

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

**FARKLI ODA SICAKLIKLARINDA UZUN SÜRE EGZERSİZ
YAPTIRILAN RATLARDA MELATONİN VE ISI STRESİNİN SERBEST
RADİKAL VE ANTİOKSİDAN DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Hazırlayan
Erdinç ŞIKTAR

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Mehmet GÜNEY

Yardımcı Danışman
Doç. Dr. İlhami GÜLÇİN

ANKARA
Haziran 2008

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	I
KABUL VE ONAY	IV
TABLoların LİSTESİ.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
TEŞEKKÜR.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Melatonin	5
2.1.1. Melatonin Metabolizması	6
2.1.2. Melatonin ve Oksidatif Stres	7
2.1.3. Melatoninin Serbest Radikal Giderici Özelliği	9
2.1.4. Melatoninin Etkileri.....	10
2.1.5. Melatoninin Non-Endokrinolojik Etkileri.....	10
2.1.6. Melatoninin Antioksidan Etkisi	11
2.1.7. Melatoninin Biyolojik Etkileri.....	13
2.2. Melatonin ve Egzersiz.....	13
2.3. Organizma ve Çevre İlişkisi	15
2.3.1. Vücut Isısı	15
2.3.2. Isı Dengesi.....	16
2.3.2.1. Isı Üretimi (Termogenezis).....	16
2.3.2.2. Isı Kaybı (Termolizis)	17
2.3.3. Vücut Isısının Düzenlenmesi (Isı Ayarı).....	18
2.3.4. Termoregülasyon.....	19
2.4. Sıcak Ortam ve Egzersiz	20
2.4.1 Yüksek Isıda Egzersiz ve Organizma Üzerindeki Fizyolojik Etkileri	21
2.4.2. Sıcağa Uyum Sağlama (Aklimatizasyon).....	22
2.5. Soğuk Ortam ve Egzersiz	23
2.5.1. Soğuk Ortamda Egzersiz ve Organizma Üzerindeki Fizyolojik Etkileri	24

2.5.2. Soğuğa Aklimatizasyon (Uyum).....	25
2.6. Oksidatif Stres	26
2.6.1. Oksidatif Stresin Hücresel Temeli.....	27
2.6.2. Sportif Aktiviteler ve Oksidatif Stres.....	28
2.7. Serbest Radikaller	30
2.7.1. Serbest Radikallerin Oluşumuna Etki Eden Faktörler	30
2.7.2. Serbest Radikallerin Zararları	31
2.7.3. Serbest Radikallerin Sınıflandırılması	32
2.7.4. Serbest Radikallerin Oluşumu	32
2.7.4.1. Serbest Radikallerin Sportif Çalışmalarda Oluşum Mekanizmaları	33
2.7.5. Malondialdehit (MDA)	35
2.8. Antioksidan Savunma Sistemleri	36
2.8.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	37
2.8.1.1. Enzim Antioksidan Savunma Sistemleri	39
2.8.1.2. Non-Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri	44
2.8.2. Düzenli Egzersizde Antioksidan Savunma.....	46
2.8.3.Egzersiz ve Antioksidan Savunma Sistemi	47
3. MATERYAL METOT	49
3.1 Çalışma Grupları.....	49
3.2. Melatonin Preparatının Hazırlanması	50
3.3. Deneklerden Kan Örneklerinin Alınması	50
3.4. Hemolizatın Hazırlanması.....	51
3.5. Siyanmethemoglobin Yöntemiyle Hemoglobinin Miktarının Belirlenmesi.....	51
3.6. Biyokimyasal Analizler	52
3.6.1. Superoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini.....	52
3.6.2. Malondialdehit (MDA) Aktivite Tayini	53
3.6.3. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini	54
3.6.4. Peroksidaz (POD) Aktivite Tayini.....	54
3.6.5. Glutatyon Redüktaz Aktivite Tayini	54

3.7. Egzersiz Protokolü.....	55
3.8. Sıcaklıkların Belirlenmesi.....	55
3.9. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	56
4. BULGULAR.....	57
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	67
6. ÖZET	77
7. SUMMARY	79
8. KAYNAKLAR	81
9. ÖZGEÇMİŞ.....	101
10. EK.....	102

KABUL VE ONAY

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Beden Eğitimi ve Spor Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 29.6/2008

İmza

Ünvanı Adı ve Soyadı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Mehmet GÖRMEZ

İmza

Ünvanı Adı ve Soyadı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

Prof. Dr. İsmail GÖRMEZ

İmza

Ünvanı Adı ve Soyadı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

Prof. Dr. İsmail GÖRMEZ

İmza

Ünvanı Adı ve Soyadı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

Prof. Dr. İsmail GÖRMEZ

İmza

Ünvanı Adı ve Soyadı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

Prof. Dr. İsmail GÖRMEZ

TABLoların LİSTESİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Serbest radikaller.....	31
Tablo 2: Hücre içi antioksidanlar.....	37
Tablo 3. Hücre dışı antioksidanlar.....	37
Tablo 4. Hücre membran antioksidanları.....	38
Tablo 5. 10°C egzersiz ve 10°C melatonin uygulanan egzersiz gruplarının MDA,SOD,GR,POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.....	56
Tablo 6. 23°C egzersiz ve 23°C melatonin uygulanan egzersiz gruplarının MDA,SOD,GR,POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.....	56
Tablo 7. 37°C egzersiz ve 37°C melatonin uygulanan egzersiz gruplarının MDA,SOD,GR,POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.....	57
Tablo 8. 10, 23 ve 37°C egzersiz gruplarının MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	57
Tablo 9. 10, 23 ve 37 °C melatonin uygulanan egzersiz gruplarının MDA, düzeylerinin karşılaştırılması.....	58
Tablo 10. Bütün grupların Egzersiz (E), Melatonin Egzersiz (ME), Sedanter (S), Melatonin Sedanter (MS) MDA düzeylerinin karşılaştırılması.....	58

Tablo 11. 10, 23 ve 37°C egzersiz gruplarının SOD Düzeylerinin Karşılaştırılması.....59

Tablo 12. 10, 23 ve 37°C melatonin uygulanan egzersiz gruplarının SOD, düzeylerinin karşılaştırılması.....59

Tablo 13. Bütün grupların (Egzersiz(E), Melatonin Egzersiz(ME), Sedanter(S), Melatonin Sedanter(MS) SOD düzeylerinin karşılaştırılması.....60

Tablo 14. 10, 23 ve 37°C egzersiz gruplarının GR Düzeylerinin Karşılaştırılması.....60

Tablo 15. 10, 23 ve 37°C melatonin uygulanan egzersiz gruplarının GR, düzeylerinin karşılaştırılması.....60

.

Tablo 16. Bütün grupların (Egzersiz (E), Melatonin Egzersiz (ME), Sedanter (S), Melatonin Sedanter (MS) GR düzeylerinin karşılaştırılması.....61

Tablo 17. 10, 23 ve 37°C egzersiz gruplarının POD Düzeylerinin Karşılaştırılması.....61

Tablo 18. 10, 23 ve 37°C melatonin uygulanan egzersiz gruplarının POD, düzeylerinin karşılaştırılması.....62

Tablo 19. Bütün grupların (Egzersiz (E), Melatonin Egzersiz (ME), Sedanter (S), Melatonin Sedanter (MS) POD düzeylerinin karşılaştırılması.....62

.

Tablo 20. 10, 23 ve 37°C egzersiz gruplarının CAT Düzeylerinin Karşılaştırılması.....63

Tablo 21. 10, 23 ve 37°C melatonin uygulanan egzersiz gruplarının CAT, düzeylerinin karşılaştırılması.....63

Tablo 22. . Bütün grupların (Egzersiz (E), Melatonin Egzersiz (ME), Sedanter (S), Melatonin Sedanter (MS)) CAT düzeylerinin karşılaştırılması.....63

Tablo 23. 23°C melatonin uygulanan egzersiz ve 23°C melatonin uygulanan kontrol gruplarının MDA, SOD, GR, POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.....64

Tablo 24. 23°C uygulama yapılmayan sedanter grup ve 23°C melatonin uygulanan sedanter gruplarının MDA, SOD, GR, POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.....64

Tablo 25. 23°C uygulama yapılmayan sedanter grup ve 23 °C egzersiz gruplarının MDA, SOD, GR, POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.....65

SİMGELER VE KISALTMALAR

DNA	Dezoksiribo nükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
CAT	Katalaz
MDA	Malondialdehit
POD	Peroksidaz
HPLC	Yüksek performans Sıvı Kromatografisi
GR	Glutasyon redüktaz
M	Melatonin
S	Sedanter
E	Egzersiz
ME	Melatonin Egzersiz
mm	Milimetre
mg	Miligram
NO	Nitrik oksit
Ca	Kalsiyum
Kg	Kilogram
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HO•	Hidroksil Radikali
O₂⁻	Süperoksit Radikali
HOCL	Hipoklöröz Asit
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
°C	Santigrat
Kcal	Kilokalori
L	Litre
ATP	Adenozintrifosfat
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleodit fosfat
GSH	Glutasyon (indirgenmiş form)

GSSG	Okside glutatyon (yükseltgenmiş form)
RONs	Reaktif oksijen ve nitrojen Türden
TBARS	Tiyobarbitürük asit reaktif maddeler
Std Sapma	Standart sapma
cm	Santimetre
G6PD	Glukoz 6 fosfat Dehidrogenaz
Grup 1	10°C de Egzersiz yaptırılan grup
Grup 2	23°C de Egzersiz yaptırılan grup
Grup 3	37°C de Egzersiz yaptırılan grup
Grup 4	10°C de Melatonin verilen Egzersiz yaptırılan grup
Grup 5	23°C de Melatonin verilen Egzersiz yaptırılan grup
Grup 6	37°C de Melatonin verilen Egzersiz yaptırılan grup
Grup 7	23°C de Melatonin verilen Egzersiz yaptırılmayan grup
Grup 8	23°C de Egzersiz yaptırılmayan grup

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin ve tezimin tamamlanma sürecinde bilgi birikimini ve akademik tecrübesini benimle paylaşan danışmanım; Gazi Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. **Mehmet GÜNAY** hocama; doktora tezimin başlama ve tamamlanma sürecinde içerikle ilgili konularda yapılan değerlendirmelerde ve biyokimyasal analizlerde kendisine rahatlıkla ulaşabildiğim, bilgi birikimi ve deneyimlerinden faydalandığım, yardımcı danışmanım Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. İlhami GÜLÇİN hocama, tezimin tamamlanma sürecinde yardımcı olan ve tez izleme komitemde bulunan Sayın Prof. Dr. Kadir GÖKDEMİR'e, doktora dersleri ve doktora eğitimim süresince önemli katkılarından dolayı Gazi Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu Öğretim üyelerine içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin analizlerinde gerekli yardımlarını esirgemeyen Atatürk Üniversitesi, Biyokimya Anabilimdalı başkanı sayın Prof. Dr. Ebubekir BAKAN ve Sayın Prof. Dr. Nuri BAKAN'a ve Araştırma Görevlisi Hakan ALP'e sonsuz teşekkür ederim. Tezimle ilgili her konuda bilgi aldığım ve tezim süresince değerli katkılarını esirgemeyen, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilimdalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Mustafa GÜL hocama ve tüm öğretim üyelerine, ayrıca Fen Edebiyat Fakültesi Kimya bölümü öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Şükrü BEYDEMİR'e ve Kimya Bölümü araştırma görevlilerine teşekkür etmeyi borç bilirim.

