

AKUT ORTA ŞİDDETLİ HIPOBARİK HIPOKSİNİN SIÇAN MİYOKARD SOL VENTRİKÜL OKSİDATİF HASARINA ETKİSİ

Eda AĞAŞÇIOĞLU*, Rıdvan ÇOLAK**, Metin BAŞTUĞ***,
Hakan FIÇICILAR***, Haydar DEMİREL****

ÖZET

Serbest radikaller hipoksidede oksidatif hasara neden olabilir. Bu çalışmanın amacı, akut orta şiddetli hipobarik hipoksinin genç sıçan kalp kası sol ventrikülü oksidatif hasarını incelemektir. Araştırmada genç (4 aylık) erkek Wistar albino sıçanları kullanıldı. Sıçanlar 6000 m yükseltide 6 saat tutulmuş ve kalp kası oksidatif hasar belirteçleri olarak lipid hidroperoksid, protein karbonil, ileri oksidasyon protein ürünü, total tiol ve protein tiol düzeyleri saptandı. Genç sıçan kalp kası sol ventrikül oksidatif hasar belirteçleri hipoksi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek elde edildi. Total tiol ve protein tiol düzeyleri hipoksi grubu kalp kası sol ventrikülünde kontrol grubunununkine göre istatistiksel olarak daha düşük saptandı. Protein tiol ve protein karboniller arasında yüksek negatif ilişki gözlemlendi. Bu araştırmada elde edilen bulgular, akut orta şiddetli hipobarik hipoksinin kalp kasında oksidatif hasara neden olabileceği yönündedir.

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

SUMMARY

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

Free radicals may cause oxidative damage during hypoxia. The present study aims to examine the effects of acute mild-strength hypobaric hypoxia on rats' myocardial left ventricle oxidative damage. In the study,

*Çankaya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara

**Ardahan Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu, Ardahan

***Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara

****Hacettepe Üniversitesi, Spor Bilimleri Fakültesi, Ankara

young (four months' old) Wistar albino rats were used. Following 6 hours exposure to 6000 m altitude, heart muscles' oxidative damage indicators: lipid hydroperoxides, protein carbonyl, advanced oxidation protein products, total thiol and protein thiol levels have been measured. In young rats' heart muscle left ventricles; oxidative damage markers were statistically significantly higher in the hypoxic group than the control group. Total thiol and protein thiol levels of the hypoxic groups' left ventricle were measured to be statistically lower with respect to the control group. High negative correlation was observed between protein thiols and protein carbonyls. The results obtained in this study indicate that acute mild-strength hypobaric hypoxia may cause oxidative damage in heart muscles.

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

GİRİŞ

Hipoksi; ortamdaki oksijen konsantrasyonunun az olması ya da yeteri kadar oksijenin doku/hücreye herhangi bir nedenle ulaşamama durumudur (15). Akciğerlerde O₂ basıncının düşük olması, gaz değişim alanının daralması, çeşitli akciğer hastalıkları, yükseltide bulunma ve benzeri durumlar hipobarik hipoksi nedenlerindedir. Hipoksiye uyum sürecinde metabolizmada birçok değişim yaşanır. Serbest radikal oluşumunun artması bu metabolik değişimlerden biridir (13). Hipokside mitokondri, oksijen radikali oluşum merkezi haline gelmektedir (19). Diğer oksijen radikali oluşum kaynağı ise oksijenin substrat olarak kullanıldığı ekstramitokondriyal yollardır (17).

Serbest radikaller bir taraftan organizmanın hipoksik koşullara uyumunu sağlarken, diğer taraftan DNA, RNA, lipidler ve proteinlerde oksidasyona neden olarak hasara yol açabilmektedir. Hücrede, serbest radikallerle başa çıkabilecek antioksidan enzim sistemleri ve enzim dışı "non-enzimatik" işlevleri olan bazı metabolik yollar; protein tiol (P-SH) ve GSH bulunmasına rağmen, bu hasarlı ürünler hücrede her zaman yıkılamaz ve birikir (3,7).

