

AKUT HIPOBARİK HIPOKSİNİN YAŞLI SIÇAN KALP KASI SOL VENTRİKÜL RADİKAL HASARINA ETKİSİ

Eda AĞAŞÇIOĞLU*

ÖZET

Hipokside serbest radikal hasarı oluşabilir. Yaşlılar ise hipoksik koşullarda serbest radikal hasarına karşı daha da savunmasızdır. Araştırmanın amacı, akut orta şiddetli hipobarik hipoksinin yaşlı sıçan kalp kası sol ventrikülü oksidatif hasarını incelemektir. Araştırmada yaşlı (24 aylık) erkek Wistar albino sıçanları kullanıldı. Sıçanlar orta şiddetli hipobarik hipoksi koşullarında 6 saat bırakıldı ve kalp kası radikal hasar belirteçleri olarak lipid hidroperoksid, protein karbonil, ileri oksidasyon protein ürünü, total ve protein tiyol düzeyleri belirlendi. Yaşlı sıçan kalp kası sol ventrikül protein karbonil ve lipid hidroperoksid düzeyleri hipoksi grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olarak ($p<0.000$) saptanırken, ileri oksidasyon protein ürünü için hipoksi ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Total ve protein tiyol düzeyleri ise, hipoksi grubu kalp kası sol ventrikülünde kontrol grubundakilere oranla daha azdı ($p<0.000$). Protein tiyol ve protein karbonil değerleri arasında yüksek negatif ilişki ($r=-0.882$, $p<0.000$) belirlendi. Araştırma sonuçları, akut orta şiddetli hipobarik hipoksinin yaşlı sıçan kalp kasında radikal hasara neden olabileceği yönündedir.

Anahtar sözcükler: Yükselti, serbest radikal, hasar belirteçleri, kalp kası, yaşlılık, Wistar albino sıçanı

SUMMARY

THE EFFECTS OF ACUTE MILD HYPOBARIC HYPOXIA ON OLD RATS' MYOCARDIAL LEFT VENTRICLE OXIDATIVE DAMAGE

Oxidative damage may occur during hypoxia. Under hypoxic conditions, elderly have weaker defense against oxidative damage. The present study aims to examine the effects of acute mild-strength hypobaric hypoxia on aged rats' myocardial left ventricle oxidative damage. In the study, 24 months' old Wistar albino rats were used. Following six

*Çankaya Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Ankara

hours of exposure to 6000 m altitude, heart muscles' radical damage indicators, i.e. lipid hydroperoxides, protein carbonyl, advanced oxidation protein products, total thiol and protein thiol levels were measured. Both protein carbonyl and lipid hydroperoxide levels in old rats' heart muscle left ventricles were found to be significantly higher ($p<0.000$) in the hypoxic group, compared with the control group. However, there was no difference between control and hypoxic groups in terms of advanced oxidation protein product levels. Hypoxic groups' levels of left ventricle total thiols and protein thiols were measured to be statistically lower ($p<0.000$) in relation to the control group. High negative correlation ($r=-0.882$, $p<0.000$) was observed between levels of protein thiols and protein carbonyls. The study results illustrate that acute mild-strength 6000 m hypobaric hypoxia may cause oxidative damage in old rats' heart muscles.

Key words: High altitude, free radicals, damage indicators, heart muscle, elder, Wistar albino rats

GİRİŞ

Hipoksi; ortamdaki oksijen derişiminin az olması, ya da doku/ hücrenin bulunan oksijeni herhangi bir nedenle kullanamama durumudur (13) Hipoksiye uyumda organizmada ve moleküler düzeyde birçok değişim yaşanır. Radikal oluşumunun artması bu moleküler değişimlerden biridir (12). Hipokside mitokondri, en önemli oksijen radikali oluşum kaynağı iken (17), bir diğer kaynak oksijenin substrat olarak kullanıldığı ekstramitokondriyal yollardır (15).