Bu çalışmanın yürütüldüğü ve çalışma süresince kullanılan ratların bakımının sağlandığı ATADEM Deneysel Hayvan Araştırma Merkezi müdürü sayın Derviş ÖZDEMİR ve tüm personeline, ayrıca ilgili ölçümlerin yapılma periyodunda gerekli yardım ve desteklerini esirgemeyen veteriner teknisyeni sayın Zeki EROL'a baldızım Sema

AKKUŞ'a ve Atatürk Üniversitesi Farmakoloji öğretim üyelerinden sayın Yrd. Doç. Dr. Zekai HALICI' ya çok teşekkür ederim.

İlköğretimden başlayıp doktora eğitimimi sonuçlandırıncaya kadar geçen uzun eğitim öğretim döneminde emeği geçen bütün hocalarıma ve hayatımın her safhasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anneme, babama, kayınvalideme ve kayınpederime, eşime, kardeşlerime ve eşlerine ve biricik kızım **Ceydanur'a** sevgi ve saygılarımı sunarım.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Biyolojik sistemlerde prooksidan/antioksidan dengenin bozulmasıyla oluşan oksidatif stres, birçok patolojik durumla ilişkilendirilmektedir. Organizma, prooksidan etki gösteren serbest radikallerin hasarına karşı, antioksidan adı verilen ajanlarla kendini korur¹. Pineal bez nöroendokrin bir organdır². Pineal bez beyin orta hattında, üçüncü ventrikülün arkasında yer alır. Bu merkezi konumu nedeniyle beyin sagittal düzleminin belirleyicisi olarak kullanılır³ ve kendisinin en iyi bilinen ana hormonu melatonin yoluyla, birçok organ ve sistem üzerine güçlü bir düzenleyici etkiye sahiptir². Pineal bezin başlıca salgısı olan melatonin endokrin ve sirkadiyen ritm üzerine bilinen etkilerinden başka, *in vivo* ve *in vitro* antioksidan etkiye de sahip olduğu kanıtlanmıştır. Antioksidanlar içerisinde, melatonin hücre metabolizması sırasında cereyan eden biyokimyasal redoks reaksiyonları ile ortaya çıkan çiftleşmemiş elektrona sahip moleküller olan serbest radikal gidericidir^{4,5}. Bu yüzden, melatonin'e olan ilgi giderek artmakta ve antioksidan özelliği gün geçtikçe önem kazanmaktadır¹.

Serbest radikallerin anormal üretimi protein, lipid ve nükleik asitleri etkileyerek bazı makromoleküllerin zararlı olmalarına yol açar ve birçok hastalığın temelinde bu yatar. Normal şartlar altında serbest radikallerin oluşturacağı zararlı etkiler endojen koruma sistemi ile kontrol edilir⁶. Melatoninin güçlü bir serbest radikal süpürücü ajan olduğu gösterilmiştir^{7,8,9}. Oldukça toksik olan hidroksil radikalleri başta olmak üzere, diğer serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasardan makromolekülleri özellikle de DNA'yı korur¹⁰.

Melatonin'in antioksidan etkileri genel olarak incelendiğinde, adhezyon moleküllerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin sentezini

azaltmasını da içeren oldukça geniş spektruma sahip bir antioksidan olduğu görülebilir ¹¹.

Melatoninin kan ve dokulardan kaybı, psikosomatik bozuklar, tümoral hastalıklar, immün zayıflamalar ve enfeksiyonlar gibi yaşa bağlı bazı değişikliklere neden olmaktadır².

Fiziksel egzersizler sırasında oluşabilecek oksidatif hasarın boyutu sadece serbest radikal üretimi ile değil aynı zamanda antioksidanların savunma kapasitesi tarafından da belirlenmektedir. Egzersiz sırasında üretilen reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı ilk savunma hattını süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve malondialdehit (MDA) sağlamaktadır. Bu nedenle egzersizin direkt olarak bu enzimleri etkileyebileceği düşünülmektedir ¹².

Pek çok çalışmada, düzenli fiziksel egzersizin kardiyovasküler mortalite ve morbidite oranlarını düşürdüğünü belirtilmektedir¹³. Ayrıca düzenli fiziksel egzersiz, plazmadaki lipid profilini de geliştirir¹⁴, kan basıncını düzenler, kemik yoğunluğunu artırır¹⁵. Aynı enerji tüketimini artırarak ve vücut ağırlığını azaltarak kanser için önemli bir risk faktörü olan obeziteyi önler¹⁶, kaygı ve depresyonu azaltır¹⁷.

Birçok faydalı etkiye sahip olduğu bilinen düzenli kas egzersizleri, radikallerin ve diğer reaktif oksijen türlerinin üretiminde artmaya yol açar. Kas yorgunluğu veya hasarı ile sonuçlanabilen egzersize bağlı kas homeostaz bozukluklarının altındaki sebebin reaktif oksijen türlerinin olduğuna işaret eden deliller bulunmaktadır¹⁸.

Fiziksel egzersizler organizmada yeni düzenlemeleri gerektirmektedir. Ancak dinlenik duruma göre yoğun düzenleme içindeki organizma ayrıca farklı bir kaynaktan strese maruz kalırsa fizyolojik

uyumlar daha da önem kazanır. Böylece, organizmanın yükseltide, su altında, sıcak ve soğuk ortamdaki uyumları ele alınmakta, fizyolojik stresler açıklanmaya çalışılmakta ve önlemlerden bahsedilmektedir^{13,14,15,16,19}.

Melatonin üretiminde sirkadyan ritim vücut sıcaklığı ile ters orantılıdır^{20,21}. İki ritm arasındaki ilişki bir sebebe dayandırılmasa da kabul edilmektedir²⁰.

Dış kaynaklı melatonin uygulanması fiziksel performans ve kısa süreli zihinsel performans da azalma ile ilişkili olan hipotermik ve hipnotik cevaplara yol açar. Melatoninin sıcak ortamda dayanıklılık performansını geliştirdiğini ortaya koyan hipotez düşük yoğunlukta egzersiz yapan acemi askerlerde yapılan çalışma ile desteklenmemiştir²².

Çok sayıda çalışma sıcak ve soğuk çevre şartlarında spora katılım konusunu ele almıştır. Bu alanlardaki bilgi fiziksel spor terapistleri için rehberlik ve sporcuların bakımı ve antrenmanları için tavsiyeleri içermiştir. Bu konular; termo düzenleme, ısı, soğuk, sıvı alımı ve kıyafet durumunu içermektedir¹⁸.

Vücut kor ısısında sirkadyan ritmin düzenlemedeki rolüne bakılmazsa melatonin hem hayvanlarda hem de insanlarda termoregülasyon sistem üzerine etkiye sahiptir^{23,24}.

Noradrenalin, fiziksel egzersiz sırasında artan melatonin sentezi ve katekolamin salgısının kontrolü için gerekli olduğu için egzersize cevapta birçok araştırmada açıklanmıştır. Carr 60 dakikalık egzersiz sonrasında plazma melatonin seviyesinin, dinlenme seviyesinden daha yüksek olduğunu ve egzersizden sonra 30 dakika içinde başlangıç seviyesine döndüğünü tesbit etmiştir^{22,25}.

Rekreasyonel ve elit olarak çok sayıda elit sporcu her yıl sportif olaylara katılmaktadır. Ancak ister sıcak ister soğuk olsun zor çevre şartlarında bu olaylara katıldıklarından dolayı çevresel rahatsızlık riski artmaktadır. Stres arttıkça performans, yaralanma ve hastalık oluşum potansiyeli gitgide artacaktır. Isının neden olduğu en yaygın hastalıklar sıcak çarpması ve sıcak yorgunluğu olup, soğğun neden olduğu en yaygın rahatsızlıklar hastalıklar hipotermi ve donmalardır¹⁷.

Özellikle egzersizde ısı üretiminin artışı ve enerjinin %15-40 'nın mekanik enerjiye dönüşürken geri kalanının ısıya dönüşmesi, artan ısının uzaklaştırılmasını ve ısı dengesinin sağlanılmasını zorunlu kılmaktadır. Çünkü normal hava şartlarında enerji rezervlerinin %80'ini kullanabilen sporcu, sıcak ortamda egzersiz yaptığında bu kullanım düzeyine gelemeyen bitkinleşir ya da bu kullanım düzeyine daha az iş düzeyinde ulaşır^{15,16}.

Çevre şartlarının sporcunun performansı üzerindeki etkisini fark etmeli ve onun bakımı için uygun tedavi yöntemi belirlemelidir. Çok sayıda çalışma sıcak ve soğuk çevre şartlarında spora katılım konusunu ele almıştır.

Bu araştırmanın amacı, farklı oda sıcaklıklarında uzun süre egzersiz yaptırılan ratlarda melatonin ve çevresel (soğuk-sıcak) stresinin serbest radikal ve antioksidan düzeylerine etkisini belirlemektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Melatonin

Melatonin, karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur. Pineal bez, yaklaşık üç yüz yıl önce Fransız filozof Descartes tarafından “ruhun tahtı” olarak tanımlanmış, ancak melatonin varlığı 1958 yılında dermatolog Lerner tarafından belirlenmiştir. Sığır pineal bez ekstrelerinin, kurbağa deri rengini açtığını gözleyen Lerner, melanin granüllerinin agregasyona uğradığını belirlemiş ve ekstrelerden izole ettiği bu maddeye melatonin adını vermiştir^{1,26}.

Pineal bezi (epiphysis cerebri, corpus pineale, glandulapinealis), önemli bir nöroendokrin organdır²⁷. İnsanda, colliculus superior'lar, pulvinar thalami ve spleniumcorporis callosi arasında yerleşmiş olan corpus pineale²⁸, küçük, konik şekilli bir organ olup, 5-8 mm uzunluğunda, 3-5 mm genişliğinde ve 120-150 mg ağırlığındadır^{27,29}. Pineal bez bir sap aracılığı ile 3. ventrikül tavanına bağlanmıştır³⁰. 3. ventrikül, pineal sap içerisine doğru girerek recessus pinealis'i oluşturur. Sapın recessuspinealis'in üzerinde kalan bölümü commissura habenulorum ile birleşir. Alt duvarı ise commissura posterior'a tutunur²⁸. Pineal (epifiz) bez, böbrekten sonra vücudun en çok kan akımına sahip ikinci organıdır^{31,32}. Pineal bez, görme sisteminin bir uç organı olarak ritmik ışık mesajının organizmadaki her organa iletilmesi işlevini görür. Işık uyarısı pineal beze karmaşık, çok nöronlu bir sistemle ulaşır. Retinadan başlayan nöral yolun birinci kısmı retinohipotalamik traktusdur (RHT). Bu traktus, suprakiazmatik çekirdekte (SKÇ) sonlanır. Retinal ışık reseptörleri ışığı elektriksel uyarıya çevirerek monosinaptik olarak bu çekirdeğe iletir. SKÇ'ye ayrıca optik traktus aracılığı ile lateral genikulat cisimlerden de

uyarı gelir. SKÇ'den çıkan lifler aynı zamanda hem pineale, hem de omuriliğin intermediolateral kolonuna gider ve buradan superior servikal gangliona (SSG) ulaşır. Sempatik bir ganglion olan SSG den çıkan postganglionik lifler ise nervi conarii aracılığı ile yine pineal beze ulaşarak, kapillerler boyunca bez içinde dağılırlar^{33,34}.