Proteinler, serbest radikaller ile kovalent değişimliğe uğrar (26). Bu değişimliklerden bazıları serbest radikallerin protein moleküllerine direkt etkileri sonucu, bazıları da oksidasyon yan ürünlerinin proteinlere kovalent bağlanmasıyla meydana gelir. Bu etkileşim sonucunda bir çok amino asit (histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi) kalıntısında ve/veya proteinlerin peptid omurgalarında hasar oluşmaktadır (8). Oksitlenen proteinlerin başlıca moleküler belirteçleri protein karbonil (PCO: metal katalizli protein

oksidasyonu), nitrotirozin, P-SH (tiol gruplarının kaybı), ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), protein hidroperoksidlerin (PrOOH) oluşumu olarak sıralanabilir (5,7,9).

Oksidatif hasara uğramış proteinlerin hücrede birikimi, proteinlerin oksidasyon ve yıkım hızını yansıtır (5). Bu nedenle PCO düzeyinin saptanması protein oksidasyonunu belirlemede duyarlı ve genel olarak kabul gören bir yöntemdir (4,6,16). Literatürde yaşlı deney hayvanları ve insan plazmasında yapılan çalışmalarında PCO düzeyi genel olarak gençlerinkinden daha yüksek bulunmuştur (4,7). PCO düzeyi hipoksi koşullarında da yüksek olarak saptanmıştır (23).

Serbest radikallerin P-SH gruplarını oksidasyonu sonucu oksidatif protein hasarı meydana gelir. Oksitlenen -SH grupları proteinlerin kendi yapısında ve/veya bir başka protein ile çapraz bağ oluşturmaya neden olur (28). Tiol gruplarının oksitlenmesi, protein oksidasyonunun en erken gözlenebilen belirtisidir (6,9). Yaşlı sıçanların iskelet kasında (6), kalp, plazma ve beyin dokusunda (4,6) yapılan çalışmada P-SH ve total tiol (T-SH) düzeylerinin genç gruba kıyasla düşük olduğu belirlenmiştir. Hipokside çalışmaları sonucunda soleus kası P-SH ve T-SH değerleri yükseltide düşüş göstermiştir.

İleri oksidasyon protein ürünlerinin (AOPP) MDA'dan daha duyarlı oksidatif stres belirteci olduğu belirtilmektedir (29). Hipoksi koşullarında ise AOPP ile ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Hipoksik koşullarda insan (22) ve hayvan plazmasında (10) AOPP düzeyi yüksek bulunmuştur. Hipokside kalp dokusu AOPP düzeyini belirten bir araştırmaya ise rastlanmamıştır.

Lipit hidroperoksid (LHP) hasar belirteçleri arasında önemli bir yer tutar (1,18). Yaşlılarda bir LHP belirteci olan TBARS ve MDA düzeyi yüksek bulunmuştur (20). Yaşlı erkek ve dişi sıçanların kalp kası, kan plazması (16) ve iskelet kası (6) LHP düzeyleri yüksek bulunmuştur. Hipoksik koşullarda LHP düzeyleri farklı çalışmalarda çelişmektedir. Hipokside iskelet kası LHP artışı saptanamazken (2); kronik hipobarik hipoksisinde (5500 m) ise kalp kası, akciğer, karaciğer ve böbreklerde yüksek düzeyde MDA saptandığı bildirilmiştir (21).