Yaşlanma teorilerinden biri olan serbest radikal teorisi canlının yaşamı boyunca etkilendiğı reaktif oksijen türlerinin (ROS) oksidatif hasara neden olabileceğidir. Yaşlılıkta redoks homeostazındaki denge kaybolmaktadır. Yaşlı dokuda oluşan serbest radikallerin DNA, protein ve lipidlerde hasara yol açtığı bildirilmiştir (23). Kümülatif ve potansiyel olarak artan miktardaki hasar, yaşlanmadaki fonksiyonel ve patolojik bozukluklara yol açar (5). Bu hasarlı ürünler hücrede her zaman yıkılamayıp birikir (4,8) ve yaşlı dokularda kalp-damar hastalıkları, kanser, immün sistem fonksiyon kaybı gibi rahatsızlıklara yol açar (19).

Protein oksidasyonu, serbest radikallerin proteinler ile kovalent modifikasyonu sonucu oluşur (24). Bu etkileşim sonucunda bir çok amino asit (histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi) kalıntısında ve/veya proteinlerin peptit omurgalarında hasar gerçekleşir (9). Oluşan hasarlar proteinlerin fonksiyon kaybına (proteaz inhibitör aktivitesinin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış/azalmış yatkınlık, reseptör aracılı

endositozun bozulması, vb.) yol açmaktadır (24). Protein oksidasyonunun başlıca moleküler mekanizmaları PCO oluşumu ile karakterize edilen metal katalizli protein oksidasyonu, nitrotirozin, protein tiyol (P-SH) gruplarının kaybı, ileri oksidasyon ürünlerinin oluşumu (AOPP), protein hidroperoksitlerin (PrOOH) oluşumu olarak sıralanabilir.

Amino asitlerin α -karbon veya R- yan zincirlerinin oksidatif modifikasyonları ve bunu izleyen reaktif oksijen aracılı peptit bağının ayrılma reaksiyonu ile PCO türevleri oluşmaktadır (14). Hücrede biriken hasarlı proteinler, proteinlerin oksidasyon ve yıkım hızını yansıtır (6). PCO düzeyinin saptanması protein oksidasyonunu saptamada duyarlı bir yöntemdir (5,7,14). Literatürde yaşlı deney hayvanları ve insan plazmasında PCO düzeyi gençlerinkinden daha yüksek saptanmış (5,8); hipoksi koşullarında da arttığı gözlenmiştir (22).

Bir antioksidan gibi fonksiyon gösteren protein tiyol (P-SH) grupları serbest radikaller ile oksitlenir ve proteinlerin kendi yapısında ve/veya bir başka protein ile çapraz bağ oluşturmaya olanak tanır (7). Tiyol gruplarının oksitlenerek disülfit ve oksiasit türevlerine dönüşümü protein oksidasyonunun en erken gözlenebilen belirtisidir (7,10). Yaşlı sıçanların iskelet kasında (7); kalp, plazma ve beyin dokularında (5,7) P-SH ve total tiyol (T-SH) düzeylerinin genç gruba kıyasla düşük olduğu belirlenmiştir. Hipoksi koşullarında soleus kası P-SH ve T-SH değerleri düşmektedir (7).

İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) ditirozin çapraz bağlı, disülfit köprülü ve protein karbonil içeren protein oksidasyon ürünleri olarak tanımlanır. AOPP'nin, MDA'dan daha duyarlı oksidatif stres belirteci olduğu belirtilmektedir (26). Hipoksi koşullarında AOPP ile ilgili sınırlı çalışma vardır. AOPP düzeyi hipoksi koşullarında insan (21) ve hayvan plazmasında (11) yüksek bulunmuştur. Yaşlı sıçan iskelet (7) ve kalp kasında yapılan çalışmalarda AOPP değerleri gençlerinkine göre daha yüksek belirlenmiştir (14). Hipokside yaşlı sıçan kalp dokusu AOPP düzeyini belirten bir araştırmaya ise rastlanmadı.

