

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR ANABİLİM DALI

AKUT EGZERSİZ YAPTIRILAN SIÇAN KARACİĞER
DOKULARINDA SİYAH HAVUÇ SUYUNUN ANTİOKSİDAN
ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MUSTAFA DABAN

DANIŞMAN
DOÇ. DR. KÜRŞAT YUSUF AYTAÇ

ADİYAMAN, 2024

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR ANABİLİM DALI

AKUT EGZERSİZ YAPTIRILAN SIÇAN KARACİĞER
DOKULARINDA SİYAH HAVUÇ SUYUNUN ANTİOKSİDAN
ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MUSTAFA DABAN

DANIŞMAN
DOÇ. DR. KÜRŞAT YUSUF AYTAÇ
2. DANIŞMAN
Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA

ADİYAMAN, 2024

Bu tez çalışması BAP Komisyonu tarafından kabul edilen SBFYL/2024-0002 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

ÖZET

AKUT EGZERSİZ YAPTIRILAN SIÇAN KARACİĞER DOKULARINDA SIYAH HAVUÇ SUYUNUN ANTİOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Mustafa DABAN

Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı

Adıyaman Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Eylül/2024, Sayfa:25

Danışman: Doç. Dr. Kürşat Yusuf AYTAÇ

2. Danışman: Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA

Bu tez araştırmasında, egzersiz oluşturulan sıçan karaciğer dokuları üzerine siyah havuç suyunun etkileri araştırıldı. Araştırmada sıçanlardan, Kontrol (KON), Siyah Havuç (S), Egzersiz (E), Siyah Havuç + Egzersiz (SE) grupları oluşturuldu. Egzersiz programında treadmill koşu bandı kullanıldı. Sıçanlar koşu bandında iki hafta koşturularak alıştırıldı. Bir gün sonra akut egzersiz programı uygulandı ve sıçanlardan karaciğer dokuları temin edildi. Dokularda biyokimyasal parametrelerden MDA, GSH, GR, GST, AChE ve Ces enzim aktivite düzeyleri tespiti yapıldı. E grubu MDA, AChE, GST ve Ces enzim aktivite düzeyleri K grubuna göre artarken, GR ve GSH düzeyleri azaldı. S grubu AChE, GST ve Ces enzim aktiviteleri KON grubuna göre arttı. SE grubu GSH düzeyi E grubuna göre artarken; AChE, GST enzim aktiviteleri ve MDA düzeyi azaldı. Sonuç olarak akut egzersiz uygulanan sıçan karaciğer dokuları üzerine siyah havuç suyunun antioksidan etkisi ile koruyucu etkisi gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Akut egzersiz; Sıçan; Karaciğer; Siyah havuç; Enzim

ABSTRACT

THE EFFECTS OF BLACK CARROT JUICE ON ANTIOXIDANT ENZYMES IN ACUTELY EXERCISED RAT LIVER TISSUES

Mustafa DABAN

Department of Physical Education and Sports

Adıyaman University, Graduate Education Institute, September/2024, Page:25

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kürşat Yusuf AYTAÇ

2nd Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ahmet ÖZKAYA

In this thesis research, the effects of black carrot juice on exercised rat liver tissues were investigated. In the research, rats were formed into Control (CON), Black Carrot (S), Exercise (E), Black Carrot + Exercise (SE) groups. Treadmill treadmill was used in the exercise program. Rats were acclimated by running on the treadmill for two weeks. Acute exercise program was applied one day later and liver tissues were obtained from the rats. Biochemical parameters such as MDA, GSH, GR, GST, AChE and Ces enzyme activity levels were determined in the tissues. While MDA, AChE, GST and Ces enzyme activity levels in the E group increased compared to the K group, GR and GSH levels decreased. AChE, GST and Ces enzyme activities in the S group increased compared to the CON group. While GSH level in the SE group increased compared to the E group; AChE, GST enzyme activities and MDA levels decreased. As a result, the antioxidant effect and protective effect of black carrot juice on the liver tissues of rats subjected to acute exercise were observed.

Keywords: Acute exercise; Rat; Liver; Black carrot; Enzyme

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve bu çalışmanın her aşamasında, bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, akademik kişiliği ve çalışma prensipleri ile bana örnek olan, birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyacağım Değerli Danışmanım Doç. Dr. Kürşat Yusuf AYTAÇ'a, ikinci danışmanım olan Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA'ya, deneylerdeki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Miraç UÇKUN'a ve Doç. Dr. Ertan YOLOĞLU'na teşekkür ederim.



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Adıyaman Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programıyla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Mustafa DABAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR / ÖNSÖZ.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Egzersiz	2
2.2. Siyah Havuç.....	2
2.3. Redükte Glutasyon.....	3
2.4. Glutasyon-S-Transferaz Enzimi	3
2.5. Karboksilesteraz Enzimi	3
2.6. Asetilkolinesteraz Enzimi.....	3
2.7. Malondialdehit	4
2.8. Glutasyon Redüktaz Enzimi	4
2.9. Çalışmanın Amacı.....	4
3. MATERYAL ve METOD	5
3.1. Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler	5
3.2. İnceleme Materyali	5
3.3. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar.....	5
3.4. Deney Hayvanları	5
3.5. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	6
3.6. Homojenizasyon ve Santrifüj İşlemleri.....	6
3.7. GSH Analizi.....	6
3.8. GST Aktivite Analizi	7

3.9. MDA Analizi.....	7
3.10. Ces Aktivitesi Analizi.....	7
3.11. AChE Aktivite Analizi.....	7
3.12. Total Protein Analizi	7
3.13. İstatistiksel Analiz.....	7
4. BULGULAR	8
5.TARTIŞMA.....	16
KAYNAKÇA.....	20
ÖZGEÇMİŞ	



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 4.1. Sıçan karaciğer dokularında tespiti yapılan biyokimyasal parametreler.....	9
--	---



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.1. Grupların MDA düzeyleri.....	9
Şekil 4.2. Grupların GSH düzeyleri.....	10
Şekil 4.3. Grupların AChE enzim aktivite düzeyleri.....	11
Şekil 4.4. Grupların GST enzim aktivite düzeyleri.....	12
Şekil 4.5. Grupların CES enzim aktivite düzeyleri.....	13
Şekil 4.6. Grupların GR enzim aktivite düzeyleri	14
Şekil 4.7. Sıçan Grupların ağırlık değişimi.....	15

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AChE	: Asetilkolinesteraz
Ces	: Karboksilesteraz
GSH	: Redükte Glutasyon
GP _x	: Glutasyon Peroksidaz
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
HCl	: Hidroklorik Asit
KHCO ₃	: Potasyum Bikarbonat
MDA	: Malondialdehit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Trikloroasetik Asit
TCA	: Thiobarbiturik Asit

1. GİRİŞ

Fiziksel aktivitenin bir alt türü olan egzersizin birçok çeşidi mevcuttur. Egzersizin yoğunluğuna bağlı olarak metabolizmada olumlu ve olumsuz etkileri bilinmektedir. Yapılan düzenli egzersizin birçok hastalığa karşı etkileri bilinmesine rağmen düzensiz ve aşırı yapılan egzersizlerin metabolizmada birçok olumsuz etkileri mevcuttur. Akut egzersiz kısa süreli ve yoğun yapılan egzersiz türlerinden biridir [1-3]. Siyah havuç günümüzde insanlar ve hayvanlar tarafından tüketilen gıdalardan biridir. Siyah havuç içeriğinde birçok polifenolik molekül vardır. Bu moleküllerin antioksidan, antikanserojen ve antiinflamatuvar gibi birçok biyokimyasal etkileri bilim dünyasında yaygın olarak çalışılmaktadır [4,5].

Bu tez çalışmasında, akut egzersiz yaptırılan sıçan karaciğer dokularında oluşturulan oksidatif stres karşı, siyah havuç suyunun antioksidan enzim sistemleri ve lipit peroksidasyon üzerine etkileri incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Egzersiz

İskelet kasları tarafından üretilen, enerji harcanmasını gerektiren bedensel hareketlere fiziksel aktivite olarak tanımlanmaktadır. Planlı, yapılandırılmış, tekrarlayan ve amaca yönelik olarak fiziksel aktivitenin bir veya daha fazla bileşenini geliştirmeye veya sürdürmeye yöneliktir. Fiziksel aktivitenin kas ve eklem hareketliliğini korur ve artırdığı bilinmektedir. Fiziksel aktivite kas tonusunu artırarak egzersiz sırasında eklem dayanıklılığını geliştirir ve kemik mineralizasyonunu teşvik ederek osteoporozu önlemektedir. Ayrıca egzersiz dokularda oksijen ve enerji miktarını artırmaktadır ve bunun sonucu olarak metabolizmada koruyucu bir etkiye neden olmaktadır. Düzenli fiziksel aktivite, hayvan çalışmalarının yanı sıra epidemiyolojik çalışmalarda da bilişsel işlev açısından önemli sonuçlara yol açmaktadır. Ayrıca, fiziksel aktivite nöronları nörodejeneratif hastalıkların başlangıcı da dahil olmak üzere zararlı olabilecek yaşa bağlı değişikliklerden korur [6-8]. Fiziksel egzersizin birçok çeşidi mevcuttur. Egzersiz çeşitleri arasında en yaygın olarak akut, kronik, aerobik ve anaerobik egzersiz ön plandadır. Deneysel çalışmalarda bu tür egzersizler yaygın olarak kullanılmaktadır. Uzun süreli olmayan yoğun egzersiz programlarına akut egzersiz olarak bilinmekle beraber bu uygulama alışkın olmayan insan ve hayvanda tek seferde uygulanır. Bu tür akut stres metabolizmada oksidatif stresi artırarak kas hasarlarına neden olabilir. Akut egzersiz oluşturulan metabolizmada serbest radikal düzeyi artar. Bunun sonucunda, hücre içerisinde enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar sistemini olumsuz etkileyerek doku hasarlarına neden olur [9,10].