2.1.1. Melatonin Metabolizması

Melatonin sentezi sirkadiyan ritim gösterir. Aydınlıkta hiperpolarize olan retinal hücreler, karanlıkla beraber depolarize olarak, bezde melatonin sentezini başlatırlar. Gün batımıyla fotoreseptör hücrelerden salgılanan norepinefrin, hem triptofanın dolaşımdan beze girişini artırmakta ve hem de b1 reseptörleri aracılığıyla membrandaki adenil siklazı aktive ederek, intraselüler cAMP seviyelerini yükseltmektedir³². Dolaşımdaki triptofanın aktif transportla pinealosit içine alınmasıyla başlayan melatonin sentezi, dört ardışık enzimatik reaksiyon sonucunda tamamlanır. İlk aşamada hidroksilasyon reaksiyonu ile oluşan 5-OH triptofan, dekarboksilasyonla serotonine dönüşmekte ve daha sonra sırasıyla *N*-asetilasyon ve *O*-metilasyon reaksiyonlarıyla, serotoninden melatonin (5-metoksi-*N*-asetiltriptamin) oluşmaktadır³⁵. Melatonin sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan *N*-asetiltransferaz (NAT) aktivitesi, cAMP etkisiyle yükselmekte ve böylece sentezlenen ve salgılanan melatonin miktarı artmaktadır^{26,31}. Doğumdan itibaren 3 aya kadar çok az olan melatonin salınımı, giderek artmakta ve sirkadiyan döğasını kazanmaktadır. Normal genç erişkinlerde gündüze göre, gece 3-10 kat daha yüksek olan serum melatonin konsantrasyonu, gece 02⁰⁰ ile 04⁰⁰ saatleri arasında doruk düzeye ulaşmakta ve daha sonra giderek azalmaktadır³¹. Yaşlanma ile birlikte melatonin sentezinin azaldığı gösterilmiştir³⁶. Sentezini takiben, pineal bezden doğrudan dolaşıma verilen melatonin, lipofilik özelliğine rağmen, membran reseptörleri aracılığıyla hedef hücrelerine ulaşır. Otoradyografik çalışmalarla, beynin

çeşitli bölgelerinde, bağırsak, ovaryumlar, kan damarları²⁶ ve karaciğerde³⁷, melatonin reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir. Melatonin reseptörlerinin sensitivitesi ve ekspresyonu, günlük ışık ritmi ile ilişkilidir. Lipofilik özelliği nedeniyle, hücrenin tüm fraksiyonlarına kolaylıkla girebilen melatonin için³¹, sitozolik ve nükleer bağlanma yerleri de tanımlanmıştır²⁶. Melatonin'in inaktivasyonu, başlıca karaciğerde gerçekleşir. İndol halkasının 6 nolu karbonundan hidroksile olan melatonin, daha sonra sülfat veya glukuronik asitle konjuge edilerek idrarla atılır. Melatonin'in idrardaki başlıca metaboliti olan 6sülfatoksi melatonin düzeyleri, melatonin'in plazma düzeyleri kadar, sentez ve yıkımı için de iyi bir göstergedir³⁸.

2.1.2. Melatonin ve Oksidatif Stres

Hem *in vitro*, hem de *in vivo* çalışmalarda, melatoninin güçlü bir serbest radikal giderici ajan olduğu gösterilmiştir. Oldukça toksik olan hidroksil radikalleri başta olmak üzere, diğer serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasardan makromolekülleri özellikle de DNA'yı koruyabilir. DNA hasarı oluşturan radikaller hücrede nükleer bir enzim olan poli ADP-riboz sentazı (PARS) aktive ederler. Bu enzim, DNA tek zincirinin kırılması ile aktive olur ve hücrelerde şiddetli enerji tüketimine yol açarak sonuçta nekrotik tipte hücre ölümüne neden olur. Melatoninin PARS aktivitesini inhibe ederek; flock, inflamasyon ve I/R da organ hasarını önleyebileceği bildirilmektedir³⁹. Serbest radikal giderici etkisi bakımından, bilinen tüm antioksidanlardan (mannitol, glutatyon ve vitamin E gibi) daha güçlüdür. Dahası; melatonin, antioksidanların büyük çoğunluğunun aksine; hem suda, hem de yağda çözünebildiğinden; hücrenin tüm komponentlerine etki eder. Ayrıca, indirekt olarak, özel melatonin reseptörleri aracılığı ile antioksidan enzim seviyelerini artırarak da doku koruyucu etki gösterir. Oksijen radikallerinin miyokarddaki toksik etkileri direkt ve indirekt yöntemlerle saptanmış ve POD, SOD ve CAT gibi

endojen antioksidanların primer savunma mekanizmaları olduğu da gösterilmiştir⁴⁰.

Melatoninin, birçok biyolojik etkisinin yanı sıra, güçlü bir radikal giderici (hidroksil radikali, süperoksit anyon radikali, peroksil radikali, singlet oksijen ve peroksinitrit anyonuna güçlü etkili) ve antioksidan [SOD, POD, GRd ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) stimülasyonu ve NOS inhibisyonu) özelliğinin olması, I/R hasarında etkili bir koruyucu olabileceğini düşündürmektedir. Melatonin direk radikal gidererek, indirek spesifik melatonin reseptörleri aracılığı ile antioksidan enzimleri aktive ederek ya da pro-oksidatif enzimleri inhibe ederek doku koruyucu özellik gösterir³⁹. Süperoksit radikale en önemli etkisi süperoksitin dismutasyonunda en büyük rol oynayan SOD'un mRNA'sını artırmasıdır. H₂O₂ hücrelerde CAT ve POD ile toksik olmayan ürünlere dönüştürülür. POD ve GRd aktivitesi melatonin ile uyarılmaktadır. Melatonin, H₂O₂'in hücre içi konsantrasyonunu azaltır. GR aktivitesinde kofaktör olan NADPH, G6PD ile oluşturulur. Melatonin, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesini de uyarır. Melatonin, indol nükleusun yan zincirindeki metoksi ve asetil grupları OH• radikalının giderilmesinde rol oynar. Melatonin bir elektron vererek hidroksil radikalini nötralize eder ve toksik olmayan indolil katyon radikale (melatonil) dönüşür. Bu nitrojen merkezli melatonil radikalının de süperoksit anyon radikali ile etkileşip 5-asetil – N– formil-5, 5 – asetil – N - formil – 5-metoksikinuramin (5-MAFK) oluştururken bu radikali de süpürdüğü bildirilmektedir. Melatonin singlet oksijeni direkt olarak nötralize edebilmektedir⁹.

Nitrik oksit tek başına değil O₂ varlığında peroksinitrite dönüştürerek toksik etkilere aracılık eder. ONOO-, peroksinitröz asit ve hidroksil radikale dönüşebilmektedir. NO inhibisyonunun ONOO- oluşumunu engelleyeceği ve kardiyak performansı artıracabileceği gösterilmiştir⁴¹. Bu nedenle, NO sentezini gerçekleştiren NOS'un (özellikle

iNOS) pro-oksidatif bir enzim olabileceği düşünülmektedir. Melatoninin iNOS aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir^{7,8}.

Serbest radikal süpürücü etkisine ek olarak, melatonin membran Ca^{2+} pompası aktivesini etkileyip, aşırı Ca^{2+} yüklenmesini önleyerek hücre içi Ca^{2+} düzeyini ayarlayabilir⁴². Hücre içi Ca^{2+} 'un aşırı artması ve diğer iyon dengesizlikleri miyokardiyal elektriksel instabilite, kardiyak aritmiler ve miyokardiyal nekroz gibi hasarlarla sonuçlanabilir. Na^+/H^+ değiş-tokuş sistemi de hücrede aşırı Ca^{2+} yükünden sorumlu tutulmaktadır. Buna bağlı olarak hücre şişmesi ve nekroz oluşmaktadır. Bu sistemin bloke edilmesiyle de nekroz oluşumu engellenmektedir^{39,43}.

2.1.3. Melatoninin Serbest Radikal Giderici Özelliği

Melatoninin tüm canlılar için bazal ama multifonksiyonel bir moleküldür. Çok temel bir etki olarak, esansiyel aromatik aminoasit triptofandan türeyen indoller ve özellikle melatonin, elektron transferini düzenleyebilmekte, reaktif ara ürün radikalleri, detoksifiye edebilmekte, peroksidatif reaksiyon zincirlerini güçlü bir şekilde kontrol edebilmektedir. Bu temel antioksidan etkinin insan biyolojisindeki karşılığı ise hücre ve dokunun bütünlüğünün korunmasına katkıdır. Metabolizmanın biyokimyasal işleyişinde oksidasyon ara ürünleri ve dolayısıyla oksidatif stres oluşumu kaçınılmazdır. Bununla beraber metabolizma, bu kaçınılmaz oksidatif strese karşı etkin antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Son yapılan çalışmalar, bu endojen antioksidan maddelerden en güçlüsünün melatonin olduğunu göstermiştir^{2,44}.

Melatonin molekülü kolaylıkla oksitlenmez, otooksidasyona uğramaz ve redoks döngüsüne, hidroksil radikali üreten reaksiyonlara katılmaz. Melatoninin yanısıra melatonin metabolitlerinden hiçbirisinin prooksidatif aktivitesi yoktur. Melatoninin hidroksil radikalini nötralize etme

özelliği glutatyondan 5 kat, mannitolden 15 kat, peroksit radikal, giderme özelliği ise E vitamininden 2 kat daha güçlü olduğu ispatlanmıřtır⁴⁴.

2.1.4. Melatoninin Etkileri

Melatoninin ritmik özelliğe sahip birçok biyolojik fonksiyon (vücut ısısı, solunum, dolaşım sistemi, üreme vb) üzerine etkisi olduğu düşünölmektedir. Genel olarak birçok canlı türü için melatoninin çeşitli fizyolojik olaylara adaptasyonda zamana uyumu düzenlediği düşünölmektedir. Melatoninin insandaki etkileri iki kategoride incelenebilir. Bunlardan ilki vücutta büyük oranda pineal bezden salgılanan melatoninin sirkadiyen ritmi düzenleyici etkisidir. İkincisi ise bu hormonun vücuttaki anabolik ve fizyolojik etkileridir. İnsanda melatonin düzeylerinin yüksekliği, vücut ısısında azalma, artan ısı kaybı, azalan kalp debisi, uyanıklık halinde bozulma ve artmış immun duyarlılık ile birlikte seyreder³.

2.1.5. Melatoninin Non-Endokrinolojik Etkileri

İmmünite fonksiyonun arttırılması: Melatonin salgısının fonksiyonel veya farmakolojik olarak inhibisyonu immun cevabı azaltıcı bir etkiye sahiptir. Melatonin sentezinin engellenmesi durumunda humoral (antikorlarla sağlanan bağışıklık) ve hücresele immun reaksiyonlarda azalma gözlenirken, melatonin verilmesi immun fonksiyonu yeniden uyarmaktadır²⁷.