LHP hücre ve mitokondri zarında oksidatif hasara neden olur. Hücre zarı hasarı protein ve DNA oksidasyonunu artırır (17,20). Protein oksidasyonu ise çok sayıda reaktif türevleri ve stabil ürünleri oluşturur (5,7,9). Hepsi birden mitokondriyal hasarı ilerletir. Oluşan bu oksidatif hasar serisi, hücre ölümü ve doku hasarına kadar giden önemli

fizyopatolojik olaylara neden olabilmektedir (17,27). Bu nedenle, hipoksi ortamında oksijene duyarlı organları incelemek kritik anlam taşır. Kalp dokusu oksijene duyarlı en önemli organlardan olduğu için, araştırmada incelenmek üzere seçilmiştir. Çalışmada akut orta şiddetli (6000 m) hipobarik hipoksinin geç sıçan kalp kası sol ventrikülünde oksidatif hasara yol açıp amadığı sorusu, oksidatif hasar belirteçleri olan AOPP, PCO, LHP, T-SH, P-SH düzeyleri belirlenerek incelendi.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hayvan deneyi

Bu çalışmada, akut orta şiddetli (6000 m) hipobarik hipoksinin geç sıçanların miyokard sol venrikl oksidatif hasarı üzerine etkilerini araştırma amacıyla 12 adet 4 aylık, 250-300 g ağrılığında erkek Wistar albino sıçanı (Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları retim ve Araştırma Merkezi) kullanıldı. Yükselti şiddeti Magalhaes ve ark.ın (19) yaptıkları çalışma tasarımları baz alınarak belirlendi. Hayvan deneyi için etik kurul izni 07.11.2006 tarih, 2006/65 dosya numaralı karar ve ayrıca ek hayvan kullanımı için de 09.04.2007 tarih, 2007/84 dosya numaralı karar ile Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan alındı.

şıanlar rastgele yöntemle kontrol (n=6) ve hipoksi (n=6) grubuna ayrıldılar. Hipoksi grubu doğrudan 6000 m yapay yükselti ortamında 6 saat süreyle tutuldu. Hipobarik hipoksi kabini sıçanlarda daha önce farklı amaç ve deney kurgusuyla kullanılmıştır (11). Deney bitiminde kontrol ve hipoksi grubu ketamin klorür (Ketasol 10%, Richter-Pharma, Wels, Austria) ve Ksilazin (Alfazyn 2%, Alfasan, Woerden, Netherlands) ile uyutularak feda edildi ve kalp kasları ekstrakte edildi.

Doku homojenizasyonu

Kalp kası hızla dissekte edilerek sol ventrikül izole edildi. Elde edilen doku yaklaşık 50-80 mg'lık parçalar halinde farklı tüplerin içerisine konuldu. Doku rnekleri hemen likit nitrojen ile donduruldu ve -80°C'de saklandı. Daha sonra doku örnekleri biyokimyasal analizler için 1:21 oranında potasyum tamponu (KH₂PO₄-K₂HPO₄, 100mM, pH 7.4) ve bıçaklı homojenizatör X250D (CAD, Almanya) kullanılarak homojenize edildi. Ardından 2800g'de 4°C'de ve 10 dk süreyle Z 323K soğutmal santrifüjde (Hermle, Almanya) santrifüje edildi. Santrifüjleme işleminden elde edilen süpernatantlar biyokimyasal analizler için yeni tüplere transfer edildi.

Biyokimyasal analizler

Kas protein konsantrasyonunu 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 (4) 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 (6) 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 (29) tanımladıkları ve Kayalı ve ark.ın (16) düzenleme yaptıkları yöntemle belirlendi. Kullanılan çözeltiler; fosfat tamponu (pH 7.4), potasyum iyodid (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 (6) düzenleme yaptıkları yöntemle göre saptandı. FOX-2 reaktifini 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 sıçanların sol ventrikülünden elde edilen AOPP, LHP, TSH, PCO ve PSH oksidatif hasar değişkenleri değerleri arasındaki farklılıklar SPSS v15.0 istatistik programı ile incelendi. Analizler hem Kruskal-Wallis non-parametrik ANOVA, Mann-Whitney U-testi ile; hem de deney gruplarının normal dağılım göstermesi ve varyansların homojen olması nedeni ile de Student t-testi ile yapıldı. Bulgularda Student t-testi sonuçları kullanıldı. Ayrıca PCO ve PSH arasındaki ilişki Pearson korrelasyonu ile belirlendi. Analizler için istatistiksel anlamlılık sınırı özellikle belirtilmemişse, p<0.000 olarak kabul edildi.