2.2. Siyah Havuç

Havuç bitkisinin turuncu, kırmızı ve mor çeşitleri vardır. Bitki içeriğinde vitaminler, mineraller ve antosiyaninler yoğun olarak bulunmaktadır. Siyah havuç rengini veren moleküller antosiyaninlerdir. Siyah havuçta yapısında Fe, K, P, Ca ve Na gibi elementleri yüksek düzeyde içermektedir. Yapılan araştırmalarda siyah havuçta antosiyanin, sinamik asit, flavonol ve kafeik asit çeşitleri tespit edilmiştir. Siyah havucun farmakolojik etkilerinden antikanserojen, damar tıkanıklığı, antitoksik, antikanserojen, nörodejeneratif, antioksidan ve anti inflamatuvar etkileri ön plandadır [11-18].

2.3. GSH'ın Özellikleri

GSH yapısında glisin, glutamik asit ve sistein molekülleri vardır. Yapısında bulunan sistein sülfidril grubu kimyasal reaksiyonlardan sorumludur. GSH molekülü metabolizmadaki birçok dokuda bulunmasına rağmen en fazla karaciğer dokusunda bulunur. GSH molekülünün antioksidan savunma sisteminde önemli görevleri vardır ve birçok enzimlerin kofaktörü olarak kullanılır. GSH ağır metallerin metabolizmadan atılmasında önemli roller üstlenir. Glutasyon, GSH-Px enziminin substratıdır. GSH-Px H_2O_2 'i detoksifiye etmesinde rol oynar. GSH'ın en önemli görevi serbest radikalleri ve peroksitleri inhibe ederek hücrelerdeki oksidatif hasarı engeller. GSH'ın diğer önemli görevi ise DNA yapısının korunmasında rol oynamasıdır [19-22].

2.4. GST Enzimin Özellikleri

GST enzimi, hücrede oluşan oksidasyon ürünlerini veya toksik maddelerin atılımında görevli bir enzimdir. GST'nin en önemli görevlerinden biride hücrenin lipid peroksidasyonunu engellemiştir. Ayrıca; antikanser ilaçlar, pestisit, herbisit çevresel kirliliklerin giderilmesinde detoksifikasyon özelliğe sahiptirler. GST, birçok memeli dokularında bulunmaktadır [23,24].

2.5. Ces Enziminin Özellikleri

Ces enzimi, serin hidrazlar grubunda bulunan önemli bir enzimdir. Bu enzim, hidrolizasyon işleminde ester substratlarının alkol bağının katalizlemektedir. Birçok canlı türlerinin dokularında Ces enzimi bulunmaktadır. Bu enzimin spesifik lipidlerin taşınmasında, depolanmasında, ksenobiyotik ve biyolojik esterlerin asimilasyonunda ve özgül hormonların biyoinaktivasyonunda rol oynar [25].

2.6. AChE Enziminin Özellikleri

AChE birçok dokuda mevcuttur ve bu dokularda asetilkolini hidrolizleyen önemli bir enzimdir. Bu enzim özellikle eritrositler, karaciğer, dalak ve beyinde dokusunda bulunur. Asetilkolin sinir hücrelerinde nörotransmitter görevinden sorumludur. Ayrıca; kaslarda elektriksel akımın oluşmasında da sorumludur. AChE enzimi asetilkolinin yapısını teşkil eden kolin ve asetata dönüşmesini sağlamaktadır. Bu enzim gruplarının diğer görevleri ise hücrenin yenilenmesi ve oksidatif strese karşı rol oynamalarıdır [26,27].

2.7. MDA'nın Özellikleri

Oksidatif stress sonucunda hücrede lipit peroksidasyon oluşumu hızlanır ve son yıkım ürünü olan malondialdehit (MDA) oluşumu artar. Hücre yapısında bulunan yağ asitleri MDA oluşumun için yıkıma uğrar. Oksidatif stresin belirteci MDA düzeyinin ölçülmesi ile belirlenir ve lipit peroksidasyon düzeyi bulunur. Hücrede MDA düzeyinin artması hücre zarının geçirgenliğinin artmasını, hücre içindeki iyonların dengesinin bozulmasını, enzimlerin ve DNA'nın yapısal özelliklerinde değişikliklerin olması olarak gösterilmiştir [28-30].

2.8. GR Enziminin Özellikleri

GR hücrede indirgenmiş piridin nükleotidleri ile disülfür substratları arasında elektron akışını katalizler. GR'in hücrede (GSH/ GSSG) oranının korumasını sağlamasıdır. GR enziminin bu görevi GSH/GSSG oranını yükselterek –SH/–SS oranını korur. Ayrıca antioksidan enzim grubundan olan GR enzimi birçok hastalığın klinik olarak belirlenmesinde yararlanılmaktadır [31,32].

2.9. Çalışmanın Amacı

Siyah havucun yapısında birçok mineraller ve vitaminler mevcuttur. Ayrıca, yapısında antosiyaninler, flavonollar ve fenolik bileşikler vardır. Siyah havucun metabolizma üzerine antikanserojen, antioksidan ve nörodejeneratif etkileri bilinmektedir. Fiziksel aktivite içerisinde yer alan egzersizin birçok çeşidi bilinmektedir. Akut egzersiz insanlar ve hayvanlar üzerine kısa sürede yoğun egzersiz programı uygulanmasıdır. İnsanlar günlük hayat içerisinde akut egzersizlere maruz kaldığı gibi, aktif spor ile uğraşan kişilerin de akut egzersize maruz kaldığı bilinmektedir. Bilimsel çalışmalar için en uygun canlılar fare ve sıçanlardır. Bu nedenle bu çalışmada akut egzersiz uygulanan sıçan karaciğer dokuları üzerine siyah havucun lipit peroksidasyon ve antioksidan enzimler üzerine etkileri amaçlanmıştır.

3. MATERİYAL ve METOD

3.1. Kullanılan Kimyasallar

5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoik asit, etanol, Tris-EDTA, EDTANa₂, HCl, TBA, TCA, fosfat tamponu, GSH ve distile su kullanıldı.

3.2. İnceleme Materyali

Deneysel çalışmada, *Sprague Dawley* erkek sıçanların karaciğer dokuları incelendi.

3.3. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Homojenizatör, soğutmalı santrifüj cihazı, Mikroplate cihazı, karıştırıcı, değişik hacimlerdeki otomatik pipetler, su banyosu, -80 °C derin dondurucu, değişik hacimlere sahip santrifüj tüpleri, ependorf, makas ve hassas terazi.

3.4. Kullanılan Deney Hayvanlarının Özellikleri ve Deneysel Uygulama

Deneyde kullanılan erkek *Sprague Dawley* cinsi sıçanlar, Adıyaman Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Uygulama ve Araştırma Merkeziden alındı. Etik kurul izini bu kurumdan alındı (Etik Kurul No: 2024/040). Sıçanlar standart özel kafeslerde beslenirken, yemleri çelik kaplarda ve suları özel cam biberonlarda verilerek beslenildi. *Sprague Dawley* sıçanlar 22-25 °C arasında ortam sıcaklığı bulunduruldu. Ayrıca; 12'şer saat ışıklı ve karanlık ortamda sıçanlar düzenli olarak barındırılması sağlandı. Çalışma 17 gün sürdü ve her grupta 7 sıçan kullanarak gerçekleştirildi. Araştırmada 28 adet yetişkin, erkek *Sprague Dawley* sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Her grupta 7 sıçan kullanıldı.

1. Kontrol grubu (KON)
2. Siyah havuç grubu (S) (4ml/kg)
3. Egzersiz grubu (E) (koşu protokolü aşağıda belirtilmiştir)
4. Siyah havuç grubu + Egzersiz (SE)

Yerel pazardan alınan taze siyah havuçlar musluk suyunda yıkanacak ve meyve sıkacağına sıkılarak hayvanlara verilecek. Siyah havuç 4 ml/kg dozda oragastrik gavaj yöntemiyle uygulaması yapıldı [33].

Akut koşu egzersizinde sıçanlar, iki haftalık alıştırmadan sonra üç fazda uygulama işlemine tabi tutuldular [34]. Deneysel metodu şu şekilde detaylandırılabiliriz. Egzersiz yapılan gruplardaki hayvanlar 2 hafta boyunca koşu bandı egzersizine alıştırıldı. İlk hafta

süresince hayvanlar günde 10 dakika, haftada 3 gün (10 m/dak hız, % 0 eğim) koşturuldu. İkinci hafta süresince, sıçanlar günde 10 dakika, haftada 3 gün (20 m/dak hız, % 0 eğim) koşturuldu. Alıştırma protokolünden yirmi dört saat sonra, sıçanlar, 3 aşamada, bölünmüş 60 dakikalık kısa bir koşu bandı koşusu yaptırıldı. Birinci aşamada (dakika 0-5): hayvanlar 15 m/dakika hızla ve % 0 eğimle koşturuldu; ikinci aşamada (dakika 5-10): hayvanlar 23 m/dak hızla ve %0 eğimle koşturuldu ve üçüncü aşamada (dakika 10-60): hayvanlar 25 m/dakika hızla ve %5'lik bir eğimle koşturuldu. Egzersiz yapılmayan gruplardaki hayvanlar, 60 dakika boyunca hareket etmeyen koşu bandı üzerine yerleştirilerek ve böylece koşu bandının kendisi tarafından tetiklenen potansiyel kullanım ve çevre streslerine maruz bırakıldı. Deneysel uygulamalar tamamlanınca hayvanlar servikal dislokasyon uygulanarak elde edilen doku örneklerinde aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi. Dokular -80 °C de deneysel sürece kadar saklandı. Karaciğer dokularında yapılacak biyokimyasal analizler aşağıda belirtilmiştir.