Uyku ritminin düzenlenmesi: Melatoninin gece boyunca düşük düzeyde salgılanması uykunun azalmasına ve bu sebeple uykuya duyulan ihtiyacın da artmasına neden olur. Akşamın erken saatlerinde yeterli miktarda melatonin salgılanamazsa uyuma güçleşir. Sekresyon devam etmediği takdirde gece uyanmaları göröölür. Pineal bezin fazla

miktarda ve uzun süre melatonin salgıladığı durumlarda ise uyku isteği devam eder^{45,46}.

Dolaşım sistemi üzerinde koruyucu etkisi: Melatonin kanda kolesterol seviyesini düşürmekte, aterosklerozis ve hipertansiyon riskini azaltmaktadır⁴⁷.

Lokomotor aktivite üzerinde inhibitör etkisi: Sıçanlarda yüksek dozda (400 mg/kg) melatonin uygulaması sonucu ataksi, motor inkoordinasyon, motor aktivasyonda kayıp ve kaslarda gevşeme görülmektedir⁴⁶.

Vücut ısısının düzenlenmesi: Hipotalamus'un ön bölümündeki preoptik saha ısı merkezidir ve bu sahadaki nöronlarda melatonin reseptörleri bulunur. Melatonin bu sahayı etkileyerek vücut ısısında düşüşe sebep olmaktadır⁴⁷.

2.1.6. Melatoninin Antioksidan Etkisi

Melatonin'in bir antioksidan olduğu, ilk kez 1991 yılında Ianas ve arkadaşları tarafından öne sürülmüş⁴⁸ ve daha sonra yapılan *in vitro*^{31,49} ve *in vivo*⁵⁰ çalışmalarla desteklenmiştir. Son yıllarda melatoninin en etkili antioksidan olduğu ileri sürülmektedir^{51,52}.

Bu etkisi E vitaminine göre iki, glutasyon peroksidaz enzimine göre ise en az beş kat daha fazladır. Kolaylıkla kan-beyin bariyerini ve plasentayı geçebilen melatonin için, bilinen hiçbir morfofizyolojik bariyerin olmaması, melatonin'in tüm intraselüler komponentlere rahatlıkla ulaşabilmesini sağlamaktadır. Böylece melatonin, hücre zarını, organelleri ve çekirdeği etkin bir şekilde serbest radikal hasarından koruyabilmektedir⁵¹. Melatoninin güçlü antioksidan etkisinin yanı sıra, nöral dokularda glutasyon peroksidaz aktivitesini arttırmak gibi bir fonksiyonu daha vardır. Beyin glutasyon peroksidaz

aktivitesinin gece daha yüksek olması yüksek melatonin düzeyi ile yakından ilgilidir.

Glutasyon peroksidaz, beyinde peroksitleri ortadan kaldıran temel enzim olarak bilinmektedir. Melatonin, hem yağda ve hem de suda çözünebilir özelliğe sahip olması sebebiyle, vücudun her hücresine nüfuz edebilir ve bu sebeple de vitamin ve mineral antioksidanlara göre çok daha etkilidir. Melatonin, hücresel düzeyde mitokondrilere nüfuz edebilen birkaç antioksidandan biridir. Bu sebeple, melatonini diğer antioksidanlardan ayıran önemli özelliği mitokondrileri oksidasyon hasarından korumasıdır^{45,53}.

Melatonin'in antioksidan özelliği üç ana başlık altında toplanabilir:

1. Doğrudan antioksidan etki: Melatonin'in $\text{OH}\cdot$, H_2O_2 , $^1\text{O}_2$, HOCl , NO , $\text{ONOO}\cdot$ gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir. Melatonin'in antioksidan özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır.

2. Antioksidan enzim aracılı etki: Farmakolojik ve muhtemelen fizyolojik düzeylerdeki melatonin'in, SOD, GSH-Px, GSSG-Rd, G6PD ve γ -glutamilsistein sentetaz gibi bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ya da aktivitelerini artırdığı ve bu yolla oksidatif stresi baskıladığı bildirilmektedir.

3. Prooksidan enzim aracılı etki: Melatonin'in bazı prooksidan enzimleri inhibe ederek, serbest radikal oluşumunu azalttığı ve bu yolla da antioksidan sistemi desteklediği öne sürülmektedir^{1,54,55}.

2.1.7. Melatoninin Biyolojik Etkileri

Melatonin'in uyku, sirkadien ritm, duygu durumu, termoregölasyon, immünite, cinsel olgunlaşma ve üreme gibi birçok biyolojik olayla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla antiproliferatif ve antioksidan etkilere de sahip olduğu gösterilen melatonin'in, kanser ve yaşlanmanın önlenmesinde de etkili olabileceği öne sürülmektedir^{1,26}.

2.2. Melatonin ve Egzersiz

Melatonin etkilerini vücutta başlıca beyin olmak üzere çoğunluğu periferik dokularda bulunan özgün reseptörleri aracılığı ile gösterir. Melatoninin hücreleri, dokuları ve organları serbest radikal oluşturan ajan ve olaylar (potasyum siyanür, L-sistein, aşırı egzersiz, karbon tetraklorür, iskemi- α -reperfüzyon, protein ve iyonize radyasyon gibi) sonucu gelişen oksidatif hasara karşı koruduğu ispatlanmıştır^{26,31}.

Fiziksel aktivitenin plazma melatonin düzeylerinde değişikliğe yol açabileceği, hem de melatonin uygulamasının egzersizde performansı artıran bir etkiye sahip olduğu ileri sürülmektedir. Egzersiz yaptırılan ratlarda, melatonin uygulamasının plazma laktat düzeylerinde bir azalmaya, kas ve karaciğer glikojen seviyelerinde ise bir artışa yol açtığıının gösterilmesi, melatonin-egzersiz ilişkisine ilginç bir örnek olarak verilebilir. Egzersizin verimliliği açısından, kas-karaciğer glikojen depoları ve laktik asit seviyeleri önem arz etmektedir. Yapılan bir çalışmada, kan laktat düzeyi egzersizle yükselmiş ve hem egzersiz yaptırılan hem de yaptırılmayan melatonin takviyeli ratlarda düşük seviyede tespit edilmiştir⁵⁶.

Melatonin doğal uykuyu sağlar. Böylece bağışıklık sistemini kuvvetlendirir. Melatonin yüksek tansiyonu düşürerek geceleri kalbin daha düşük hızda çalışmasını sağlar. Böylece kalbi korumuş olur. Kalp şikâyetleri olanlar genellikle geceleri melatonin düzeyleri düşük olan kişilerdir⁵⁷.

Melatoninin hipotermik etkisini değiştiren diğer fizyolojik durum egzersizdir. Egzersiz performansının gelişiminde melatoninin olası ergojenik etkisi literatürde az dikkate alınmıştır. Birçok deneysel çalışma egzersizin yüksek bir kor sıcaklığa ulaşmada sınırlı olduğunu göstermiştir^{58,59}. Egzersizden önce vücut sıcaklığını azaltmaya yönelik stratejiler hayati olarak vücut sıcaklığı derecesine ulaşmadan büyük bir sınır sağlar ve performansın gelişimine yol açar. Böyle gelişmeler egzersiz öncesinde ön soğuma manevraları kullanarak vücut sıcaklığında azalma ile gösterilmektedir⁶⁰. Sadece bir grup çalışma egzersizde termal cevap üzerine melatoninin etkisini açıklamıştır^{61,62}. Mclellan ve arkadaşları 2x1 mg dozunda melatoninin 40 °C bir ortam sıcaklığında saatte 3,5 km/saat hızla treadmillde aralıklı yürüme egzersizinde termal regülasyon cevaplar ve tolerans zamanı üzerine etkisini açıklamışlardır. Melatoninin egzersizden önce ve egzersizden sonra rektal sıcaklığı ve egzersiz tolerans zamanını anlamlı derecede etkilemediğini bildirmişlerdir. Yüksek dozdaki melatonin çok sıcak şartlarda düşük yoğunluktaki egzersizde sınırlı faydalı etkiye sahiptir⁶².

Melatonin yüksek dozlarda alındığında bile toksik etki yaratmaz, onun koruyucu rolü oksidatif stresi ve lipid peroksidasyonunu azaltarak doku zararının çeşitli çevresel modellerinde rapor edilmiştir. Birçok çalışmada melatoninin antienflamatuar etkileri önem kazanmıştır. Ancak melatoninin anti oksidasyon ve anti inflammatuar özellikleri herhangi bir egzersiz içeriğinde incelenmemiştir²².

2.3. Organizma ve Çevre İlişkisi

Sistemlerin bir araya gelmesi ile oluşan yapı organizma olarak ifade edilmektedir. Tüm canlılar organizmadır. Bu canlıların içerisinde yaşadığı ortam ise çevredir. Çevre canlıları ve dolayısıyla insanların yaşam ve gelişimini etkileyen kapsadığı canlılarla sürekli bir madde, enerji alış veriş içinde bulunan ve dışsal tüm etkilerin karışımı olarak tanımlanır^{63,64}.

Diğer canlılar gibi insan da bir çevre içinde yaşar ve bu çevreden etkilenir. Bazen bu etkileşim karşılıklı olur. İnsanların çevresi ile etkileşimi diğer canlılara göre daha karmaşıktır. İnsanın çevresi ile etkileşimi fiziki, psikolojik, sosyal yönden olabilir. Organizma ile çevre etkileşiminin olabilmesi hem fiziki koşullara hem de organizmanın alıcılığına bağlıdır⁶⁵.

Diğer taraftan, hiperoksi durumu, iskemi, inflamasyon, ağır egzersiz, aromatik hidrokarbonlar, antineoplastik ajanlar, antibiyotikler, anestezipler, radyasyon, sigara dumanı ve hava kirliliği gibi çevresel faktörler ya direk olarak ya da intraselüler metabolizma ve detoksifikasyon sırasında radikallere dönüşerek, SOR düzeylerini etkilemektedirler^{51,52,66}.

2.3.1. Vücut Isısı

İnsan ancak belirli vücut sıcaklığında tüm yaşamsal fonksiyonlarını devam ettirebilir. Bilindiği gibi bu vücut sıcaklığı 36,5-37,5°C dolayındadır. Amerikan Sağlık Birliği, normal vücut sıcaklığı sınırlarını 36,5-37,2°C olarak kabul etmiştir. Vücutta deri ve ekstremitelerin sıcaklıkları birbirinden farklıdır⁶⁷. Vücudun çeşitli bölgelerinden deri sıcaklığı ölçülüp bunların ortalaması alınarak “Ortalama Deri Sıcaklığı”

bulunur. Rahat bir dış ortam sıcaklığında bulunan bir insanda ortalama deri sıcaklığı 33-34°C dolayındadır⁶⁸. Rektal ısı ise vücut iç ısını teşkil eder ve 37°C, oral 36,5-37°C arası vücut ısıları normal olarak kabul edilir. Rektal ısı sirkandiyen ritme bağlı olarak en düşük sabah 06:⁰⁰ (36,6°C) ve en yüksek düzeyine akşam saat 18:00 civarında ulaşır (37,5°C). Çıplak bir kişi kuru havada 12,5-55°C arasındaki hava sıcaklıklarında vücut iç ısını sabit tutabilir. Isı kaybını önleyici kıyafetler ile -40°C'de bile vücut iç ısı sabit tutulabilir⁶⁹.