Oksidatif hasar belirteçleri arasında önemli bir yer tutan (16) lipit hidroperoksid (LHP) oksidasyonu hidroksil radikali ile başlatılır, hücre ve mitokondri zarında zincirleme tepkime olarak devam eder (25). Yaşlılarda LHP belirteçleri olan TBARS ve MDA düzeyleri yüksek bulunmuştur (18). Yaşlı-erkek ve dişi sıçanların kalp kası, kan plazması (14) ve iskelet kası (7) LHP düzeyleri yüksek bulunmuştur. Literatürde hipoksi çalışmalarında LHP düzeyleri çelişmektedir: iskelet kasında LHP artışı saptanmazken (2); kronik hipobarik hipokside (5500 m) ise kalp kası, akciğer, karaciğer ve böbreklerde MDA yüksek bulunmuştur (20).

Yaşlanma sürecinde bir taraftan serbest radikal oluşumu artarken, diğer taraftan antioksidan mekanizmaları zayıflar. Böylece oluşan redoks dengesizliği, hücre ve mitokondri zarında oksidatif hasar meydana getirerek protein ve DNA oksidasyonunu daha da artırır (15,18). Protein oksidasyonu ise çok sayıda reaktif türev ve stabil ürün oluşturur (6,8,10). Bu değişimlerin hepsi mitokondriyal hasarın ilerlemesine ve ölümüne neden olabilmektedir. Hasar serisini, hücre ölümü ve doku hasarı gibi önemli fizyopatolojik değişimler takip eder (15,25). Bu nedenle, hipoksi ortamında yaşlı hayvanları ve oksijene duyarlı organları incelemek kritik anlam taşır. Kalp dokusu post-mitotik, oksijene duyarlı önemli bir organ olduğu için, araştırmada serbest radikal hasarı açısından incelendi.

Bu çalışmada, akut orta şiddetli (6000 m) hipobarik hipoksinin yaşlı sıçan kalp kası sol ventrikülünde oksidatif hasara yol açıp açmadığı sorusu; oksidatif hasar belirteçleri olan AOPP, PCO, LHP, T-SH, P-SH düzeyleri saptanarak yanıtlanmaya çalışıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hayvan deneyi

Bu araştırmada, akut orta şiddetli (6000 m) hipobarik hipoksinin yaşlı sıçanların miyokard sol venrikülü oksidatif hasarı üzerine etkilerini araştırma amacıyla 12 adet 24 aylık, 300-400 g ağırlığında erkek Wistar albino sıçanı (Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi) kullanıldı. Yükselti şiddeti Magalhaes ve ark.ın (17) yaptıkları çalışma tasarımları baz alınarak belirlendi. Hayvan deneyi için ve ayrıca ek hayvan kullanımı için etik kurul izinleri Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan alındı.

Şıçanlar rastgele yöntemle kontrol (n=6) ve hipoksi (n=6) grubuna ayrıldılar. Hipoksi grubu doğrudan 6000 m yapay yükselti ortamında altı saat tutuldu. Hipobarik hipoksi kabini sıçanlarda daha önce farklı deney kurgusuyla kullanılmıştı (12). Deney bitiminde kontrol ve hipoksi grubu ketamin klorür (Ketasol 10%, Richter-Pharma, Wels, Austria) ve Ksilazin (Alfazyne 2%, Alfasan, Woerden, Netherlands) ile uyutulularak feda edildi ve kalp kasları ekstrakte edildi.

Doku homojenizasyonu

Kalp kası hızla dissekte edilerek sol ventrikül izole edildi. Sol ventrikül yaklaşık 50-80 mg'lık parçalar halinde farklı tüplerin içerisine konuldu. Doku örnekleri hemen likit nitrojen ile donduruldu ve -80°C'de saklandı. Daha sonra örnekler biyokimyasal analizler için 1:21 oranında

potasyum tamponu ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$, 100mM, pH 7.4) ve X250D (CAD, Almanya) bıçaklı homojenizatör kullanılarak homojenize edildi. Ardından 2800g'de 4°C'de ve 10 dk süreyle Z 323K soğutmalı santrifüjde (Hermle, Almanya) santrifüje edildi. İşlemden elde edilen süpernatantlar biyokimyasal analizler için yeni tüplere aktarıldı.

Biyokimyasal analizler

Kas protein konsantrasyonu belirlenmesi: Kas protein derişimi Bradford yöntemi kullanılarak belirlendi.