3.5. Karaciğer Dokusu Enzim Aktivitelerinin Tespiti

Karaciğer dokusu enzim aktivite ölçümlerinde Mikroplate cihazı kullanıldı. Çalışmada, ölçümü yapılan enzimlerin birimi nmol/dk/mg protein olarak belirtildi ve okuma işlemi üç tekrarlı yapıldı.

3.6. Karaciğer Dokularının Parçalanma İşlemleri

Örnek karaciğer dokuları homojenizatörde 5000 rpm'de parçalandı. Parçalama işlemi 30 saniye süreçte tamamlandı. Parçalama işleminde standart olarak tartılan dokuların dört katı kadar tampon kullanıldı. Fosfat tamponu olarak, 0.1M Ph: 7.4 olan potasyum fosfat (Ph:7.4) kullanıldı. Parçalanmış doku örnekleri ependorf tüplerinde 4 °C ve 16000xg devirde 20 dakika santrifüjleri yapıldı. Enzim aktiviteleri süpernatant bölümünden alınarak ölçümleri yapıldı.

3.7. GSH Düzeyi Tespiti

Örneklerin GSH düzeyi Sedlak metoduna göre 412 nm de ölçümleri yapıldı. %50 TCA ile 5 dk 1000xg de santrifüjleri yapıldı. Alınan süpernatantlardan üzerine 2 ml Tris-EDTA tamponu ilave edildi. 5 dk sonra, cihazda 412 nm de absorbans değerleri okundu ve hesaplanması yapıldı [35].

3.8. GST Enzim Aktivite Düzeyinin Tespiti

Habig ve arkadaşlarının belirttiği yöntemle göre GST enzim aktivitesi düzeyleri tespit edildi [36]. Analizde %96'lık etil alkol ve CDNB substrat kullanıldı. Kofaktör olarak redükte GSH kullanıldı. Örnekler 344 nm'de cihazda okutuldu.

3.9. MDA Düzeylerinin Tespiti

MDA düzeyleri tespiti Placer'ın tarafından geliştirilen yöntemle göre yapıldı. %0.375 TBA çözeltisi 0.25 N HCl içerisinde hazırlandı. Ayrıca; %15 TCA karışımı kullanıldı. Örneklerindeki MDA miktarları 532 nm'de okundu [37].

3.10. Ces Enzim Aktivite Düzeyinin Tespiti

Doku örneklerindeki Ces enzimin aktivitesi için substrat olarak PNPA kullanıldı. Karışım 405 nm ayarlanarak spektrofotometrede absorbans değişimleri okundu [38,39].

3.11. AChE Enzim Aktivite Düzeylerinin Tespiti

Bu enzimin aktivitesi Ellman tarafından geliştirilen ve Özmen tarafından modifiye edilen yöntemle göre ölçümler yapıldı. Asetilkolin iodid substrat olarak kullanıldı. Mikroplaka kuyucuklara 10 µl süpernatant, 0.701 Mm asetilkolin iodid, 0.1 M trizma çözeltisi içinde hazırlanmış 0.136 Mm DTNB çözeltisinden 200 µl ilave edilerek 412 nm dalga boyunda enzim aktivitesi okundu [40,41].

3.12. Dokularda Total Protein Düzeylerinin Ölçümü

Bradford'un belirttiği yöntemle göre örneklerin protein analizleri okundu [42].

3.13. İstatistiksel Analiz Değerlendirilmesi

Dokularda tespiti yapılan biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması için SPSS 20,0 programı kullanılmıştır. Gruplar karşılaştırması ANOVA'da gerçekleştirilmiştir. Test olarak Tukey HSD testi kullanıldı ve standart hata alınmıştır.

4. BULGULAR

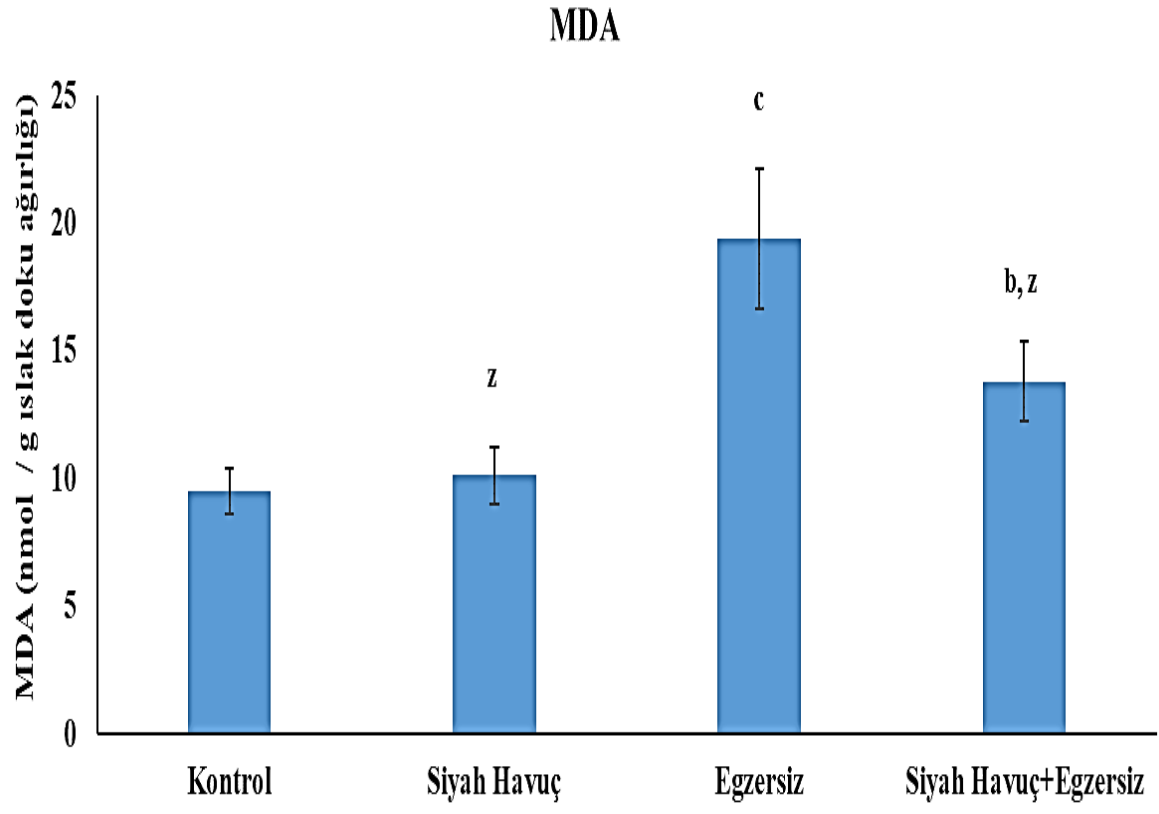
Tablo 4.1. *Sıçan karaciğer dokularında tespiti yapılan biyokimyasal parametreler*

Gruplar	MDA	GSH	ACHE	GST	CES	GR
KON	9,51±0,89	0,25±0,007	2,96±0,21	64,46±2,84	2294,96±79,23	12,47±0,66
S	10,13±1,12 ^z	0,24±0,004 ^z	4,36±0,25 ^{cy}	79,30±2,51 ^{cz}	2767,68±64,76 ^{bx}	11,08±0,74 ^z
E	19,42±2,75 ^c	0,17±0,005 ^c	5,54±0,26 ^c	94,70±2,34 ^c	3108,89±101,79 ^c	4,81±0,24 ^c
SE	13,79±1,56 ^{bz}	0,21±0,006 ^{cx}	4,11±0,16 ^{bz}	81,48±1,69 ^{cy}	2927,87±72,24 ^c	5,54±0,44 ^c