2.3.2. Isı Dengesi

Vücuttaki ısı dengesi ısı oluşumu ve ısı kaybı arasındaki denge ile oluşur. Vücut iç ısı yükseldiği zaman ısı kaybı mekanizmaları devreye girer ve vücut termolizis ile ısı kaybeder. Vücut iç ısı düştüğü zaman ise termogenezis mekanizmaları devreye girer ve vücut iç ısı artırılmaya çalışılır. Kısaca organizmada ısı dengesi şu şekilde ifade edilebilir^{69,70}.

$$\text{Isı dengesi} = \text{Isı oluşumu (IO)} - \text{Isı kaybı (IK)} \\ \text{(Termogenezis)} \quad \text{(Termolizis)}$$

2.3.2.1. Isı Üretimi (Termogenezis)

Vücut normal metabolik süreçlere bağlı olarak içsel ısıyı üretir. Dinlenik durumda veya uykuda, metabolik ısı üretimi düşüktür. Buna karşın şiddetli egzersiz süresince ısı üretimi büyüktür. Egzersiz süresince harcanan enerjinin %75-80'i ısı olarak görünmektedir. Ağır egzersizler süresince bu durum yüksek ısı yükselmesiyle sonuçlanabilir. Gerçekten, sıcak ve nemli ortamda çalışmak vücudun ısı kaybetme yeteneğini ciddi olarak test etme fırsatı verir⁷¹.

Organizmada ısı üretimi besinlerin metabolizmada kullanımı ile oluşmaktadır. Glukozdan enerji üretilirken %44'ü ATP yapımı için kullanırken %56'sı ısıya dönüşür⁷². Isı üretimine istirahat düzeyinde iç organların hemen hemen yarısı (%50), kasların 1/5'i ve deri katılır. Egzersizde ısı üretimi artarken, oluşan ısıнын %90'ını kaslar oluşturur. Egzersizde kas kasılmalarını sonucu üretilen ısı vücutta birikerek rektal sıcaklığı 40°C'ye kadar çıkarabilir⁷³.

2.3.2.2. Isı Kaybı (Termolizis)

Vücut iç ısısı yükseldiği zaman vücut ısını sabit tutmak için, bir takım mekanizmalar devreye girer^{73,74}. Isı kaybı yolları şu şekildedir.

- Radyasyon,
- Konveksiyon,
- Kondüksiyon,
- Evaporasyon,
- Solunum,
- İdrar ve dışkı^{69,70}.

Isı kaybını oluşturan bu yolları kısaca açıklayalım:

Radyasyon (Yayılma): Bir yüzeyden diğerine herhangi bir fiziksel kontak olmaksızın kızılötesi ışınlarla ısı transferidir^{63,73}.

Kondüksiyon (İletim): İki nesne arasında temas sonucu gerçekleşen ısı transferidir⁷⁵.

Konveksiyon (Dönüşüm): Yüzeye iletilen ısıнын uzaklaştırılmasıdır⁷⁴.

Evaporasyon (Buharlaşma): Vücut ısısının ortama su ile iletimi (terleme)dir. Suyun sıvı durumdan gaz durumuna geçiştir⁷².

Solunum: Solunum yolundan suyun buharlaşması ile ısı kaybıdır. Egzersiz sırasında bu yolla ısı kaybının, total kaybedilen ısıнын %5 kadar olduğu söylenir.

İdrar ve Dışkı; Çok azda olsa organizma idrar ve dışkı ile bir miktar ısı kaybeder⁷⁴.

Bunlardan radyasyon, konveksiyon ve kondüksiyon çift taraflı işleyen mekanizmalar oldukları için sıcak havalarda vücudun ısı kazanmasına da neden olabilirler. En fazla ısı kaybı evaporasyonla olmaktadır⁷⁶.

2.3.3. Vücut Isısının Düzenlenmesi (Isı Ayarı)

Vücut ısının iç ve dış etkenlere karşı belirler seviyede kalmasını vücudun ısı ayarlama mekanizması sağlar. Beynin hipotalamus bölümü ısı ayarlama merkezidir. Kanın ısı ve derin reseptörlerden gelen ısı duyuları vücudun ısı durumunu hipotalamusa bildirir. Eğer ısı kaybı varsa sempatik sinir sistemi aracılığı ile damarlar daraltılır ve derideki gözenekler kapatılır.

Diğer taraftan kas titreşimleri ile ısı arttırılır (Soğuk havada titrememizin nedeni budur, kas titreşimleri ısı üretir). Eğer kanın ve dış ortamın ısı yüksekse o zaman parasempatik sinir sistemi aracılığıyla derideki kılcal damarlar, deri gözenekleri ve kaslar gevşer. Böylece terleme olur ve ter yoluyla ısı kaybı sağlanır. Diğer taraftan kaslar gevşetildiğinde ısı üretimi azalır⁷³.

2.3.4. Termoregülasyon

Termoregülatör sistemin fonksiyonu vücut iç ısını sabit şekilde tutmaktır⁷⁵. Termoregülasyon yaşamın devamı için gereklidir. Vücut ısısında 5°C artış ve 10°C azalma insanlar tarafından tolere edilebilir. Termoregülasyon deyimi ısı üretimi ile ısı kaybı arasındaki dengenin kurulması ile vücut ısısının belirli düzeyde sabit tutulmasıdır. Termoregülasyon sistemin merkezi anterior hipotalamustaki preoptik nükleusta bulunmaktadır⁶⁹. Termoregülasyon'un görevi ısı üretimi, ısı alınması ve ısı v kaybından doğan ısı saptamalarını belirli bir değerde sabit tutmaktır⁷⁷. Egzersiz ve istirahat esnasında bu ısı yaklaşık 37°C derece olup bu referans ısı değeri olarak adlandırılır⁷⁵.

Vücut ısını bu kadar hassas bir şekilde ayarlayan termoregülasyon sistemi; merkez, reseptörler ve efektör organlardan oluşmaktadır⁶⁹.

Merkezi reseptörler; Anterior hipotalamusta bulunurlar. Anterior hipotalamusta çok sayıda sıcak ve soğuk reseptörleri yer alır ve bu reseptörler ısıya oldukça duyarlıdır. Kor ısısındaki oynamayı 0,1-0,2°C arasında sabit tutmaya çalışırlar. Anterior hipotalamusta'ki sıcak-soğuk reseptörlerin oranı 1/3 dür.

Periferal reseptörler; Deri altında bulunurlar. Sıcaklık artışına duyarlı sıcak reseptörleri, soğuğa duyarlı soğuk reseptörleri ve yakıcı sıcak ve dondurucu soğuğa duyarlı ağrı reseptörleri bulunmaktadır.

Vücut derin reseptörleri; Spinal kord, karın içi organlar ve büyük venlerin çeperlerinde bulunur⁷³.

Termaregölasyon sistemde yer alan termal efektörler ise; iskelet kasları, arteriollerin çeperindeki düz kaslar, ter bezleri ve endokrin bezlerdir^{73,75}.

2.4. Sıcak Ortam ve Egzersiz

Vücudun sıcağa tahammülü ortamın nem derecesi ile ilişkilidir. Kuru ve akımlı bir havada 50-55°C'ye kadar vücut ısısı yükselmez, buharlaşma yoluyla iç ısı sabit tutulabilir. Ancak ortam %100 nemlenir ise, çevre ısısı 35°C'nin üzerine çıkar çıkmaz vücut ısısı yükselmeye başlar. Eğer kişi egzersiz yapıyorsa bu kritik değer 30°C'nin altına inebilir. 37°C civarında olan vücut iç ısısı, egzersizde 40°C'ye çıkabilir⁷⁸.

Sıcak ortamda yapılan egzersizlerde çevre ısısı ile deri ısısı arasında ve deri ısısı ile vücut kor ısısı arasındaki ilişki oldukça önemlidir. Egzersiz esnasında vücut metabolizması 20-25 kat artar. Isı kaybı mekanizmaları (radyasyon, kondüksiyon, konveksiyon ve evaporasyon) devreye girmezse vücut iç ısısı, her 5 dakikada 1-1,8°C artar ve 75-90 kcal'lik bir ısı üretimi olurdu. Egzersizde ısı üretimi dk 15 kcal veya 900 kcal/saate ulaşabilir. Egzersiz esnasında artan metabolik hız nedeniyle oluşan ısı kaybedilmez ise organizma için sorunlar ortaya çıkar. Bu nedenle ısı kaybı yolları devreye girerek fazla ısı uzaklaştırır ve ısı dengesi korunmaya çalışılır. Sıcak ortamda yapılan egzersizlerde oluşan ısıнын uzaklaştırılması, büyük oranda vazodilatasyon (damarların genişlemesi) ve terleme (evaporasyon) ile sağlanmaktadır^{72,73}. Çok ağır bir egzersiz esnasında metabolik ısı oluşumu 30 kat artabilir^{71,73}.

2.4.1 Yüksek Isıda Egzersiz ve Organizma Üzerindeki Fizyolojik Etkileri

Egzersiz, kaslara doğru daha fazla oksijen, dolayısıyla daha fazla kan akımı ihtiyacını artırır, aynı anda iç ısı üretimi artar. Sıcak ortamdaki egzersiz esnasında kardiyak çıktının büyük bir bölümü çalışan kaslar ve deri tarafından paylaşılır. Çünkü kan hacmi sınırlıdır (5 L). Vücut ısı arttığı zaman, dolaşım sistemi kanı deri yüzeyine gönderir, bu aşırı ısı ancak kan akımı deri yüzeyine gönderilirse uzaklaştırılabilir. Lokal deri dolaşımının ana fonksiyonu ısıyı uzaklaştırmaktır. Bununla birlikte, çalışan kas ihtiyacı olan kanın deriye gönderilmesine izin vermez, kasın istekleri ısının deri yüzeyine iletimini engeller. Bu noktada, vücut egzersizin artan ihtiyaçlarını uzun süre karşılayamaz; ne deri ne de kaslar yeterli kan akımını alamazlar⁷⁸.

Organizmada iş yükünün artması rektal ısıyı artırır. Soğuk ortamda yapılan egzersizlerde bile rektal ısı artışı görülür. Vücut ısını rektal ısı ile takip edilerek tehlikeli boyut alıp almadığı kontrol edilmelidir. Serin ortamda yapılan egzersizlerde bile rektal ısının maratoncularda 40,9 °C ye kadar yükseldiği görülmüştür.

Wyndham ve Strydom'a göre vücut ısındaki artış metabolizma artışının yanında vücut ağırlığı ile de ilgilidir. Aynı yoğunlukta egzersiz yapan iki kişiden vücut ağırlığı fazla olanda rektal ısının daha fazla yükseldiği ifade edilmektedir⁷⁹.

Egzersiz esnasında vücuttan başlıca ısı kaybı terleme ve terin buharlaşması ile olmaktadır. 1g terin deri yüzeyinden buharlaşması ile 0.580 Kcal kaybedilir. Pugh ve arkadaşları İngiltere'de sıcak bir havada koşan maratoncunun saatte 1800 ml kadar terlediğini ifade etmişlerdir. Costil ve arkadaşları Amerika maraton seçmelerinde maratoncunun bir

koşu esnasında vücut ağırlığından 6.1 kg kaybettiğini ve saatte vücut yüzeyinin m² başına 1.09 L terlediğini hesaplamışlardır^{69,80}.

Sıcak ve nemli ortamda yapılan egzersizlerde ısı kaybı evaporasyonla fazla olmaz ve ter bezleri ile dolaşım sistemine daha fazla iş düşer. Soğuk ortama göre, sıcak ortamda yapılan aynı yoğunluktaki egzersizlerde kalp hızı daha fazladır ve terleme ile daha fazla sıvı kaybedilir⁶⁹.

