS. Protective effects of resveratrol against cisplatin-induced testicular and epididymal toxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 2016;91:65-72.
167. Murase T, Haramizu S, Ota N, Hase T. Suppression of the aging-associated decline in physical performance by a combination of resveratrol intake and habitual exercise in senescence-accelerated mice. *Biogerontology* 2009;10(4):423-434.
168. Dal-Ros S, Zoll J, Lang AL, Auger C, Keller N, Bronner C, Geny B, Schini-Kerth VB. Chronic intake of red wine polyphenols by young rats prevents aging-induced

endothelial dysfunction and decline in physical performance: role of NADPH oxidase. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;404(2):743-749.

169. McAnulty LS, Miller LE, Hosick PA, Utter AC, Quindry JC, McAnulty SR. Effect of resveratrol and quercetin supplementation on redox status and inflammation after exercise. *Appl Physiol Nutr Metab* 2013;38(7):760-765.
170. Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev* 2008;7:34-42.
171. De Moraes C, Davel AP, Rossoni L V, Antunes E, Zanesco A., Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. *BMC Physiol* 2008, 8, 12.
172. Gu Q, Wang B, Zhang XF, Ma YP, Liu JD, Wang XZ. 2014. Chronic aerobic exercise training attenuates aortic stiffening and endothelial dysfunction through preserving aortic mitochondrial function in aged rats. *Exp Gerontol* 2014;56:37-44.
173. Spanier G, Xu, H Xia, N, Tobias S, Deng S, Wojnowski, L, Forstermann U, Li H. Resveratrol reduces endothelial oxidative stress by modulating the gene expression of superoxidodismutase 1 (SOD1), glutathione peroxidase 1 (GPx1) and NADPH oxidase subunit (Nox4). *J Physiol Pharmacol* 2009;60:111-116.
174. Ungvari Z, Orosz Z, Rivera A, Labinsky N, Xiangmin Z, Olson S, Podlutzky A, Csiszar A. Resveratrol increases vascular oxidative stress resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;292:H2417-H2424.
175. Soylemez S, Sepici A, Akar F. Resveratrol supplementation gender independently improves endothelial reactivity and suppresses superoxide production in healthy rats. *Cardiovasc Drugs Ther* 2001;23:449-458.
176. Marrella M, Guerrini F, Solero PL, Tregnaighi PL, Schena F, Velo GP,. Blood copper and zinc changes in runners after a marathon. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1993. 7(4),248-250.
177. Lukaski HC, Effects of exercise training on human copper and zinc nutriture. *Adv Exp Med Biol.*, 1989.. 258,163-70.
178. Cordova A, Gimenez M, Escanero JF, Changes of plasma zinc and copper at various times of swimming until exhaustion, in the rat. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1990. 4(3),189-192.
179. Konig D, Weinstock C, Keul J, Northoff H, Berg A. Zinc, Iron, and magnesium status in athletes--influence on the regulation of exercise-induced stress and immune function. *Exerc Immunol Rev.* 1998. 4,2-21.