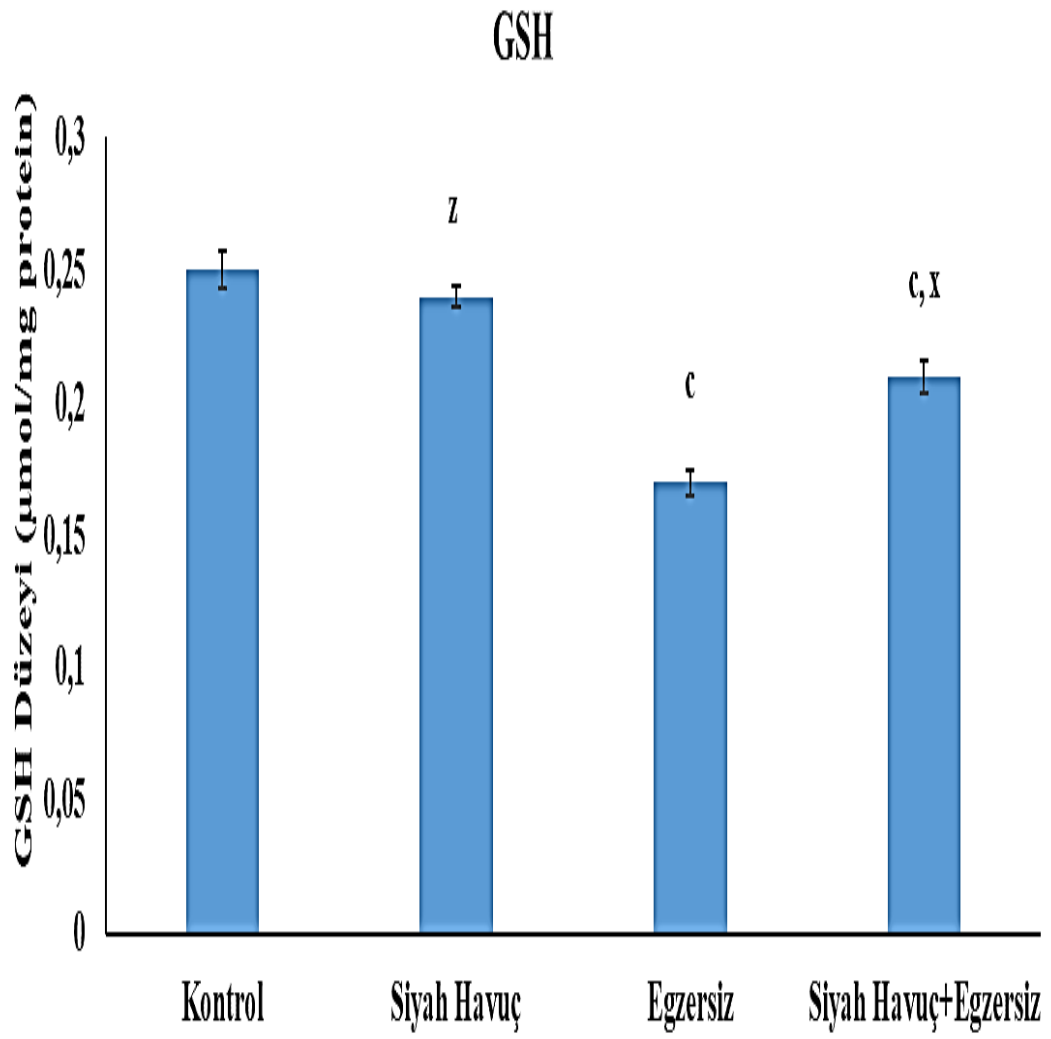
KON'a göre istatistiksel karşılaştırma: a: p<0.05; b: p<0.01; c: p<0.001

E'ye göre istatistiksel karşılaştırma: x: p<0.05; y: p<0.01; z: p<0.001

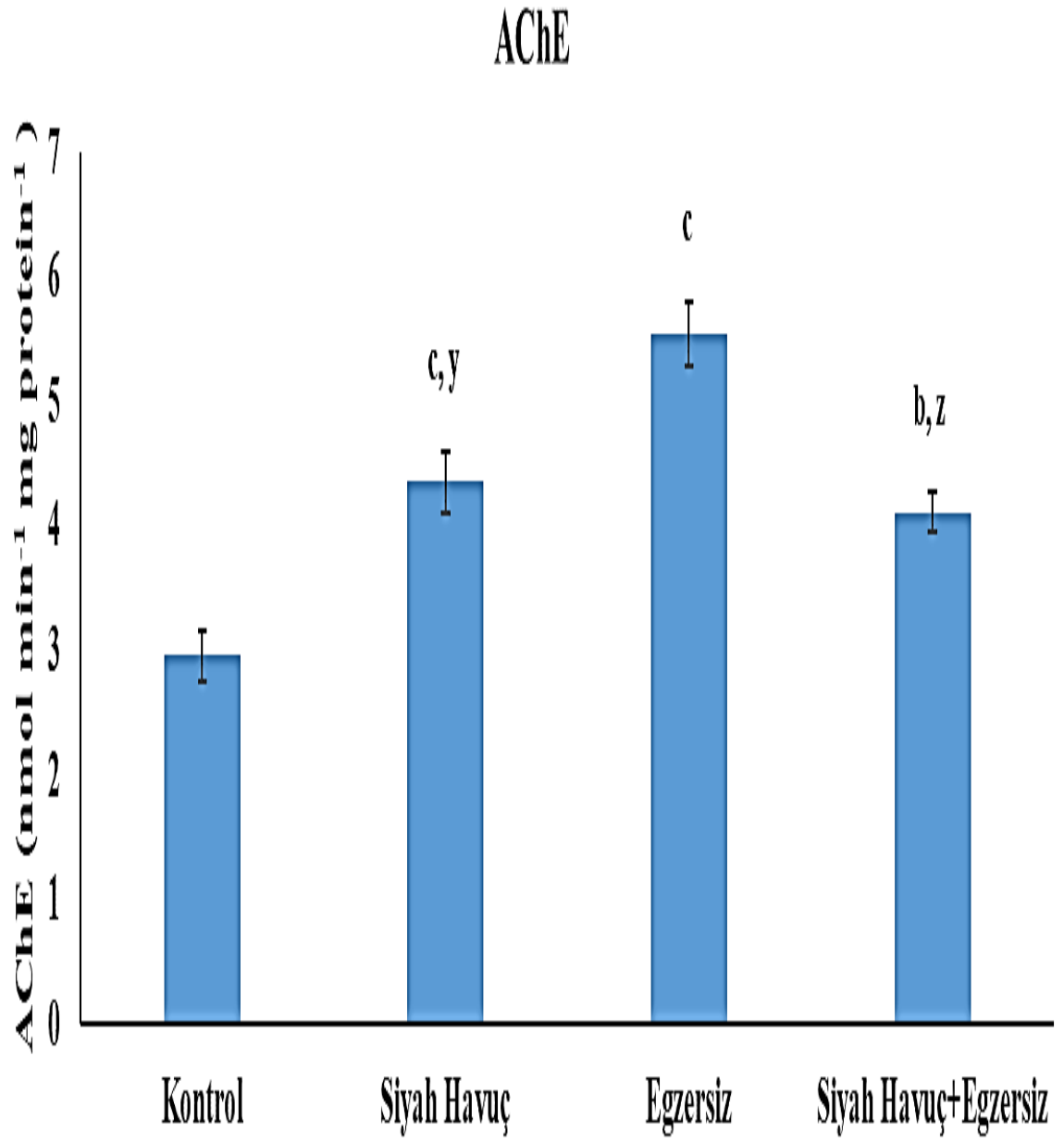
Deneyssel prosedürde uygulanan sıçan gruplarındaki karaciğer dokuları biyokimyasal parametreleri Tablo 1'de gösterilmiştir. KON MDA düzeyine göre E ve SE gruplarında yükselme saptandı. E MDA düzeyine göre S ve SE grupları MDA düzeyleri azaldı. KON grubu GSH düzeyine göre E ve SE gruplarında azalma tespit edildi. S ve SE grupları GSH düzeyleri E grubuna göre arttığı gözlemlendi. KON AChE enzim aktivite düzeyine göre S, E ve ES gruplarında önemli düzeyde artışlar gözlemlendi. E grubu AChE seviyelerine göre ES ve S gruplarında azalmalar saptanmıştır. KON GST düzeyine göre E, S ve SE gruplarında önemli istatistiksel artışlar gözlemlendi. E grubunun GST aktivitesine göre S ve SE gruplarında azalma tespit edildi. KON Ces düzeyine göre S, E ve SE gruplarında önemli artışlar gözlemlendi. KON ve S grupları GR enzim aktivelerinde istatistiksel fark gözlenmezken, K grubu GR enzim aktivitesine göre E ve ES gruplarında önemli düşüşler gözlemlendi.