Protein karbonil gruplarının analizi: P-CO Reznik ve Packer'in 1994 yılında tanımladıkları ve Çakatay ve ark.ın (5) düzenleme yaptıkları yöntemle belirlendi. Kullanılan çözeltiler; 2.5 M HCl, 10 mM DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazin), %20'lik TCA (triklorasetik asit), %10'luk TCA, etanol-etil asetat (1:1) ve 6 M guanidin hidroklorid idi.

Total tiyol ve non-protein tiyol analizi: T-SH ve non-protein tiyol (NP-SH) Sedlak ve Lindsay'in 1968'de tanımladıkları, Çakatay ve ark.ın (7) düzenledikleri yöntemle belirlendi. Kullanılan çözeltiler; 0.01 M DNTB (5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoik asit), Tris tamponu (0.2 M, pH 8.2), Tris tamponu (0.4 M, pH 8.9), %50'lik TCA idi. T-SH ile NP-SH değerleri arasındaki farktan P-SH konsantrasyonu hesaplandı.

İleri oksidasyon protein ürünlerinin analizi: AOPP, Witko-Sarkat ve ark.ın (26) tanımladıkları ve Kayalı ve ark.ın (14) düzenleme yaptıkları yöntemle belirlendi. Kullanılan çözeltiler; fosfat tamponu (pH 7.4), potasyum iyodit (1.16 M), asetik asit (%100) idi. Chloramin-T eşitliği dikkate alınarak AOPP düzeyleri hesaplandı.

Lipit hidroperoksitlerin analizi: LHP, Wolff'un 1994 yılında tanımladığı, Çakatay ve ark.ın (7) düzenleme yaptıkları yöntemle göre saptandı. FOX-2 reaktifi hazırlamak için kullanılan çözeltiler; ksilenol oranj (100 μM), amonyum ferro sülfat (250 μM), methanol (%90, HPLC-grade), bütül hidroksitoluen (4 mM) ve sülfirik asit (25 mM) idi.

İstatistiksel analiz

Kontrol ve 6000 m hipobarik hipoksi yaşlı sıçanların sol ventrikül AOPP, LHP, TSH, PCO ve PSH serbest radikal hasar değişkenleri arasındaki farklılıklar SPSS v15.0 istatistik programı ile saptandı. Analizler hem Kruskal-Wallis non-parametrik ANOVA, Mann-Whitney U-testi ile; hem de deney gruplarının normal dağılım göstermesi ve varyansların homojen olması nedeniyle Student t-testi ile yapıldı. Bulgularda Student t-testi sonuçları kullanıldı. Ayrıca PCO ve PSH arasındaki ilişki Pearson

korrelasyonu ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık sınırı AOPP ($p < 0.05$) hariç $p < 0.000$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

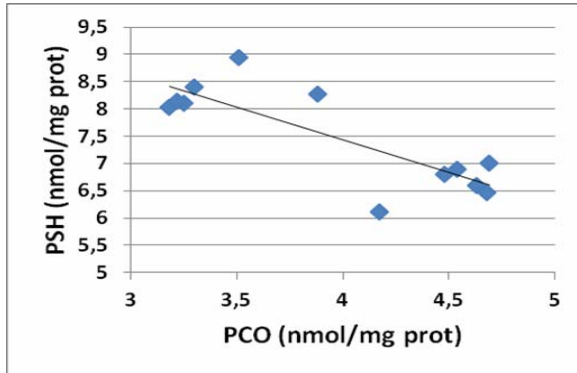
Çalışmada akut orta şiddetli hipobarik hipoksinin yaşlı sıçan kalp kası sol ventrikülünde yol açtığı oksidatif hasar düzeylerine ilişkin değişkenlerin değerleri ortalama \pm SS olarak Tablo 1’de verilmektedir.