180. McDonald R, Keen CL, Iron, zinc and magnesium nutrition and athletic performance. *Sports Med.* 1988. 5(3), 171-184.
181. Hager J, El Ferjani E, Effect of copper excess on superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in sunflower seedlings (*Helianthus annuus L.*). *Acta Physiol Plant*, 2004. 26(1), 29–35.
182. Palma JM, Sandalio LM, Corpas FJ, Romero-Puertas MC, McCarthy I, del Rio LA , Plant proteases, protein degradation and oxidative stress: role of peroxisomes. *Plant Physiol Bioch* 2002.40(6–8), 521–530.
183. Baltaci AK, Arslangil D, Mogulkoc R, Patlar S. Effect of Resveratrol Administration on the Element Metabolism in the Blood and Brain Tissues of Rats Subjected to Acute Swimming Exercise. *Biol Trace Elem Res* 2017; 175(2):421-427.
184. Patlar S, Boyali E, Baltaci AK, Mogulkoc R, Gunay M. Elements in sera of elite taekwondo athletes: effects of vitamin E supplementation. *Biol Trace Elem Res* 2011;139(2):119-25.
185. Maciejewska K, Drzazga Z, Kaszuba M. Role of trace elements (Zn, Sr, Fe) in bone development: energy dispersive X-ray fluorescence study of rat bone and tooth tissue. *Biofactors* 2014;40(4):425-35.
186. Bouglé DL, Sabatier JP, Guaydier-Souquières G, Guillon-Metz F, Laroche D, Jauzac P, Bureau F. Zinc status and bone mineralisation in adolescent girls. *J Trace Elem Med Biol.* 2004;18(1):17-21.
187. Yamaguchi M, Gao YH, Ma ZJ. (2000) Synergistic effect of genistein and zinc on bone components in the femoral-metaphyseal tissues of female rats. *J Bone Miner Metab* 2000;18(2):77–83.
188. Reginster JY, Strause LG, Saltman O, Franchimont P. Trace elements and postmenopausal osteoporosis: A preliminary study of decreased serum manganese. *Med Sci Res* 1988;16:337-338.
189. Medeiros DM, Plattner A, Jennings D, Stoecker B. Bone morphology, strength and density are compromised in iron-deficient rats and exacerbated by calcium restriction. *J Nutr* 2002;132(10):3135-41.
190. Cashman KD. Milk minerals (including trace elements) and bone health. *Int Dairy J* 2006;16:1389–1398.
191. Pino DS, Casarin RC, Pimentel SP, Cirano FR, Corrêa MG, Ribeiro FV. Effect of resveratrol on critical-Sized Calvarial Defects of Diabetic Rats: Histometric and Gene Expression Analysis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017;75(12):2561.e1-2561.e10.

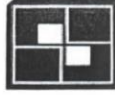
192. Lee AM, Shandala T, Soo PP, Su YW, King TJ, Chen KM, Howe PR, Xian CJ. Effects of Resveratrol Supplementation on Methotrexate Chemotherapy-Induced Bone Loss. *Nutrients* 2017;9(3). pii: E255. doi: 10.3390/nu9030255.
193. Bhattarai G, Poudel SB, Kook SH, Lee JC. Resveratrol prevents alveolar bone loss in an experimental rat model of periodontitis. *Acta Biomater* 2016;29:398-408.
194. Baltaci AK, Sunar F, Mogulkoc R, Acar M, Toy H. The effect of zinc deficiency and zinc supplementation on element levels in the bone tissue of ovariectomized rats: histopathologic changes. *Arch Physiol Biochem* 2014;120(2):80-5.
195. Sunar F, Baltaci AK, Ergene N, Mogulkoc R. Zinc deficiency and supplementation in ovariectomized rats: their effect on serum estrogen and progesterone levels and their relation to calcium and phosphorus. *Pak J Pharm Sci.* 2009;22(2):150-4.
196. Szatmehari M, Steczek K, Szucs J and Hollo I Zinc excretion in osteoporotic women, *Orv Hetil*, 1993. 134, 911-914.
197. Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 2006;17(12):1726-1733.
198. Tou JC. Resveratrol supplementation affects bone acquisition and osteoporosis: Pre-clinical evidencetoward translational diet therapy. *Biochim Biophys Acta* 2015;1852(6):1186-1194.
199. Duque G, Troen BR. Understanding the mechanisms of senile osteoporosis: new facts for a major geriatricsyndrome. *J Am Geriatr Soc* 2008;56(5):935-41.
200. Lau RY, Guo X. A review on current osteoporosis research: with special focus on disuse bone loss. *J Osteoporos* 2011;2011:293808.
201. Cottart CH, Nivet-Antoine V, Beaudoux JL. Review of recent data on the metabolism, biological effects, and toxicity of resveratrol in humans. *Mol Nutr Food Res* 2014;58(1):7-21.
202. Durbin SM, Jackson JR, Ryan MJ, Gigliotti JC, Alway SE, Tou JC. Resveratrol supplementation preserves long bone mass, microstructure, and strength in hindlimb-suspended old male rats. *J Bone Miner Metab* 2014;32(1):38-47.
203. Zhang A, Zhang X, Tan X, Cai B, Ge W, Dai G, Cai J. Resveratrol rescued the TNF- α -induced impairments of osteogenesis of bone-marrow derived mesenchymal stem cells and inhibited the TNF- α -activated NF- κ B signaling pathway. *Int Immunopharmacol* 2015;26(2):409-15.
204. Casarin RC, Casati MZ, Pimentel SP, Cirano FR, Algayer M, Pires PR, Ghiraldini B, Duarte PM, Ribeiro FV. Resveratrol improves bone repair by modulation of bone

morphogenetic proteins and osteopontin gene expression in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014;43(7):900-6.