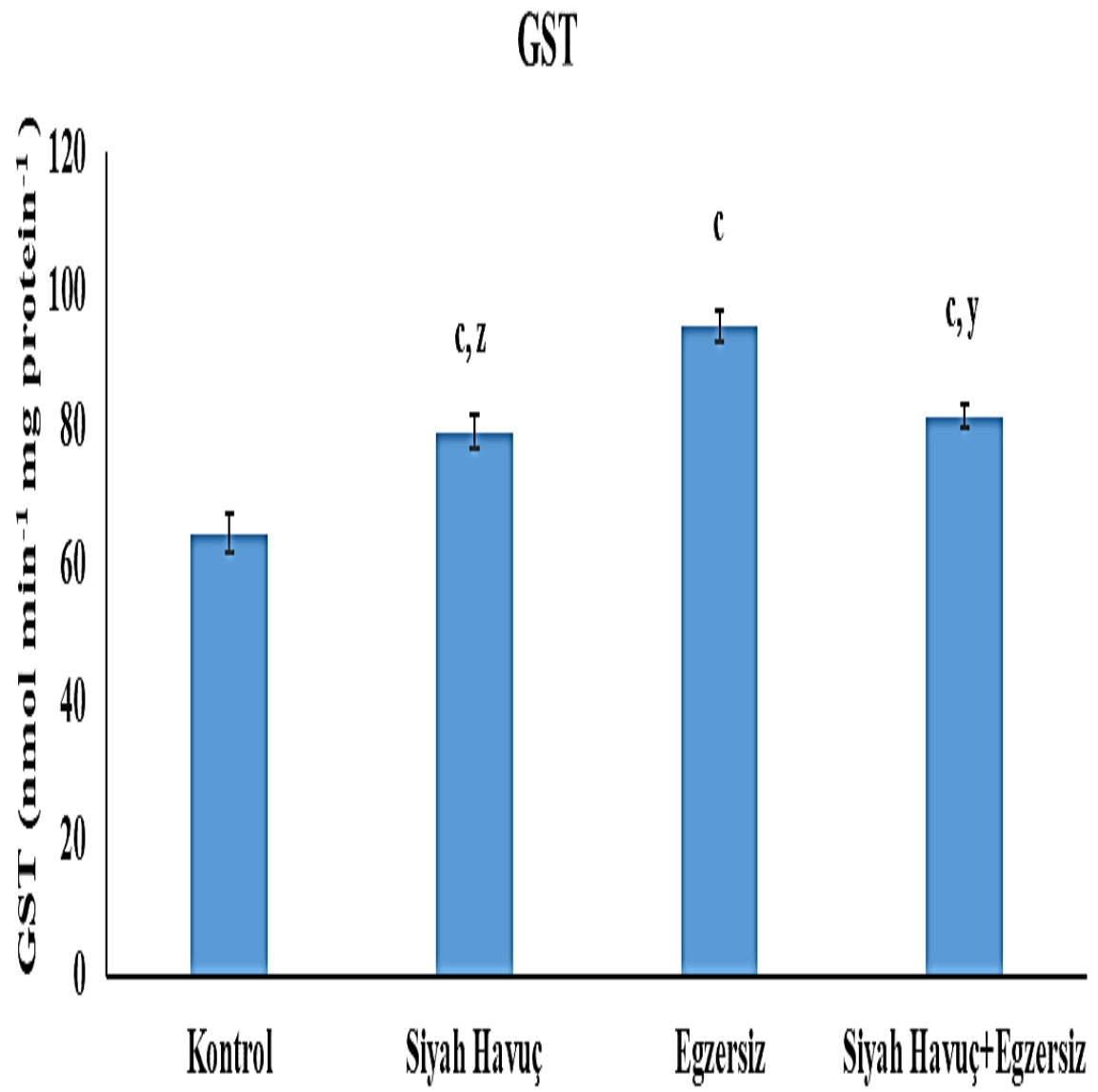
Şekil 4.1. Grupların MDA düzeyleri



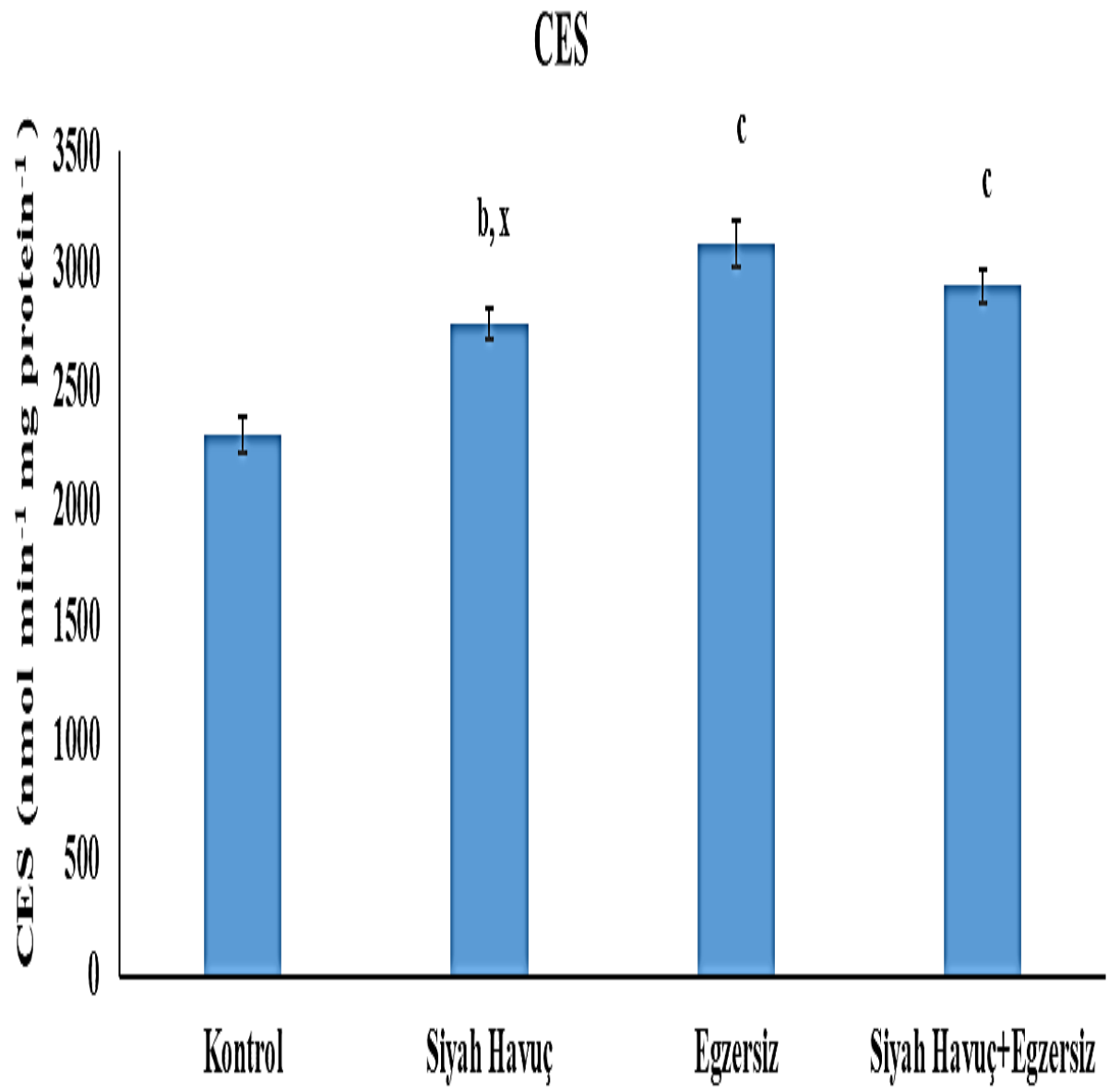
Şekil 4.2. Grupların GSH düzeyleri



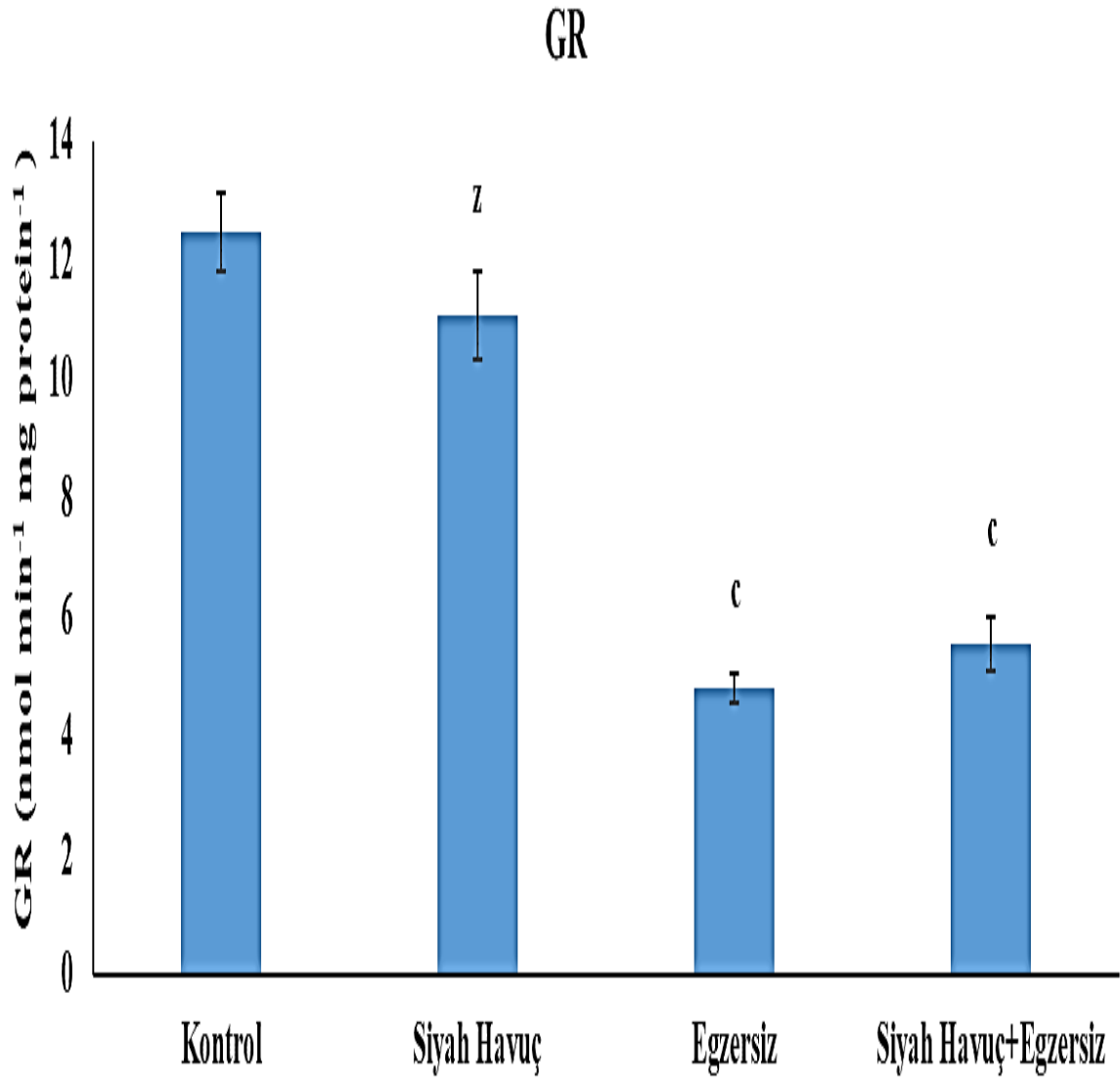
Şekil 4.3. Grupların AChE enzim aktivite düzeyleri