Tablo 1. Hipobarik hipoksinin (HH) sıçan ventrikülünde oksidatif stres değişkenlerine etkileri (Ort. \pm SS olarak)

Grup/test	AOPP	LHP	PCO	TSH	PSH
Kontrol	52.9 \pm 3.2	11.1 \pm 0.4	3.39 \pm 0.27	9.10 \pm 0.56	8.32 \pm 0.34
HH grubu	53.2 \pm 2.5	12.8 \pm 0.7*	4.53 \pm 0.20*	7.50 \pm 0.34*	6.65 \pm 0.33*

*: $p < 0.000$

Akut orta şiddetli hipobarik hipoksi yaşlı sıçan grubunda kalp kası sol ventrikül serbest radikal hasar değişkenleri olan LHP, PCO, PSH ve TSH düzeylerinin her biri kontrol grubununkilere oranla istatistiksel açıdan daha yüksek ($p < 0.000$) saptandı. Hipobarik hipoksi ve kontrol gruplarının AOPP düzeyleri arasında ise anlamlı bir fark belirlenmedi. Grup farkı gözetmeksizin, PCO ve PSH arasında yüksek negatif ilişki ($r = -0.882$, $p < 0.000$) gözlemlendi (Şekil 1).



Şekil 1. Yaşlı sıçanlarda PSH ve PCO ilişkisi ($r = -0.882$, $p < 0.000$)

TARTIŞMA

Yaşlanma sürecinde ve hipoksi koşullarında redoks dengesizliğine bağlı olarak normalden fazla serbest radikal oluşur (17). Yaşlılarda hipoksi

ortamında daha çok serbest radikal oluşacağı açıktır. Yaşlılıkta sık gözlenen aterosklerozis gibi hastalıkların ana mekanizmalarının altında yatan temel nedenlerden biri serbest radikallerdir (13,15).

Bu araştırma bulguları; orta şiddetli akut hipobarik hipoksinin yaşlı sıçan miyokard sol ventrikülünde oksidatif hasara yol açabileceği yönündedir. Çalışmada, hipoksi grubu PCO düzeyi kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek bulundu. Bu bulgu literatür ile benzerlik göstermektedir. Deney hayvanları (4) ve insan (13) çalışmalarında PCO düzeyi yaşlılarda daha yüksek bulunmuştur. Hipobarik hipoksi koşullarında dört hafta süre ile yapılan egzersizde sıçanların quadriseps kası kırmızı bölgesinde PCO düzeyinde artış gözlenmiştir (22). Yine akut şekilde 8500 m yükseltide bırakılan 10 haftalık erkek farelerin iskelet kası mitokondriyal PCO düzeyi kontrol grubuna göre artış göstermiştir (17). Hipokside yaşlı hayvan kalp kası sol ventrikülü serbest radikal hasarı ile ilgili çalışmaya ise rastlanmadı.

Literatürde hipoksi koşullarında AOPP parametresi ile ilgili sınırlı sayıda araştırmaya rastlanmaktadır. Bir çalışmada, insan plazması AOPP düzeyi normoksik koşullara göre daha yüksek bulunmuştur (21). Fakat 5700 m ve 6300 m yükseltide yapılan çalışmada ise, hipoksi grubu plazma AOPP düzeyi ile kontrol grubu plazma AOPP düzeyi arasında, her iki yükseltide de anlamlı bir fark bulunamamıştır (11). Daha önce aynı araştırma tasarımı ile genç sıçan miyokard sol ventrikülünde belirlenenin (1) aksine; yaşlı sıçanlarda yapılan bu çalışmada hipoksi ve kontrol grupları AOPP düzeyleri arasında fark saptanmadı.

P-SH ve T-SH; oksidatif hasar belirteci olmalarının yanı sıra, nonenzimatik antioksidan mekanizmasının bir parçasıdır (3,7). Bu araştırmada, literatürde gözlenene benzer şekilde, P-SH ve T-SH düzeyleri kontrol grubu sol ventrikülünde hipoksi grubunda belirlenene göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu. İskelet kasında yapılan bir çalışmada T-SH değerlerinin hipoksik ortamda azaldığı belirlenmiştir (11). P-SH ve/veya T-SH değerleri ile PCO değerleri arasında yüksek negatif korrelasyon da elde edilmiştir (8). Benzer şekilde P-SH ve PCO arasında buradaki çalışmada da yüksek negatif ilişki saptandı. P-SH ve T-SH düzeylerine ilişkin bulgular, hipoksik koşullarda yaşlı sıçan kalp kası sol ventrikülünde antioksidan olarak görev yaptıkları ve proteinleri oksitlenmeden koruyabilecekleri yönündedir.