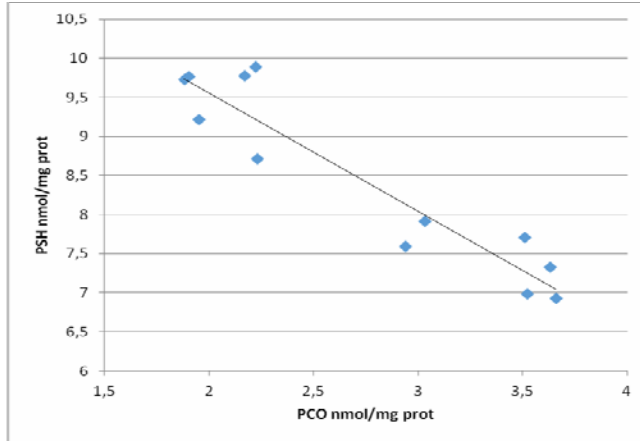
BULGULAR

Çalışmada akut orta şiddetli hipobarik hipoksinin genç 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 grubu	44.1 \pm 1.9	8.41 \pm 0.19	2.06 \pm 0.16	10.23 \pm 0.39	9.52 \pm 0.46
HH grubu	46.1 \pm 0.8	9.49 \pm 0.10	3.38 \pm 0.31	8.26 \pm 0.60	7.41 \pm 0.39

Akut hipobarik hipoksi (6000 m) grubunun sol ventrikül oksidatif hasar değişkenleri olan AOPP ($p < 0.48$), LHP, PCO, PSH ve TSH (her biri $p < 0.0000$) parametrelerinin düzeyleri, kontrol grubu sol ventrikül oksidatif hasar değişkenleri düzeylerinden istatistiksel açıdan daha yüksek olarak saptandı. Grup farkı gözetmeksizin, PCO ve PSH arasındaki korrelasyon analizinde ise, yüksek negatif ($r = -0.941$, $p < 0.000$) ilişki gözlemlendi (Şekil 1).



Şekil 1. Kontrol ve hipobarik hipoksi grupları karma PSH ve PCO korrelasyonu.

TARTIŞMA

Metabolizma için bazı koşullarda (hiperoksi, UV vb.) olduğu gib hipoksi koşullarında da redoks dengesizliği söz konusudur ve normalden daha fazla serbest radikal oluşur (19). Oluşan radikaller başta makro moleküller olmak üzere mitokondriyal hasar, hücre ölümü ve hatta doku hasarına kadar gidebilen önemli olaylara neden olabilmektedir (12).

Aterosklerozis gibi hipoksi koşullarına benzerlik gösterdiği belirtilen hastalıkların ana mekanizmalarının altında yatan temel nedenlerden birinin serbest radikaller olduğu bilinmektedir (25,27).

Çalışmadan elde edilen bulgular; orta şiddetli akut hipobarik hipoksinin genç sıçan myokard sol ventrikülünde oksidatif hasara yol açabileceği yönündedir. Akut orta şiddetli hipobarik hipoksili sıçan kalp kası sol ventrikülünde PCO oluşumu, kontrol grubununkinden anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Bu bulgu literatür ile koşutluk göstermektedir. Hipobarik hipoksi koşullarında yapılan bir araştırmada, dört hafta süre ile günde bir saat yaptırılan egzersizde sıçanların quadriseps kası kırmızı bölgesinde PCO düzeylerinde artış saptanmıştır (23). Diğer bir çalışmada; radikal hasarının, 4000-5000 m yükseltide yapılan kısa süreli düşük yoğunluktaki egzersizden daha çok hipoksiden kaynaklandığı belirtilmiştir (24). Yine akut şekilde 8500 m yükseltide bırakılan 10 haftalık erkek farelerin iskelet kası mitokondriyal PCO düzeylerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiği saptanmıştır (19).