Nadel ve ark yaptığı araştırmada sporcu antrenmanlar sayesinde egzersizin neden olduğu hipertermiye zamanla direnç kazanır ve ısıya gerekse egzersize toleransı artar. Ayrıca ısıyı daha kolay kaybeder ve sıvı kayıplarına karşı direnci artar. Yine kılcal damarlardaki vazodilatasyon eşiğinde de bir düşme meydana gelir. Bu durumda antrenmanlı sporcular koşu sırasında daha düşük vücut ısılarında steady-state'i kurar⁸⁰.

2.4.2. Sıcağa Uyum Sağlama (Aklimatizasyon)

Aktivitenin yapılacağı ortamın şartlarına uyum sağlamayı içerir. Sıcak ortamda yapılacak egzersizlerin rahat bir şekilde yapılması ısıya uyumu gerektirir. Organizmaya yeterli uyum süre ve fırsat tanınırsa sıcak ortama, hatta yüksek sıcaklık yüksek sıcaklıkta efor harcamaya uyum gösterebilir. Bunun için ilk 7-10 gün mümkün olduğu kadar daha kısa sürelerde doğrudan güneş ışınlarına maruz kalınması, daha kısa süren ve düşük şiddette antrenman yapılması, bir antrenmanda 15-20 dk. ara verilmesi, aralarda sıvı alınması önerilmektedir.

Normal antrenman süre ve yoğunluğuna ulaşmak bir haftayı bulmalıdır. Isıya ve ısı değişikliklerine uyumun hızı çeşitli alıştırma ile farklılık gösterse de, ilk 4-12 günde belirli bir gelişimin görüldüğü ve 8-12 haftada tam anlamıyla uyumun gerçekleştiği ortak görüştür. Isıya uyum

sağlamada yaş, cinsiyet ve vücut büyüklüğü etkili olan faktörlerdir^{63,69,72,73,80}.

2.5. Soğuk Ortam ve Egzersiz

İnsan organizması soğuk bir ortama girdiğinde, vücut ısısının belirli bir süre korunduğu ancak deride meydana gelen aktif soğuma ile iç ısının düştüğü gözlenmiştir^{73,81}. Böyle durumlar sportif performans üzerinde olumsuz bir etkisinin yanı sıra hayati tehlikede yaratabilir⁷⁴. Soğuk havada egzersiz yapmanın en büyük sakıncası vücudun aşırı ısı kaybetmesi (hipotermi) dir. Birçok spor dalında sporcunun hipotermi koşullarına maruz kalma olasılığı vardır. Bu durum, hem sakatlık için uygun bir zemin hazırlar hem de soğuğun etkisiyle değişik sorunlar ortaya çıkar^{73,82}.

Soğuk çevrede yapılan egzersizlerde organizma üzerinde meydana gelen olumsuz etkiler sıcak ortama göre daha azdır. Bunun nedeni, çalışmakta olan vücut, enerji harcama nedeni ile ısı üretir ve meydana gelen fazla ısı, vücudun üşümesini önler. Diğer taraftan, sıcak çevrede olduğu gibi fazla ısının çevre atılması sorun değildir. Fazla ısı, soğuk havaya kolaylıkla atılabilir ve vücut ısı rahatlıkla korunabilir⁸³.

Soğuk ortama bağlı olarak vücut ısı düştüğü zaman ısı düzenlenmesi amacı ile organizmada meydana gelen değişimler şu şekildedir.

- Deri damarları büzülür (vazokonstrüksiyon), bu şekilde ısı kayıp yüzeyi küçültülür aynı zamanda kanı yüzeye değil de iç bölgelere doğru akımı sağlanır.
- Titremeye kassal aktivite artışı ve enerji üretimi sağlanır.

- Hormon salınımı ile epinefrin, norepinefrin, troid ve troksin artışı ile bazal metabolik hız yükseltilir. Trioksin ve troid salınımı çok soğuk havalarda olur^{73,81,84}.

2.5.1. Soğuk Ortamda Egzersiz ve Organizma Üzerindeki Fizyolojik Etkileri

Soğuk ortamda yapılan egzersizler esnasında vücutta fizyolojik ve davranışsal olarak bir takım değişiklikler oluşur. Deri damarları ısı kaybını azaltmak için fizyolojik olarak vasokonstrüksiyona uğrar. Vücut kasları istemsiz olarak titreme ile ısı oluşumunu artırır. Terlemenin azalması ve derideki piloerektör kasların kasılması da ısı kaybını azaltır. Ayrıca kahverengi yağ dokusu da ısı oluşumuna katkıda bulunur^{69,80}.

27°C nin altındaki kas sıcaklığı kassal aktivitede düşüş ve daha erken yorgunluğa neden olur. Kas sıcaklığındaki 1°C'lik düşüş maksimum güçte %3 e varan bir düşüş meydana getirir.

Roberts'ın belirttiği gibi soğuk ortamda yapılan egzersizlerde sporcular vücut kor ısılarının sabit kalmasını sağlayamazlarsa performanslarında azalma olur. Kor ısısındaki 1°C'lik azalma aerobik kapasiteyi %5-6 azaltır⁸⁵.

Soğuk Ortamda Yapılan Egzersizlerde organizmada meydana gelen değişimler aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

- Kas tonusu artar
- Kas vizkozitesi artar
- Kas kasılma süresi uzar
- Antagonist kasların gevşeme süresi uzar

- Sinir iletisi yavaşlar
- Refleks cevap süresi uzar
- Beceri ve koordinasyon bozulur ve kondisyon azalır^{69,73}.

2.5.2. Soğuğa Aklimatizasyon (Uyum)

Sıcak, soğuk ve yükseklik gibi çevresel streslere maruz kalan insanlar rahatlarını artırmak için bu koşullara karşı çeşitli ayarlamalar yaparlar. Bu şartlara karşı yapılan ayarlamalar uyum ve alışkanlık şeklinde kendini gösterirler. Alışkanlık belirli bir zamanda kendini gösteren çevresel strese karşı fizyolojik adaptasyondur⁶⁵.

Bu uyum birinci olarak titremin başladığı deri ısının azalmasıdır. Öyle ki, soğuğa uyum sağlayan insanlar uyum sağlamayan insanlara göre daha düşük deri ısında titremeye başlarlar.

Soğuk uyumuna bağlı olarak oluşan (ikincil fizyolojik ayarlama), soğuk uyumu ellere ve ayaklara kan ve ısı akışını arttırmak için periferel vazodilatasyon gelişimi ile sonuçlanır.

Soğuğa fizyolojik uyum soğuk ortamda gelişen uyku düzeyidir. Uyum gösteremeyen kişiler, soğuk çevrede uyku girişiminde bulunduğunda, soğuğa uyumlu kişilerde titremesizlik (nonshivering termogenezis) düzeyi yükseldiğinde rahatlıkla uyuyabilmektedirler⁸⁰.

2.6. Oksidatif Stres

Vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanım ile “oksidan-antioksidan denge” olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki bu dengenin özellikle oksidanlar lehine bozulması membran lipitleri, proteinler ve DNA gibi hücrenin önemli yaşamsal yapılarında bütünlüğün bozulmasına ve canlıda patolojik olayların gelişmesine yol açar. Oksidan/antioksidan dengesinin oksidanlar lehinde bozulduğu durumlar:

- Organizmaya ani ve aşırı miktarda oksijen girişinin artması
- Epinefrin ve diğer katekolaminlerin artışı
- Laktik asit, laktat dehidrogenaz, kreatin fosfokinaz gibi glitik enzim aktivitelerinin yükselmesi
- Sportif yüklenmeler
- Gebelik, yaşlılık gibi fizyolojik haller
- Çevre kirliliğinin yoğun olduğu ortamlar
- Uzun süre yaşam
- Yoğun stres
- Sigara ve alkol kullanımı
- Doymamış ve kolay peroksitlenebilen yağların diyetle fazla miktarda bulunması
- Antioksidan savunma sistemi yetmezlikleri veya savunma duvarının aşılması

Bu olgu serbest radikallerin oluşumunun artısından ya da antioksidan aktivitesinin yetersizliğinden ileri gelebilir⁸⁶.

2.6.1. Oksidatif Stresin Hücresel Temeli

Oksijen aerobik yaşam formlarının metabolizmalarının çalışması için gerekliken aynı zamanda organizmaya zehirleyici etkiye de bulunabilmektedir. Memeliler yaşamları için gerekli ATP'yi, oksijeni suya kadar dönüştüren mitokondriyal elektron transport sistemini kullanarak sağlarlar. Hücreler tarafından kullanılan oksijenin yaklaşık %98'lik bir kısmı mitokondri içine girer ve sitokrom oksidaz gibi terminal oksidazlara indirgenir⁸⁷. Reaktif oksijen türleri insan vücudunda sürekli olarak üretilmektedir. Bunların bazılarının yararlı etkilere sahipken, vücudun antioksidan kapasitesi aşıldığında dokusal hasarlara neden olabilirler⁸⁸. Oksidan moleküller homeostasisi bozmadıkları sürece organizmanın yabancı madde ve infeksiyöz ajanlara karşı savunmasında önemli rol oynarlar. Eğer oksidanlar belirli düzeyin üzerinde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olurlarsa, organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asit ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açabilirler. Bütün antioksidan savunma sistemlerine rağmen vücutta bazen reaktif oksijen türleri (ROT) açığa çıkarak hasara sebep olabilirler. Serbest radikallerin özellikle DNA üzerinde yaptıkları hasarlar önemlidir. DNA'nın nükleik asitleri ile reaksiyona giren serbest radikaller DNA dizininde mutasyonlar meydana getirmekte ve bu hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine yol açmaktadırlar⁸⁹. Serbest radikaller ile membran peroksidasyonu hücresel düzeyde potansiyel olarak zararlı olabilir. Membran lipidlerinin peroksidasyonu özellikle hipoksik dokuların reoksijenasyonu sırasında hücresel fonksiyonlarda birçok değişikliklere neden olur. Bunlar membran geçirgenliğinde artma, sarkoplazmik redikulumda Ca^{2+} transportunun azalması, değişmiş mitokondrial işlev, metabolit oluşumda artma, hücresel glutatyon metabolizmasının değişimi gibi farklılaşmalardır. Sportif yüklenmeler sırasında kanın yeniden dağılımı ile bazı dokular hipoksik kalabilir ve böylece reperfüzyonda peroksidasyona daha duyarlı olabilir. Sportif aktivite sonrası mitokondriyon

şişme, ödem oluşumu, proteinüri ve hemoliz gözleendiğinden belki de sportif aktivite ile uyarılan serbest radikal oluşumu ve bunu izleyen olaylar bazı hücrel işlevlerin değişmesine neden olabilir¹⁴. Yüksek şiddetteki dinamik veya statik egzersizler adenozin trifosfat hücrel havuzunda azalmaya sebep olacak ve endotelial hipoksiyaya sebep olabilir. Bundan dolayı kalsiyum iyon pompasına bağımlı olan ATP fonksiyonu hasar görür. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artması kalmodulin veya kalpain gibi kalsiyuma bağılı proteazları aktive eder. Proteazlar, enzimi oksidaz formuna dönüşmesini sağlayan, ksantin dehidrogenazdan bir peptid grubu koparılması olayını gerçekleştirir. Oluşturulan oksidaz, oksijeni elektron alıcısı olarak kullanır ve böylece süperoksit radikali ve hidrojen peroksiti ürün olarak oluşturur⁹⁰.