Hipokside iskelet kası lipit peroksidasyonunda artış saptanmazken (22), 5700m ve 6300m hipobarik hipokside kan plazmasında (11) ve

5500m hipobarik hipoksi koşullarında kalp dokusunda yüksek düzeyde lipit peroksidasyon hasarı belirlenmiştir (28). Yaşlılarda mitokondride radikal artışına paralel olarak bir lipit peroksit belirteci olan TBARS artışı gözlenmiştir (25). Yaşlı erkek ve dişi sıçanların kalp (14) ve iskelet kası (7) LHP düzeyleri yüksek bulunmuştur. Buradaki çalışmada hipoksi koşullarında yaşlı sıçan kalp dokusu sol ventrikülünden elde edilen LHP bulguları literatürle aynı doğrultudadır.

Peroksinitrit, tirozin amino asidiyle reaksiyonu sonucu nitrotirozin oluşturmaktadır. Nitrotirozin önemli bir oksidatif protein hasar belirtecidir. NO hipoksik koşullara uyum sürecinde ilk sentezlenen moleküllerden biridir; ancak ortamdaki konsantrasyonu arttığında toksik etkilerini göstermektedir (27). Ayrıca akut hipobarik hipokside NO'nun radikal hasarına yol açma olasılığı yüksektir. Bu araştırmada nitrotirozin düzeylerinin belirlenmesi, özellikle protein hasarı açısından araştırma bulgularını daha kuvvetli kılabilirdi. Tiyol grupları redoks regülasyonunda etkin rol aldığı bilinen GSH ve GSSH'nin saptanmaları ve redoks indeksinin hesaplanması, akut hipokside yaşlı sıçan kalp kası sol ventrikülünde oluşan radikal hasarına ilişkin daha belirleyici yorum yapılmasını sağlayabilirdi.

Her ne kadar bu çalışmada, hipokside yaşlı sıçan kalp kası sol ventrikülünde AOPP düzeyinde bir farklılık saptanmasa da; artan PCO ve LHP düzeyleri, azalan P-SH ve T-SH düzeyleri, yükseltide yaşlı sıçan miyokard sol ventrikülünde oksidatif hasarın oluşabileceğini ortaya koymaktadır.

Teşekkür: Araştırmada emeği geçen HÜ Spor Bilimleri Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Haydar Demirel'e, AÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Metin Baştuğ'a ve Prof. Dr. Hakan Fıçıcılar'a, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ufuk Çakatay'a ve Ardahan Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Rıdvan Çolak'a teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

1. Ağaşçıoğlu E, Çolak R, Baştuğ M, Fıçıcılar H, Demirel H. Akut orta şiddetli hipobarik hipoksinin sıçan miyokard sol ventrikül oksidatif hasarına etkisi. *Spor Hekimliği Dergisi*. 2012;47:139-48.
2. Bailey DM, Castell LM, Newsholme EA, Davies B. Continuous and intermittent exposure to the hypoxia of altitude: implications for glutamine metabolism and exercise performance. *Br J Sports Med*. 2000;34:210-2.
3. Chianeh YR, Prabhu K. Protein thiols as an indicator of oxidative stress. *Archives Medical Review Journal*. 2014;23:443-56.