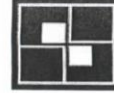
- 205.** Ambati S, Miller CN, Bass EF, Hohos NM, Hartzell DL, Kelso EW, Trunnell ER, Yang JY, Della-Fera MA, Baile CA, Rayalam S. Synergistic Phytochemicals Fail to Protect Against Ovariectomy Induced Bone Loss in Rats. *J Med Food*. 2018 May 24. doi: 10.1089/jmf.2017.0113.
- 206.** Hao XD, Chang J, Qin BY, Zhong C, Chu ZB, Huang J, Zhou WJ, Sun X. Synthesis, estrogenic activity, and anti-osteoporosis effects in ovariectomized rats of resveratrol oligomer derivatives. *Eur J Med Chem* 2015;102:26-38.
- 207.** Cardoso LMDF, Pimenta NDMA, Fiochi RDSF, Mota BFM, Monnerat JAS, Teixeira CC, Ramalho RBDR, Maldonato IW, Dolisnky M, Boaventura GT, Blondet V, Barroso SG, Costa CASD, Rocha GS. Effects of red wine, grape juice and resveratrol consumption on bone parameters of Wistar rats submitted to high-fat diet and physical training. *Nutr Hosp* 2017;0(0):416-420.

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Kararı



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar No	Protokol No	Özü
04.05.2016	2016/09	99	2016/51	Prof. Dr. Vedat ÇINAR

KARAR

“Overektomize sıçanlarda resveratrol uygulaması ve yüzme egzersizinin kalsiyum ve kemik metabolizması üzerine etkisi” başlıklı araştırma projenizde 72 Adet Sprague-Dawley Sıçan kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı tarafınızdan beyan edilmiştir. Bu çerçevede aşağıda ismi bulunan araştırmacılara ait bu çalışmanın “Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi” yönünden uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

1. Prof. Dr. Vedat ÇINAR
2. Öğr. Gör. Ubeyde GÜLNAR
3. Arş. Gör. Taner AKBULUT
4. Doç. Dr. Ragıp PALA
5. Arş. Gör. M. Emre KARAMAN
6. Prof. Dr. Rasim MOGÜLKOÇ

GÖREVİ	ADI SOYADI	BÖLÜMÜ	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Gaffari TÜRK	Veteriner Fakültesi	
Başkan V.	Prof. Dr. Murat ÖGETÜRK	Tıp Fakültesi	
Üye	Prof. Dr. Gürdal DAĞOĞLU	Veteriner Fakültesi	
Üye	Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE	Veteriner Fakültesi	
Üye	Prof. Dr. Azize BEŞTAŞ	Tıp Fakültesi	
Üye	Prof. Dr. Sinan CANPOLAT	Tıp Fakültesi	
Üye	Doç. Dr. Asiye BAŞUSTA	Su Ürünleri Fakültesi	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Serkan DÜNDAR	Diş Hekimliği Fakültesi	
Üye	Vet. Hek. Özgür BULMUŞ	FÜDAM	Bulmadı
Üye	Onur UYGUR	Sivil Üye	Bulmadı
Üye	Murat DAĞHAN	Sivil Üye	Bulmadı

Neşet KÖKBURİ
Fakülte Sekreteri

ASLI GİBİDİR

9. ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Kahramanmaraş'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kahramanmaraş'ta tamamladı. 1992-2001 yılları arasında çeşitli kulüplerde amatör olarak futbol oynadı. 2004 yılında Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu sınavını kazanarak lisans eğitimine başladı. 2008 yılında aynı okuldan mezun oldu. 2010 yılında S.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Antrenörlük Eğitimi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına başladı. Aynı zamanda Selçuk Üniversitesi olimpik yüzme havuzunda spor uzmanı olarak çalışmıştır. 2013 yılında Batman Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulunda öğretim görevlisi olarak çalışmaya başladı. 2013-2015 yılları arasında aynı bölümde müdür yardımcılığı yapmıştır. 2013 yılında F.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. Halen Batman Üniversitesinde Öğretim Görevlisi ve Obezite ile Mücadele Merkez Müdürü olarak çalışmaktadır. Evli ve bir kız bir erkek iki çocuk babasıdır.