2.6.2. Sportif Aktiviteler ve Oksidatif Stres

Sportif aktiviteler esnasında kas hasarına, termal ısıya ve iskemi-reperfüzyona bağılı olarak doku hasarı oluşabilir. Spor bilimcileri sportif aktiviteler esnasındaki ROT üretimini mitokondriyal elektron transfer zinciri, ksantin oksidaz sistemi, metal katalizörlü reaksiyonlar ve aktive olmuş nötrofiller gibi etkenlere bağlamaktadır⁹¹. Sportif aktivitelere bağılı oksidatif stres mekanizmaları tam olarak anlaşılmamıştır. Mitokondriler bazen serbest radikallerin temel kaynağı olarak gösterilse de, bazı çalışmalar düşünüldüğünden çok daha az bir rol üstlendiğini savunmaktadır. Fiziksel aktivite ve yüklenmeler sırasında artan kas kasılmaları enerji tüketimi ve metabolik aktiviteyi önemli ölçüde hızlandırmaktadır. Sportif aktivite sonucu artmış metabolik hız, kesin olarak diğer dokularla birlikte kalp ve lokomotif kaslarda oksijen tüketimini artırır. İskelet kaslarına da oksijen alımı 100-200 kat oranında artmaktadır. Bu artan metabolik aktiviteye bağılı olarak kullanılan oksijen ve mitokondriyal elektron transport zincirinden elektron sızıntısı artmakta ve sonuçta süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri başta

olmak üzere birçok reaktif oksijen türü açığa çıkmaktadır⁹². Özellikle yoğun sportif yüklenmelerde organizmada oksijen türevi radikal oluşumu artmaktadır. Bu artışta; mitokondride elektron transport zincirinde elektron akışının hızlanması, ksantin oksidaz aktivitesinin artması, lokal inflamasyon, transferinden demirin serbest hale gelmesi, antioksidan tüketimi gibi faktörler rol oynamaktadır. Özellikle 50km. maraton gibi ekstrem dayanıklılık alıştırmaalarında lipid peroksidasyonunun arttığı tespit edilmiştir. Bitkinliğe kadar yapılan yüklenmeler kas hasarına yol açmakta ve oksidatif stres ortaya çıkmaktadır. Bazı araştırmacılar sportif aktiviteye bağlı oksidatif stresin sadece yüklenme bitkinliğe kadar sürdürülürse veya laktik asit miktarı çok artarsa ortaya çıkacağını savunmaktadır⁹³. Sportif aktivite sırasında mitokondrial elektron transport zincirinde sitokrom b düzeyine elektron akışında artış olur. Bu sistemin eşlenememesi elektron kaçığına sebep olarak ubisemikinin oluşumu ile sonuçlanır. Bu molekül de oksijen ile eşleşerek süperoksit anyonu ve ilişkili reaktif oksijen türevlerini oluşturur. Sitozol de serbest radikal oluşumuna katılabilir. Örneğin ksantin oksidaz sitozolik bir enzimdir ve dehidrogenaz formunda ksantin veya hipoksantin ürik aside dönüştürülmesinde elektron alıcısı olarak NAD⁺'yi kullanır. Moleküler oksijen elektron transport akseptörü olduğunda süperoksit ve hidrojen peroksit radikalleri üretilir¹⁴. Sportif aktivite sırasında splanknik bölgelerden ve diğer organlardan kanın aktif iskelet kasına yeniden dağılımı geçici bir hipoksik durumun varlığını düşündürür. Sportif yüklenmenin sonlanmasıyla oksijenlenmiş kanın bu bölgelere geri dönüşü reoksijenasyon ile sonuçlanır ve iskemi-reperfüzyon fazında ROT oluşumuna sebep olur. Reoksijenasyon ile ROT'un oluşumu çeşitli hayvan deney modellerinde elektron-spin trapping deneyleri ile gösterilmiştir^{92,94}. Sportif yüklenme esnasında ROT üretim seviyesinin miktarı tam olarak bilinmemektedir. Fakat yapılan fiziksel yüklenme sonrasında ilk 1-2 dakika içerisinde ROT üretiminde azalma olduğu gözlemlenmiştir⁹².

2.7. Serbest Radikaller

Aerobik organizmalar sürekli olarak Reaktif oksijen türevleri olarak adlandırılan moleküler oksijenden türetilen reaktif molekülleri üretirler. Bu serbest radikaller dış orbitalinde tek sayıda ortaklanmamış elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Özelliklerinden birisi kısa ömürlü olmaları, bir diğeri ise radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek yeni radikaller oluşturmaları ve zincir reaksiyonu başlatabilmeleridir⁹⁵.

Canlı organizmalarda çeşitli enzimatik veya kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri, normal metabolizma sırasında oluşabildikleri gibi organizmanın, ışık, radyasyon, hava kirliliği, sigara dumanı, enflamasyon, şiddetli egzersiz gibi etkilere maruz kalması, medikal olarak bazı ilaçların alınması ve yabancı maddelerin (anestezikler) metabolizması sırasında oluşabilirler⁶⁶.

2.7.1. Serbest Radikallerin Oluşumuna Etki Eden Faktörler

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklara bağlı olarak oluşurlar. Ekzojen kaynaklı faktörler arasında parakuat, alloksan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler verilebilir⁹⁶.

Endojen faktörlerin başında egzersiz gelir. Özellikle yoğun egzersizle organizmada oksijen türevi radikal oluşumu artmaktadır. Buna karşılık, düzenli yapılan egzersizle bir adaptasyonun oluştuğu, antioksidan

enzim aktivitelerinin arttığı, inflamasyon eğiliminin ve serbest demir düzeylerinin azaldığı, DNA tamir mekanizmalarının indüklediği ve LDL'nin oksidasyona duyarlılığının azaldığı bulunmuştur.

Diğer endojen faktörler, stres, yaşlanma, doku hasarı ve kronik hastalıklar sayılabilir. Endojen kaynaklardan başka, radyasyon, hava kirliliği, çeşitli kimyasal maddeler, oksidan ilaçlar, sigara ve hiperoksijenasyon gibi ekzojen faktörler de serbest oksijen radikali oluştururlar ⁹⁷.

2.7.2. Serbest Radikallerin Zararları

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır. Bu zararlar şöyle sıralanabilir:

- DNA'nın tahrip olması
- Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı
- Tiyollere bağlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiyol/disülfid oranının değişmesi
- Protein ve lipidlerle kovalan bağlar yapması
- Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler
- Mükopolisakkaritlerin yıkımı
- Proteinlerin tahrip olması
- Lipit peroksidasyonu, membran yapısı ve fonksiyonunun değişmesi
- Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sisteminin bozulması
- Seroit ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi
- Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksidoredüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşması ⁹⁸.

2.7.3. Serbest Radikallerin Sınıflandırılması

Tablo 1: Serbest Radikaller⁹⁹

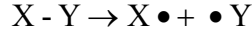
Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	Süperoksit radikali	$O_2^{\bullet-}$
	Ozon	O_3
	Singlet Oksijen	1O_2
	Hidrojen Peroksit	H_2O_2
	Hidroksil Radikali	$OH^{\bullet}$
	Hipoklorik Asit	$HOCl$
	Hipobromik Asit	$HOBr$
	Alkoksil Radikali	$RO^{\bullet}$
	Peroksi Radikali	$ROO^{\bullet}$
	Hidroperoksil Radikali	$ROOH^{\bullet}$
Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)	Nitrik Oksid	$NO^{\bullet}$
	Azot Dioksit	$NOO^{\bullet}$
	Peroksinitrik	$ONOO^{\bullet}$
	Nitroz asit	HNO_2
	Nitrozil katyonu	NO^+
	Nitroksi anyonu	NO^-
	Nitroz asit	HNO_2
	Diazot tetraoksit	N_2O_4
	Peroksinitril asit	$ONOOH$
	Nitronyum katyonu	NO_2^+
	Alkilperoksi nitrit	$ROONO$
Reaktif Sülfür Türleri (RSS)	Thiyl Radikali	$RS^{\bullet}$

2.7.4. Serbest Radikallerin Oluşumu

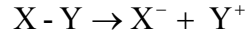
Serbest radikaller üç yolla meydana gelir:

1) Kovalent bağın homolitik parçalanması ile oluşur. Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır ise, her iki atom üzerinde

paylaşılmamış elektron kalır ve iki adet yüksek reaktiviteli serbest radikal oluşur.



2) Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşur. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır. Askorbik asit, GSH ve tokoferol gibi hücrel antioksidanlar radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.



3) Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşur. Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna sebep olabilir¹⁰⁰.

2.7.4.1. Serbest Radikallerin Sportif Çalışmalarda Oluşum Mekanizmaları

Fiziksel aktivite, şiddet ve süresiyle bağımlı olarak, metabolik süreçleri ve oksijen tüketimini arttırarak daha fazla serbest radikal oluşumuna neden olabilir. Serbest radikallerdeki artış, antioksidan savunma kapasitesini aşarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu tetikler. Lipid peroksidasyonu da fiziksel yorgunluğa yol açacak düzeydeki yüklenmelerde çok iyi antrenmanlı atletlerde bile, kas dokusunda hasar oluşturur.

Serbest radikaller normal metabolizmanın yan ürünleri olarak ortaya çıkmakta ve sportif çalışma yapan kasın daha fazla oksijen tüketmesinin de mitokondrilerin oksijen radikal üretimini arttıracacağı öne sürülmektedir. Sportif yüklenmelerde enerji tüketimi ve oksijen ihtiyacı vardır. Enerji tüketiminin temel ilkesi de oksidasyondur. Oksidasyon sırasında oksijen ve türevlerinin oldukça aktif şekilleri, özellikle de hidrojen peroksit ve serbest radikaller üretilir. Radikallerin membrandaki çok doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olduğu, membran permeabilitesinin bozulduğu ve hücre hasarı olduğu bilinmektedir. Özellikle akut ve ağır sportif yüklenmelerin oksidatif hasarı tetikleyerek kas yaralanmalarına sebep olduğu ve radikallerin yorgunluğa sebep olduğu şeklinde çalışmalar devam etmektedir¹⁰¹. Sağlıklı bir organizmada oksijen düzeyi ve antioksidanların zararsızlaştırma işlevi bir denge içindedir. Sportif yüklenmeler sırasında artan oksidanların etkisi ile membran yapısındaki çok doymamış yağ asitleri zarar görmektedir. Sportif aktiviteler esnasında katekolamin hormonlarının sakınımında artış vardır ve otooksidasyon serbest radikalleri üretir. Sportif yüklenmeyi takiben görülen kas hasarı nötrofil NADPH oksidazdan süperoksit salınımına neden olur. Bununla birlikte, sportif yüklenme esnasında ROT'nin en önemli kaynağı mitokondrial süperoksit üretimi olduğu ileri sürülmektedir. Sportif yüklenme sırasında metabolizmaya alınan oksijenin 15 kat arttırılması ve aktif kas hücrelerine kanın yönlendirilmesiyle oksijen kullanımının bu aktif bölgelerde 10 kat ve üzerine çıkmasıyla beraber mitakondrial reaktif oksijen miktarının artması beklenen bir durumdur. Artan metabolik aktivite ile mitakondrial transfer sisteminde elektron sızıntısının artmasıyla, oksidatif strese, lipid peroksidasyonunda ve süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi serbest radikallerin üretiminde artış olur. Fakat bununla beraber sportif yüklenmede serbest radikal üretimini arttıran alternatif bir mekanizma vardır ki, o da; iskemi reperfüzyondur⁹⁴. Sportif aktiviteye başlandığında kan akımı aktif iskelet kaslarına doğru yönlendirilir. Bu nedenlerle özellikle yoğun sportif aktiviteler bazı