Araştırmada AOPP, hipoksi grubu kalp kası sol ventrikülünde kontrol grubu hayvanlarınkine göre daha yüksek düzeyde saptandı. Her ne kadar literatürde hipokside, sıçan miyokard sol ventrikülünde bir oksidatif protein hasar parametresi olan AOPP ile ilgili çalışmaya rastlanmasa da, hipokside farklı dokularda AOPP parametresi ile ilgili sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Buradaki bulgu, bir çalışma ile benzerlik göstermektedir: insan plazmasında AOPP düzeyi belirlenmiş ve normoksik koşullara göre yüksek bulunmuştur (22). Buna karşın Devi ve ark. (10) ise 5700 m ve 6300 m yükseltelerde yaptıkları çalışmada, hipoksi grubunun plazma AOPP düzeyleriyle kontrol grubunda elde edilenler arasında fark saptamamışlardır. Devi ve çalışma grubunun bulguları ile burada elde edilen bulguların benzer yönde sonuç vermemesi, çalışma tasarımları ve kullanılan doku farklılıkları ile ilgili olabilir.

Hipoksik ortamda protein tiyollerinin oksidasyona uğradığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (10,19). Bu çalışmalardaki soleus kası T-SH değerlerinin hipoksik ortamda azalması, kalp dokusunda burada elde edilen bulgularla benzeşmektedir. Kontrol grubu sol ventrikülünde P-SH ve T-SH düzeyleri hipoksi grubundakilere göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu. Farklı çalışmalarda P-SH ve/veya T-SH değerleri ile PCO değerleri arasında yüksek negatif korrelasyon elde edilmiştir (7). Buradaki çalışmada da gruplarda P-SH ve PCO arasında yüksek negatif korrelasyon saptandı. Bulgular hipobarik hipoksi grubunda P-SH ve

T-SH'nin antioksidan olarak görev yaptığı ve proteinleri oksitlenmeden koruyarak PCO oluşumunu geciktirebileceği ya da engelleyebileceği yönündedir.

Son derece reaktif olan peroksinitrit, tirozin amino asidiyle tepkimeye girerek nitrotirozini oluşturmaktadır. Nitrotirozin önemli bir oksidatif protein hasarı belirteçidir. Her ne kadar hipoksik koşullarda NO'nun azaldığını gösteren çalışmalar varsa da, NO hipoksik koşullara uyum için ilk sentezlenen moleküllerdendir ve derişimi belli bir düzeyin üzerine çıktığında ciddi radikal hasarına neden olur (14). Ayrıca akut hipobarik hipokside NO'nun toksik etkilerini gösterme olasılığı kronik hipoksiye göre daha güçlüdür. Bu nedenle, çalışmada nitrotirozin düzeylerinin belirlenmesi özellikle protein hasarı açısından bulguları daha kuvvetli kılabilirdi. Yine tiyol grupları redoks düzenlemesinde "regülasyonda" etkin rol aldığı bilinen GSH ve GSSH'nin saptanması ve redoks indeksinin hesaplanması, protein hasarına ilişkin daha açıklayıcı yorum yapılmasını sağlayabilirdi.

Sonuç olarak bu çalışma; akut orta şiddetli hipobarik hipokside artan kalp kası sol ventrikül protein karbonil, AOPP ve LHP düzeyleri; yükseltide azalan P-SH ve T-SH düzeyleri düzeyleri aracılığında miyokard sol ventrikül oksidatif protein ve lipid hasarındaki artışın göstergeleri olabileceklerini ortaya koymaktadır.

Teşekkür: Araştırmamızın biyokimyasal analizlerinde, gerek deneyimiyle, gerekse bilgisiyle bizden yardımlarını esirgemeyen Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Ufuk Çakatay'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Arab K, Steghens JP: Plasma lipid hydroperoxides measurement by an automated xylene orange method. *Anal Biochem* **325**: 158-63, 2004.
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* **34**: 210-2, 2000.
3. Clanton TL: Hypoxia-induced reactive oxygen species formation in skeletal muscle (Review). *J Appl Physiol (1985)* **102**: 2379-88, 2007.
4. 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* **40**: 231-40, 2005.
5. Çakatay U, Telci A: Oksidatif protein hasarı ve saptanmasında kullanılan marker'lar. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi* **63**: 314-7, 2000.