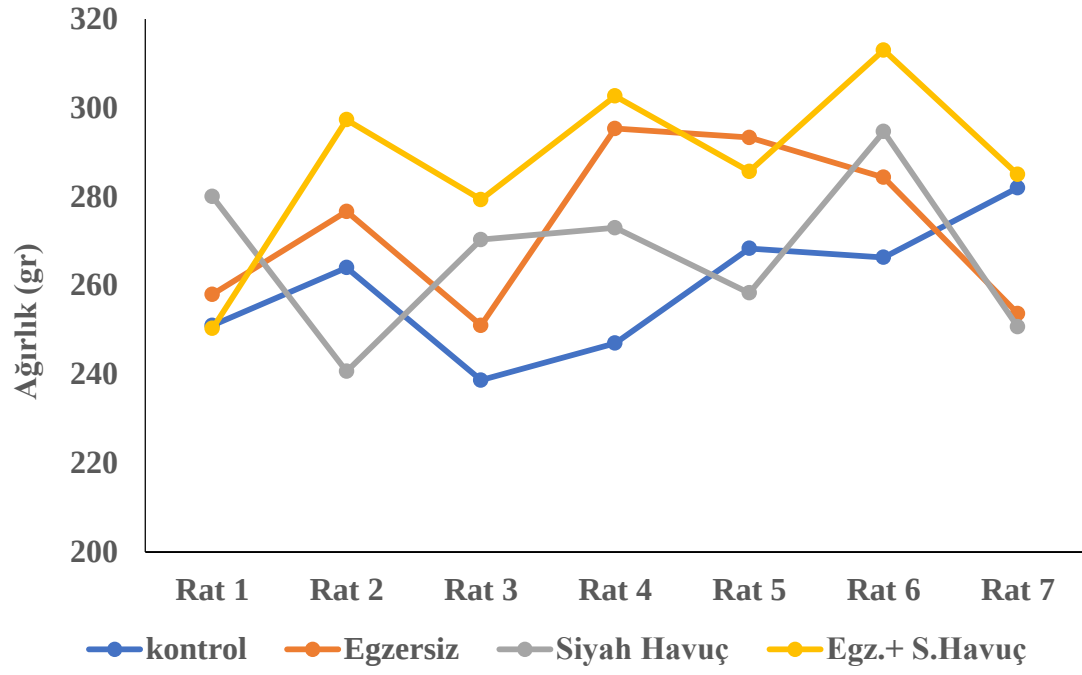
Şekil 4.4. Grupların GST enzim aktivite düzeyleri



Şekil 4.5. Grupların CES enzim aktivite düzeyleri



Şekil 4.6. Grupların GR enzim aktivite düzeyleri



Şekil 4.7. Sıçan gruplarının ağırlık değişimi

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında 3 aylık erkek *Sprague Dawley* sıçanlara uygulanan akut egzersize karşı siyah havuç suyunun antioksidan enzimler sistemleri ve lipid peroksidasyon üzerine etkileri araştırması amaçlandı.

Egzersiz uygulamalarının birçok çeşidi vardır. Yapılan egzersizin yoğunluğuna bağlı olarak metabolizmada olumlu ve olumsuz etkiler ortaya çıkmaktadır [43,44]. Metabolizma için yapılan olumlu egzersizin birçok faydası bilinmektedir. Bunlar arasında vücut ağırlığının azalması, vücut yağının azalması, kemik yoğunluğunun artması, kardiyovasküler hastalıkların, obezite ve kanser hastalıkların azaltılmasına yönelik etkileri mevcuttur [45-48]. Fakat aşırı yapılan egzersizin ise metabolizmaya zararlı etkileri de bilinmektedir. Yapılan yorucu egzersiz sonucunda hücre mitokondrisinde oksijen tüketimi artar ve serbest radikaller üretimini artırır. Artan serbest radikal üretimi sonunda da hücrede lipitler, proteinler ve DNA hasarları artmaktadır [43,45].

Düzensiz ve yorucu yapılan egzersiz sonucunda artan serbest radikallere karşı hücre sisteminde savunucu enzimler mevcuttur. Hücrede gelişen bu olumsuz etkiyi süperoksit SOD, GST, CAT, GR, GPx gibi antioksidan savunucu enzimlerin yanı sıra GSH gibi moleküllerde devreye girerek inhibisyon sağlamada etkili rol oynarlar [49,50]. Ayrıca, düzensiz ve yorucu yapılan egzersiz sonucunda dokularda lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerinde ciddi artışların yanı sıra dokulardaki GSH düzeylerinde de azalmalar tespit edilmiştir [51-53]. Çalışmamızda, akut egzersiz uygulanan sıçan karaciğer dokularında kontrol grubuna göre egzersiz grubunda lipit peroksidasyon ürünü olan MDA'nın arttığı, GSH düzeyinin ve GR enzim aktivitesinin azaldığı tespit edildi.

Detoksifikasyon enzimlerinden olan Ces ve GST enzim aktivitelerinin egzersiz grubunda kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı gözlemlendi. Ayrıca, kontrol grubuna göre egzersiz grubunda AChE ve Ces enzim aktiviteleri ilk defa bu çalışmada tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, akut yoğun egzersize maruz kalan sıçan karaciğer dokularında brokoli özütünün etkinliği araştırmasında oksidasyon ürünleri ve enzim aktiviteleri tespit edilmiştir [54]. Karaciğer homojenatlarında yapılan tespitte egzersiz grubu GST, GR, GPx enzim aktivite düzeyi ile kontrol grubu arasında anlamsal fark bulamamışlardır. Ancak brokoli diyeti uygulanan egzersiz + brokoli grubunda ise brokoli diyetinin etkisiyle GST, GR, GPx aktivitelerinde önemli bir artış tespit etmişlerdir. Ancak, akut yoğun egzersiz uygulanan egzersiz grubunda CAT enzim aktivitesi önemli düzeyde azaldığı, bu azalmayı brokoli diyeti uygulamasıyla düzeldiği rapor edilmiştir [54].

Birçok çalışmada, akut yorucu egzersiz uygulanan sıçan karaciğer dokularında MDA, tiyobarbitürük asit reaktif maddeleri ve protein karbonillerinin arttığını, GSH düzeyinde azalmayı ve SOD, CAT enzim aktivitelerinin azaldığı rapor edilmiştir [55-59]. Sıçanlarda akut yorucu egzersizle oluşturulan oksidatif stres üzerine değişik dozajlarda tartar karabuğday ekstraktı takviyesinin karaciğer dokusunda etkinliği çalışılmıştır. Çalışmalarında, doz artırımında bağlı olarak MDA düzeyinin azaldığı, SOD, CAT, GPx ve GR enzim aktivitelerini önemli düzeyde artırdığı bildirilmiştir [60].

Müsavi ve ark. Farklı koşu hızlarında yapılan egzersizlerin sıçan karaciğer ve kas dokularında oksidatif stres biyobelirteçleri üzerine etkileri çalışmalarında, koşu hızının önemini ortaya koymuştur. 36 erkek *Wistar* sıçanlarını kontrol grubu 10,13,14,5,16 ve 17,5 m/dk yoğunluğunda koşu uygulaması yapmışlardır. Testlerin sonucunda <16m/dk. hızlarda egzersiz yapan gruplarda karaciğer dokusu CAT aktivitesinin ve kaslarda GST aktivitesini artırdığı, GSH seviyesini her iki dokuda da azalttığını rapor etmişlerdir. Bu veriler ışığında <16m/dk. hızlarda iskelet kasındaki antioksidan sistem yanıtının adaptasyonu aktivite ettiğini, ancak yüksek hızlarda oksidatif strese neden olduğunu bildirmişlerdir [61]. Çalışmamızda uygulanan protokole göre maksimum 25m/dk. Hızda koşturulan sıçanların karaciğer dokularındaki azalan GSH düzeyi ve artan MDA düzeyleri çalışma protokolümüzün literatürle de uyumlu olduğunu göstermektedir.

Marius-Daniel ve ark. *Wistar* sıçanlar üzerine uyguladığı yüzdürme egzersizi sonucunda sıçan karaciğer dokularında SOD ve CAT enzim aktivitelerinde artışlar gözlenirken, GSH düzeyinde ise azalma tespit etmişlerdir [62]. Karaciğer dokusunda en çok bulunan GSH molekülü serbest radikalleri süpürücü etkisi olan GPx ve GST enzim aktivitelerini aktivite etmesi için supstrat görevini üstlenir. GSH molekülünün azalması ve tükenmesi metabolizmamızda oksidatif stresin biyobelirteci olarak kabul edilmektedir [49,50]. GSH molekülü karaciğer hücrelerinde sentezlendikten sonra kan yoluyla diğer organlara iletilir. Bu dokudaki azalan GSH düzeyi tüm metabolizmadaki GSH homeostazını bozmaktadır. Hücrede GSH molekülünün düşüş nedeni, artan oksidatif stres ile artan GST enzim aktivitesinden kaynaklanmaktadır. Çalışmamızdaki bulgulardan, egzersiz yaptırılan sıçan karaciğer dokularındaki azalan GSH düzeyi diğer çalışmalarla uyumlu olduğu gözlenmiştir [62-64].