4. Clanton TL. Hypoxia-induced reactive oxygen species formation in skeletal muscle (Review). *J Appl Physiol (1985)*. 2007;102:2379-88.
5. Çakatay U, Kayalı R, Sivas A, Tekeli F. Prooxidant activities of alpha-lipoic acid on oxidative protein damage in the aging rat heart muscle. *Arch Gerontol Geriatr*. 2005;40:231-40.
6. Çakatay U, Telci A. Oksidatif protein hasarı ve saptanmasında kullanılan marker'lar. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*. 2000;63:314-7.
7. Çakatay U, Telci A, Kayalı R, Tekeli F, Akçay T, Sivas A. Regulation of aging with oxidative protein damage parameters in the rat skeletal muscle. *Clin Biochem* 2003;36:51-5.
8. Çakatay U, Telci A, Yılmaz İA, Akçay T, Sivas A. Yaşlanmanın plazma oksidatif protein hasarına etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*. 2000;31:220-3.
9. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation in human diseases (Review). *Trends Mol Med*. 2003;9:169-76.
10. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*. 2003;329:23-38.
11. Devi SA, Vani R, Subramanyam MV, Reddy SS, Jeevaratnam K. Intermittent hypobaric hypoxia-induced oxidative stress in rat erythrocytes: protective effects of vitamin E, vitamin C, and carnitine. *Cell Biochem Funct*. 2007;25:221-31.
12. Földes-Papp Z, Domej W, Demel U, Tilz GP. Oxidative stress caused by acute and chronic exposition to altitude. *Wien Med Wochenschr*. 2005;155(7-8): 136-42.
13. Hochachka PW. Mechanism and evolution of hypoxia-tolerance in humans (Review). *J Exp Biol*. 1998;201(Pt 8):1243-54.
14. Kayalı R, Çakatay U, Uzun H, Genç H. Gender difference as regards myocardial protein oxidation in aged rats: male rats have increased oxidative protein damage. *Biogerontology*. 2007;8:653-61.
15. Kulkarni AC, Kuppusamy P, Parinandi N. Oxygen, the lead actor in the pathophysiologic drama: enactment of the trinity of normoxia, hypoxia, and hyperoxia in disease and therapy. *Antioxid Redox Signal*. 2007;9:1717-30.
16. Liu H, Lightfoot R, Stevens JL. Activation of heat shock factor by alkylating agents is triggered by glutathione depletion and oxidation of protein thiols. *J Biol Chem*. 1996;271:4805-12.
17. Magalhães J, Ascensão A, Soares JMC, Ferreira R, Neuparth MJ, Marques F, et al. Acute and severe hypoxia increases oxidative stress and impairs mitochondrial function in mouse skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*. 2005;99:1247-53.
18. Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I, Asenjo M, Márquez J. Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death (Review). *Int J Biochem Cell Biol*. 2002;34:439-58.
19. Murdoch CE, Zhang M, Cave AC, Shah AM. NADPH oxidase-dependent redox signalling in cardiac hypertrophy, remodelling and failure (Review). *Cardiovasc Res*. 2006;71:208-15.

20. Nakanishi K, Tajima F, Nakamura A, Yagura S, Ookawara T, Yamashita H, et al. Effect of hypobaric hypoxia on antioxidant enzymes in rats. *J Physiol.* 1995;489:869-76.
21. Pialoux V, Mounier R, Ponsot E, Rock E, Mazur A, Dufour S, et al. Effects of exercise and training in hypoxia on antioxidant/pro-oxidant balance. *Eur J Clin Nutr.* 2006;60:1345-54.
22. Radak Z, Asona K, Lee KC, Ohno H, Nakamura A, Nakamoto H, et al. High altitude increases reactive carbonyl derivatives but not lipid peroxidation in skeletal muscle of rats. *Free Radic Biol Med.* 1997;22:1109-14.
23. Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology.* 2005;6:71-5.
24. Shacter E. Protein oxidative damage. *Methods Enzymol.* 2000;319:428-36.
25. Vázquez-Memije ME, Capin R, Tolosa A, El-Hafidi M. Analysis of age-associated changes in mitochondrial free radical generation by rat testis. *Mol Cell Biochem.* 2008;307:23-30.
26. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 1996;49:1304-13.
27. Zaobornyj T, Valdez LB, La Padula P, Costa LE, Boveris A. Effect of sustained hypobaric hypoxia during maturation and aging on rat myocardium. II. mtNOS activity. *J Appl Physiol (1985).* 2005;98:2370-5.
28. Zhang QJ, Zhan H, Li T, Hao AG, Wan CH, Xin YM. Effects of simulated flight hypobaric hypoxia and oxygen inhalation on freeradical metabolism in various organs of mice. *Space Med Med Eng (Beijing).* 1999;12:414-7.

Yazışma için e-mail: edaagascioglu@gmail.com