6. Çakatay U, Telci A, Kayalı R, Tekeli F, Akçay T, Sivas A: Relation of aging with oxidative protein damage parameters in the rat skeletal muscle. *Clin Biochem* **36**: 51-5, 2003.
7. Çakatay U, Telci A, Yılmaz İA, Akçay T, Sivas A: Yaşlanmanın plazma oksidatif protein hasarına etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* **31**: 220-3, 2000.
8. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A: Protein carbonylation in human diseases (Review). *Trends Mol Med* **9**: 169-76, 2003.
9. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R: Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* **329**: 23-38, 2003.
10. 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* **25**: 221-31, 2007.
11. Du J, Gebicki JM: Proteins are major initial targets of hydroxyl free radicals. *Int J Biochem Cell Biol* **36**: 2334-43, 2004.
12. Eaton P: Protein thiol oxidation in health and disease: techniques for measuring disulfides and related modifications in complex protein mixtures (Review). *Free Radic Biol Med* **40**: 1889-99, 2006.
13. Földes-Papp Z, Domej W, Demel U, Tilz GP: Oxidative stress caused by acute and chronic exposition to altitude. *Wien Med Wochenschr* **155(7-8)**: 136-42, 2005.
14. Halliwell B, Zhao K, Whiteman M: Nitric oxide and peroxynitrite. The ugly, the uglier and the not so good: a personal view of recent controversies (Review). *Free Radic Res* **31**: 651-69, 1999.
15. Hochachka PW: Mechanism and evolution of hypoxia-tolerance in humans (Review). *J Exp Biol* **2001**: 1243-54, 1998.
16. 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* **8**: 653-61, 2007.
17. 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* **9**: 1717-30, 2007.
18. 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* **271**: 4805-12, 1996.
19. Magãlhaes J, Ascensão A, Soares JMC, et al: Acute and severe hypoxia increases oxidative stress and impairs mitochondrial function in mouse skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)* **99**: 1247-53, 2005.
20. 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* **34**: 439-58, 2002.
21. Nakanishi K, Tajima F, Nakamura A, et al: Effect of hypobaric hypoxia on antioxidant enzymes in rats. *J Physiol* **489**: 869-876, 1995.

22. Pialoux V, Mounier R, Ponsot E, et al: Effects of exercise and training in hypoxia on antioxidant/pro-oxidant balance. *Eur J Clin Nutr* **60**: 1345-54, 2006.
23. Radak Z, Asona K, Lee KC, et al: High altitude increases reactive carbonyl derivatives but not lipid peroxidation in skeletal muscle of rats. *Free Radic Biol Med* **22**: 1109-14, 1997.
24. Rodríguez FA, Casas H, Casas M, et al: Intermittent hypobaric hypoxia stimulates erythropoiesis and improves aerobic capacity. *Med Sci Sports Exerc* **31**: 264-8, 1999.
25. Schrauwen P, Hesselink MK: Oxidative capacity, lipotoxicity, and mitochondrial damage in type 2 diabetes (Review). *Diabetes* **53**: 1412-7, 2004.
26. Shacter E: Protein oxidative damage. *Methods Enzymol* **319**: 428-36, 2000.
27. Stadtman ER: Role of oxidant species in aging (Review). *Curr Med Chem* **11**: 1105-12, 2004.
28. Stadtman ER, Levine RL: Protein oxidation (Review). *Ann N Y Acad Sci* **899**: 191-208, 2000.
29. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeill re-Blandin C, et al: Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* **49**: 1304-13, 1996.

Yazışma için e-mail: edaagascioglu@gmail.com