Çalışmamızda, siyah havuç grubu MDA düzeyi kontrol grubuyla istatistiksel olarak anlamlı bir fark vermezken, siyah havuç uygulanan egzersiz grubunda MDA düzeyi siyah havucun etkisiyle egzersiz grubundan az çıktığı gözlemlendi. Siyah havuç uygulanan egzersiz

grubu GSH düzeyi egzersiz grubuna göre arttığı saptandı. Siyah havuç grubu GR enzim aktivitesi kontrol grubuyla değeri yakın çıkarken, siyah havuç suyunun etkisiyle siyah havuç uygulanan egzersiz grubunda egzersiz grubuna göre nispi artış tespit edildi. AChE, GST ve Ces enzim aktiviteleri egzersiz grubunda en yüksek düzeyde çıkarken, siyah havucun etkisiyle bu enzim aktivite artışları siyah havuç uygulanan egzersiz grubundaki enzim aktivitelerinde azalma gözlemlendi.

Çalışmamızda, doğal antioksidanların akut egzersizin oluşturduğu strese karşı etkileri vurgulanmaya çalışılmaktadır. Ancak, literatürler de siyah havucun bu alanda etkileri ile ilgili çalışmaların olmadığı tespit edildi. Siyah havuç suyunun sağlığa olumlu etkileri günümüzde artık daha net olarak bilinmektedir. Siyah havucun antioksidan etkinliğinin yüksek olduğu bilinmektedir [65]. İçeriğinde yüksek düzeyde antosiyanidinler mevcuttur. Bu moleküllerin antimikrobiyal, antiobezite, antikanser ve kardiyovasküler hastalıklara karşı pozitif etkinliği mevcuttur [4,66,67].

Siyah havuç suyunun akrilamid kaynaklı nörotoksisite üzerine histopatolojik ve morfometrik etkisinin araştırıldığı literatür de tespit edilmiştir. Araştırmalarında, akrilamid grubunun MDA ve GST enzim aktivite düzeyleri kontrol grubuna göre önemli bir artış rapor etmişlerdir. Ayrıca, GSH, Ces ve AChE enzim aktivite düzeylerinin akrilamid ve siyah havuç uygulanan grupta akrilamid grubuna göre arttığı bildirilmiştir. Yapılan araştırma siyah havucun akrilamid nörotoksisitesine karşı iyileştirici bir etkisi olduğu rapor edilmiştir [33].

Yapılan literatür araştırmalarında, yorucu egzersiz çeşitlerinin tamamında Ces ve AChE enzim aktivitelerinin çalışmadığı tespit edildi. Ces enzimi ilaç, pestisit ve endojen bileşiklerin metabolizması için en önemli enzimdir [68]. Organofosfor ve karbamat pestisitleri AChE ve Ces enzimlerinin inhibisyonuna neden olur. Ces enziminin AChE enzimi üzerine koruyucu etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir [69].

Çalışmamızda, akut egzersiz uygulaması sonucunda egzersiz grubu AChE ve Ces enzim aktivitelerinin diğer gruplara en yüksek seviyede çıktığı tespit edilmiştir. Akut egzersiz sonucunda hücrede artan radikallerin inhibisyonu için gerekli deoksifite enzimlerden olan GST ve Ces enzimlerinin egzersiz grubunda en yüksek seviyede çıkması bu sonuçları ortaya koymaktadır. Ancak, siyah havuç uygulaması sonucunda akut egzersizin artırdığı Ces, GST ve AChE enzim aktivitelerini azalttığı gözlemlendi. Bu azalmayı, siyah havucun antioksidan etkilerinden kaynaklandığı söylenebilir. Çalışmada, Akut egzersiz yaptırılan sıçan karaciğer dokularında siyah havuç uygulamasıyla yüksek lipid

peroksidasyonu engellediği gözlemlendi. Bu olumlu etkilerin yanı sıra antioksidan enzim sistemi üzerine koruyucu etkileri tespit edildi.

Sonuç olarak, bu araştırma multidisipliner bir araştırma olup, spor bilimleri çerçevesinde egzersiz ve antrenman bilimleri alanlarında yapılacak çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.



KAYNAKÇA

- [1] Gradari, S., Palle, A., Greevy, M.C., K.R., Fontan-Lozano, A., & Trejo, J. L. (2016). "Can exercise make you smarter, happier, and have more neurons? A hormetic perspective". *Frontiers in Neuroscience*, 10, 93.
- [2] Emami, S.R., Jafari, M., Haghshenas, R., & Ravasi, A. (2016). "Impact of eight weeks endurance training on biochemical parameters and obesity-induced oxidative stress in high fat diet-fed rats", *Journal of Exercise. Nutrition & Biochemistry*, 20 (1), 29-35.
- [3] Vina, J., et al. (2000). "Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants", *IUBMB Life*, 50, 271-277.
- [4] Algarra, M., Fernandes, A., Mateus, N., de Freitas, V., da Silva, J.C.E., Casado, J. (2014). "Anthocyanin profile and antioxidant capacity of black carrots", (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) from Cuevas Bajas, Spain, *Journal of Food Composition Analysis*, 33 (1), 71-76.
- [5] Khoo, H.E., Azlan, A., Tang, S.T., Lim, S.M. (2017). "Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits", *Food & Nutrition Research*, 61 (1), 1361779.
- [6] Allendorfer, J.B., Arida. R.M. (2018). "Role of physical activity and exercise in alleviating cognitive impairment in people with epilepsy". *Clinical Therapeutics*, 40 (1), 26-34.
- [7] Kılıç, Ö. (2014). Spontan hipertansif sıçanlarda egzersiz ve onu izleyen egzersizi bırakma sürecinin hemoreolojik parametreler üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Denizli: Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [8] Marques-Aleixo, I., Santos-Alves, E., Balca, M.M., Rizo-Roca, D., Moreira, P.I., Oliveira, P.J., Ascensao, A. (2015). "Physical exercise improves brain cortex and cerebellum mitochondrial bioenergetics and alters apoptotic dynamic and auto (mito) phagy markers". *Neuroscience*, 301, pp. 480-495.
- [9] Halliwell, B. (1999). "Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning)". *Free Radical Research*, 31 (4), 261-272.
- [10] Taysi, T., Oztasan, N., Efe, H., Polat, M.F., Gumustekin, K., Siktar, E., Canakci, E., Akcay, F., Dane, S., Gul, M. (2008). "Endurance training attenuates the oxidative stress due to acute exhaustive exercise in rat liver". *Acta Physiologica Hungarica*, 95 (4), 337-347.
- [11] Metzger, B.T., Barness, D.M. and Reed, J.D., (2008). "Purple carrot (*Daucus carota* L.) polyacetylenes decrease lipopolysaccharide- induced expression of inflammatory proteins in macrophage and endothelial cells". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (10), 3554– 3560.

- [12] Sun, T., Simon P.W., and Tanumihardjo. S.A., (2009). "Antioxidant phytochemicals and antioxidant capacity of biofortified carrots (*Daucus carota* L.) of various colors". *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 57 (10), 4142–4147.
- [13] Poudyal, H., Panchal, S., and Brown, L., (2010). "Comparison of purple carrot juice and b-carotene in a high carbohydrate, high-fat diet-fed rat model of the metabolic syndrome". *British Journal of Nutrition*, 104 (9), 1322–1332.
- [14] Kammerer, D., Carle, R., and Schieber, A., (2004). "Characterization of phenolic acids in black carrots (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry". *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18 (12), 1331-1340.
- [15] Giusti, M.M., Wrolstad, R.E. (2003). "Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems". *Biochemical Engineering Journal*, 14 (3), 217–225.
- [16] Liu, Y., Murakami, N., Wang, L., and Zhang, S. (2008). "Preparative High-Performance Liquid Chromatography for the Purification of Natural Acylated Anthocyanins from Red Radish (*Raphanus sativus* L.)". *Journal of Chromatographic Science*, 46 (8), 743-746.
- [17] Wang., L., and Stoner, G.D. (2008). "Anthocyanins and their role in cancer prevention". *Cancer Letters Natural Products Special Issue*, 269 (2), 281-290.
- [18] Gajewski, M., Szymczak, P., Elkner, K., Dabrowska, A., Kret, A., and Danilcenko, H. (2007). "Some aspects of nutritive and biological value of carrot cultivars with orange-, yellow-, and purple-colored roots". *Vegetable Crops Research Bulletin*, 67, 149–161.
- [19] Franson, J.C., Hoffman, D.J., and Schmutz, J.A. (2002). "Blood Selenium Concentrations and enzyme activities related to glutathione metabolism". *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21 (10), 2179-2184.
- [20] Martensson, J., Lai, J.C., and A. Meister. (1990). "High affinity transport of glutathione is part of a multi-component system essential for mitochondrial function". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87 (18), 7185–7189.
- [21] Stein, H.J., Oosthuizen, M.M., Hinder, R.A., and Lamprechts, H. (1991). "Oxygen free radicals and glutathione in hepaticischemia reperfusion injury", *Journal of Surgical Research*, 50 (4), 398-402.
- [22] Erden-İnal, M., Sunal, E., and Kanbak, G. (2002). "Age related changes in the glutathione redox system". *Cell Biochemistry and Function*, 20 (1), 61-66.
- [23] Armstrong, R.N. (1997). "Structure, catalytic mechanism and evolution of the glutathione transferases". *Chemical Research in Toxicology*, 10 (1), 2-18.

- [24] Gyamfi, M.A., Ohtani, I.I., Shinno, E., and Aniya, Y. (2004). "Inhibition of glutathione s-transferases by Thonningianin A, isolated from the African medicinal herb, Thonningia sanguinea, in vitro". *Food and Chemical Toxicology*, 42 (9), 1401-1408.
- [25] Barron, M.G., Charron, K.A., Stott, W.T., and Duvall, S.E. (1999). "Tissue carboxylesterase activity of rainbow trout", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18 (11), 2506-2511.
- [26] Güven, A. (2000). "Importance of acetylcholinesterase and its inhibitors". *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 6 (1-2), 145-151.
- [27] Kuşçuoğlu, U. (2004). Deneysel omurilik yaralanmasında agmatinin doza bağımlı nöroprotektif etkilerinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [28] Smith, E.L., Hill, R.R., and Lehmann, I.R. (1983). *Principles of Biochemistry General Aspects*. New York: McGraw-Hill.
- [29] Düzgüner, V. (2005). Deneysel olarak diyabet oluşturulan tavşanlarda çinkonun lipit peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Hatay: Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [30] Rio, D.D., Stewart, A.J., and Pellegrini, N.A. (2005). "A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress". *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15 (4), 316-328.
- [31] Keha, E., ve Küfrevioğlu, Ö.İ. (2010). *Biyokimya*, Erzurum: Aktif Yayınevi.
- [32] Beütler, E. (1969). "Effect of flavin compound on Glutathione Reductase Activity; In vivo and in vitro studies". *The Journal of Clinical Investigation*, 48 (10), 1957-1966.
- [33] Esen, G., Uçkun, M., Özkaya, A., Yoloğlu, E., Annaç, E., Pekmez, H., ve Uludağ, S. (2021). "An investigation of histopathologic and morphometric effect of black carrot juice on acrylamid induced neurotoxicity". *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 38 (2), 82-87.
- [34] Ascensao, A., Lumini-Oliveira, J., Machado, N.G., Ferreira, R.M., Gonçalves, I.O., Moreira, A.C., and Magalhães, J. (2011). "Acute exercise protects against calcium-induced cardiac mitochondrial permeability transition pore opening in doxorubicin-treated rats". *Clinical Science*, 120 (1), 37-49.
- [35] Sedlak, L., and Lindsay, R.H. (1968). "Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent". *Analytical Biochemistry*, 25 (1), 192-205.
- [36] Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. (1974). "Glutathione-S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation". *Journal of biological Chemistry*, 249 (22), 7130-7139.

- [37] Placer, Z.A., Cushman, L.L., and Johnson, B.C (1996). "Estimation of product of lipid peroxidation (malony dialdehyde) in biochemical systems". *Analytical Biochemistry*, 16 (2), 359-364.
- [38] Nousiainen, U., and Törrönen, R. (1984). "Differentiation of microsomal and cytosolic carboxylesterases in the rat liver by in vivo and in vitro inhibition". *General Pharmacology; The Vascular System*, 15 (3), 223-227.
- [39] Santhoshkumar, P., and Shivanandappa,T. (1999). "In vitro sequestration of two organophosphorus homologs by the rat liver". *Chemico-Biological Interactions*, 119, 227-282.
- [40] Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., and Featherstone, R.M. (1961). "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity". *Biochemical Pharmacology*, 7 (2), 88-95.
- [41] Özmen, M., Dominguez S.E., and Fairbrother, A. (1998). "Effects of dietary azinphos methyl on selected plasma and tissue biomarkers of the gray-tailed vole". *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 60 (2), 194-201.
- [42] Bradford, M.M. (1976). "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protindyebinding". *Analytical Biochemistry*, 72 (1-2), 248-254.
- [43] Gradari, S., Palle, A., Greevy, M.C., K.R., Fontan-Lozano, A., & Trejo, J. L. (2016). "Can exercise make you smarter, happier, and have more neurons? A hormetic perspective". *Frontiers in Neuroscience*, 10 (93), 16.
- [44] Guerreiro, L. F. and et al. (2016). "Oxidative status of the myocardium in response to different intensities of physical training". *Physiological Research*, 65 (5), 737-749.
- [45] Emami, S.R., Jafari, M., Haghshenas, R., & Ravasi, A. (2016). "Impact of eight weeks endurance training on biochemical parameters and obesity-induced oxidative stress in high fat diet-fed rats". *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*, 20 (1), 29-35.
- [46] Vina, J., (2000). et al. "Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants". *IUBMB Life*, Volume 50, pp. 271-277.
- [47] Naderi, R. et. al. (2015). "Voluntary exercise protects heart from oxidative stress in diabetic rats". *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 5 (2), 231–236.
- [48] Selman, C., McLaren, J. S., Collins, A. R., Duthie, G. G., & Speakman, J. R. (2002). "Antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and DNA oxidative damage: the effects of short-term voluntary wheel running". *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 401 (2), 255–261.
- [49] Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). "Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production". *Physiological Reviews*, 88 (4), 1243–1276.

- [50] Henriquez-Olguín, C. et. al. (2019). “Adaptations to high-intensity interval training in skeletal muscle require NADPH oxidase 2”. *Redox Biology*, 24, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101188>
- [51] Berzosa, C. et. al. (2011). “Acute exercise increases plasma total antioxidant status and antioxidant enzyme activities in untrained men”. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, <https://doi.org/10.1155/2011/540458>
- [52] Radak, Z. et. al. (2014). “The redox-associated adaptive response of brain to physical exercise”. *Free Radical Research*, 48 (1), 4-92.
- [53] Toval, A. et. al. (2017). “Habituation training improves locomotor performance in a forced running wheel system in rats”. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11, 42.
- [54] Cardeniaa, V., Rodriguez-Estradaa, M.T., Lorenzini, A., Bandinid, E., Angelonie, C., Hrelia, S., and Malaguti M. (2017). “Effect of broccoli extract enriched diet on liver cholesterol oxidation in rats subjected to exhaustive exercise”. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 169, 137-144. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.04.005>
- [55] Huang, C.C., Huang, W.C., Yang, S.S., Chan, C.C., and Lin, W.T. (2013). “Ganoderma tsugae hepatoprotection against exhaustive exercise-induced liver injury in rats”. *Molecules*, 18 (2), 1741–1754.
- [56] Taysi, T., Oztasan, N., Efe, H., Polat, M.F., Gumustekin, K., Siktar, E., Canakci, E., Akcay, F., Dane, S., and Gul, M. (2008). “Endurance training attenuates the oxidative stress due to acute exhaustive exercise in rat liver”. *Acta Physiologica Hungarica*, 95 (4), 337-347.
- [57] Huang, S.C., Lee, F.T., Kuo, T.Y., Yang, J.H., and Chien, C.T. (2009). “Attenuation of long-term *Rhodiola rosea* supplementation on exhaustive swimming-evoked oxidative stress in the rat”. *Chinese Journal of Physiology*, 52 (5), 316-324.
- [58] Korivi, M., Hou, C.W., Huang, C.Y., Lee, S.D., Hsu, M.F., Yu, S.H., Chen, C.Y., Liu, Y.Y., and Kuo, C.H., (2012). “Ginsenoside-Rg1 protects the liver against exhaustive exercise- induced oxidative stress in rats”. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2012/932165>
- [59] Qi, Bo, Zhang L., Zhang, Z., Ouyang J., and Huang, H. (2014). “Effects of ginsenosides-Rb1 on exercise-induced oxidative stress in forced swimming mice”. *Pharmacognosy Magazine*, 10 (40), 458–463.
- [60] Fei-Wei, Y., Fang, F., Hong-Mei L., and Jin Ye. (2012). “Influence of Tartary Buckwheat Extracts Supplementation on Oxidative Stress Induced by Acute Exhaustive Exercise in Rats”. *International Journal of Pharmacology*, 8 (8), 695-700.
- [61] Mousavi, S.R., Jafari, J., Rezaei, S., Alinejad H.A, and Sobhani, V. (2020). “Evaluation of the effects of different intensities of forced running wheel exercise on

oxidative stress biomarkers in muscle, liver and serum of untrained rats”. *Lab Animal*, 49 (4), 119-125.

[62] Marius-Daniel, R., Dragomir, C., and Stelian, S. (2010). “The effect of acute physical exercise on liver and kidney in the Wistar rat”. *Romanian Biotechnological Letters*, 15 (3), 51-55.

[63] Bejma, J., & Ji, L. L. (1999). “Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle”. *Journal of Applied Physiology*, 87 (1), 465–470.

[64] Vukovic, R. et. al. (2014). “Impact of ovariectomy, high fat diet, and lifestyle modifications on oxidative/antioxidative status in the rat liver”. *Croatian Medical Journal*, 55 (3), 218-227.

[65] Ulusoy, A., and Tamer, C.E. (2019). “Determination of suitability of black carrot (*Daucus carota* L. spp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) juice concentrate, cherry laurel (*Prunus laurocerasus*), blackthorn (*Prunus spinosa*) and red raspberry (*Rubus idaeus*) for kombucha beverage production”. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1524-1536.

[66] Mizgier, P., Kucharska, A.Z., Sokół-Łętowska, A., Kolniak-Ostek, J., Kidoń, M., and Fecka, I. (2016). “Characterization of phenolic compounds and antioxidant and anti-inflammatory properties of red cabbage and purple carrot extracts”. *Journal of Functional Foods*, 21, 133-146. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.004>

[67] Khoo, H.E., Azlan, A., Tang, S.T., and Lim, S.M. (2017). “Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits”. *Food and Nutrition Research*, 61 (1), 1-21. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>

[68] Di, L. (2019). “The impact of carboxylesterases in drug metabolism and pharmacokinetics”. *Current Drug Metabolism*, 20 (2), 91-102, <https://doi.org/10.2174/1389200219666180821094502>

[69] Soto-Mancera, F., Arellano, J., and Albendín, M. (2020). “Carboxylesterase in *Sparus aurata*: Characterisation and sensitivity to organophosphorus pesticides and pharmaceutical”. *Ecological Indicators*, 109, <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105603>