organlarda (böbrekler- splaknik bölge vb) hipoksiyaya neden olur. Bunun yanı sıra yapılan sportif aktiviteler $VO_2\text{max}$. civarında yapılıyorsa, oksijen kaynakları gerekli enerji ihtiyacını karşılayamayacağından, kas lifleri de hipoksiyaya maruz kalacaktır. Bu iskemiye takiben reperfüzyon sonrasında süperoksit radikal üretiminde bir artma görülür. Bunun sonucunda ksantin oksidaz aktivitesinde artma görülür. Bunu takip eden mekanizmalar; sportif aktivitelerden sonraki birkaç saat içinde oksidatif stres oluşumuna neden olur ve bu sadece iskelet kaslarıyla sınırlı değildir. Yapılan bir çalışmada, insan ve hayvanlara ksantin oksidazı inhibe eden allopurinol verildiğinde oksidatif stresin azaldığı belirtilmiştir. Bu çalışma dikkate alınırsa ksantin oksidazın sportif yüklenmelere bağlı serbest radikal üretiminde mitokondriden daha önemli olduğu düşünülebilir.

Sportif yüklenmeler esnasında diğer bir serbest radikal üretim mekanizması da hemoglobin ve miyoglobinden kaynaklanır. Hemoglobin ve miyoglobinin otooksidasyonu sırasında serbest radikaller ortaya çıkar. Mitokondrial durumun aksine, hemoglobinlerden ROT üretimi, sportif yüklenmelere bağlı kapiller ve venöz kanda pO_2 'nin azalmasıyla artabilir. Bazı çalışmalar ROT üretiminde artışı; kaslardaki zirve acı azalmaya başladığında ve kas fonksiyonları bastaki değerlerine döndüğü zaman ortaya çıktığını belirterek, ROT üretimin kas hasarını başlatmaktan sorumlu olmadığını fakat toparlanmada aracı rol oynayabileceğini, ROT'nin dinlenim esnasında birçok fizyolojik işlemde önemli rol oynadığını bildirmişlerdir¹⁰².

2.7.5. Malondialdehit (MDA)

Dokuda oluşan oksidatif hasarı göstermede yaygın olarak kullanılan parametrelerden birisi de MDA değerleridir. MDA lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerden biridir¹⁰³.

Oksijen radikalleri; hücre fonksiyonlarına zarar veren membran peroksidasyonuna ve malondialdehit oluşumuna neden olabilir. Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü MDA'dır. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir^{104,105}.

Malondialdehit (MDA) kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır¹⁰⁶.

Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur^{104,105}.

2.8. Antioksidan Savunma Sistemleri

Oksijenli yaşamla birlikte aerobik organizmalar oksijen kaynaklı radikalleri oluşturmaya başlamışlardır. Bununla eş zamanlı olarak, serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasındaki hassas denge korunmadığı takdirde hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır¹⁰⁷. İnsan organizmasının sistemlerinde antioksidan kapasite ile oksijen tüketimi ve radikal üretim miktarı değerleri eşleşmektedir. Yüksek oksijen tüketimine sahip, karaciğer, beyin, böbrekler yüksek antioksidan enzim aktivitesine sahiptir. İskelet kasları da yüksek oksijen tüketimleri nedeniyle oldukça yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin,

ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Vitamin C, E, A, β -karoten, metallotionin, poliaminler, melatonin, NADPH, adenosin, koenzim Q, ürat, ubikinol, polifenoller, flavonoidler, fitoöstrojenler, sistein, homosistein, taurin, metionin, s-adenozil-L-metionin, resveratrol, nitroksidler, GSH, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksid dismutaz, tioredoksin redüktaz, nitrik oksid sintaz, hem oksijenaz-L ve eozinofil peroksidaz bu gruba girer¹⁰⁸.

Antioksidanların ilk belirlenen etkileri membran yapısında bulunan lipidlerin peroksidasyona karşı korunması olmuştur. Bunun sonucu olarak, başlangıçta antioksidanlar lipid peroksidasyonunu engelleyen moleküller olarak tanımlanmışlardır. Günümüzde ise, antioksidanların tanımı lipidlerin yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi diğer hedef molekülleri koruyucu etkilerini de içerecek şekilde genişletilmiştir. Böylece, antioksidanlar hedef moleküllerdeki oksijen hasarını engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmakta ve bu tanıma bağlı olarak antioksidanların etkileri farklı şekillerde olabilmektedir.

Başlıca antioksidan etki çeşitleri şunlardır:

1. Reaktif oksijen türlerinin enzimsel reaksiyonlar aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesi,
2. Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi,
3. Metal iyonlarının bağlanması ve böylece radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi,
4. Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi¹⁰⁷.

2.8.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanları etki mekanizmalarına ya da organizmadaki lokalizasyonlarına göre sınıflandırmak mümkündür^{109,110}. Organizmada bulundukları yere göre sınıflandırma Tablo 2 ve 3'te gösterilmiştir.

Tablo 2: Hücre içi antioksidanlar¹¹⁰

HÜCRE İÇİ ANTİOKSİDANLAR (ENZİM OLANLAR)	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) katalitik olarak uzaklaştırır.
Katalaz (CAT)	Yüksek konsantrasyonlardaki H_2O_2 'yi giderir.
Glutasyon peroksidaz (GPx)	H_2O_2 düzeyi düşük miktarda ise Gpx tarafından katalizlenir. Ayrıca organik hidroperoksitleri ortamdaki uzaklaştırır
Glutasyon peroksidaz (GSH)	Gpx H_2O_2 , lipid peroksitlerin ortadan kaldırılmasında etkilidir. E vitamini ve semidehidroaskorbat radikalini giderir.
Sitokrom oksidaz (Sit O)	O_2 elektron taşıma zinciri içinde suya indirgenirken elektron kaçaklarını önleyerek O_2 , H_2O_2 , $HO\cdot$, salınımını engeller.

Organizmada hücre dışı sıvıda hücre içi enzim sistemleri bulunmamaktadır. Ancak SOD ve GPx hücre dışında protein şeklinde bulunmakta ve hücre dışı sıvıları ROS ile karşı karşıya kaldığında bu enzimler devreye girmektedir.

Tablo 3. Hücre dışı antioksidanlar¹¹⁰

Hücre Dışı Antioksidanlar (Enzim Olmayanlar)	
Transferrin	Molekül başına iki adet Fe^{3+} bağlar.
Laktoterrin	Düşük pH'da molekül başına iki adet Fe^{3+} 'ü bağlar.
Haptoglobulin	Hemoglobini bağlar.
Hemopeksin	Hem'i bağlar.
Albumin	Bakırı ve Hem'i bağlar, $HOCl$ 'ü temizler.
Seruloplazmin	Ferroksidaz aktivitesini gösterir, bakırın yeniden oksidasyonunda H_2O_2 'i kullanır. Bakır iyonlarını non-spesifik olarak bağlar. $O_2^{\cdot-}$ radikallerini temizler.
EC-SOD	Katalitik olarak süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) uzaklaştırır.
EC-GSHPx	H_2O_2 ve hidroperoksitleri katalitik olarak uzaklaştırır. Plazmada çok az GSHPx bulunur.
Bilirubin	Peroksil radikalini giderir ($< 0.09\mu\text{mol/L}$)
Mukus	$HO\cdot$ radikalini giderir.
Ürat	Radikal giderici ve metal bağlayıcı ($0.08\mu\text{mol/L}$) özelliğe sahiptir.
Glukoz	$HO\cdot$ radikalini giderir ($4- 6\mu\text{mol/L}$).
Askorbik asit	$HO\cdot$ radikalini giderir ($65\mu\text{mol/L}$).
Eritrositler	H_2O_2 'i difüzyon ile $O_2^{\cdot-}$ radikallerini anyon kanalı ile eritrosit içine alır. Burada bulunan SOD ve CAT enzimleri ile uzaklaştırır.

Hücre dışı antioksidanların etki mekanizmaları daha çok katalitik metal iyonlarının uzaklaştırılması şeklindedir. Hücre içinin sulu ortamından farklı olarak membranlar hidrofobiktir. Membranda oluşan radikaller membran lipofilik olduğundan hücre içinde oluşan radikallerden farklıdırlar. Sonuç olarak membranın antioksidan cevabı farklıdır. Örneğin yağda eriyen bir vitamin olan E vitamini membran tabakası dışında kötü bir antioksidan iken membranlar üzerinde bilinen en güçlü hatta en önemli antioksidandır. Tablo 4'te çeşitli membran antioksidanları ve etki mekanizmaları görülmektedir.

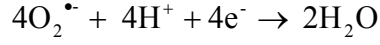
Tablo 4: Hücre membranı antioksidanları¹¹⁰

Membran Antioksidanları	
Vitamin E	Yağda çözünen zincir-kırıcı antioksidan
β-Karoten	Yağda çözünen radikal temizleyicisi ve singlet O ₂ inhibitörü.
Koenzim Q	Enerji metabolizmasındaki ana görevine ek olarak antioksidan özellik gösterebilir.
Membranın yapısal organizasyonu	Fosfolipit/Kolesterol oranı, membran bütünlüğü açısından önemli.

Yoğun veya çok uzun süreli kassal aktiviteler iskelet kas miyositlerindeki DNA, yağlar ve proteinlerde oksidatif hasara yol açabilir. Bu oksidatif strese karşı hücrelerde iki temel antioksidan sistemi savunmaya geçer. Bunlar; süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimatik savunma sistemleri ve E vitamini, A vitamini, glutatyon gibi enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleridir¹¹¹.

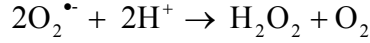
2.8.1.1. Enzim Antioksidan Savunma Sistemleri

Sitokrom Oksidaz; Mitokondrilerde solunum zincirinin en son basamağında yer alan ve bakır içeren bir enzimdir. Solunum zincirindeki görevini sürdürürken süperoksit radikalının suya dönüşümünü de sağlar.



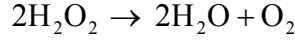
Ancak, süperoksit radikallerinin oluşumu çoğu kez enzimin kapasitesini asar ve diğer enzimlerin devreye girmesiyle süperoksit radikalının zararlı etkileri engellenir¹⁰⁷.

Süperoksit Dismutaz; süperoksit radikaline karşı devreye giren ilk savunma sistemidir. SOD enzimi aşağıdaki reaksiyonu katalizleyerek süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar, böylece hücre içindeki süperoksit radikali düzeylerini azaltır. Süperoksit radikali birçok yükseltgenme reaksiyonunda yan ürün olarak üretilir, ama olasılıkla büyük bir kısmı mitokondrideki elektron taşıma zincirinin bir hatası sonucunda ortaya çıkar. Fakat aerobik hücreler dismutasyon reaksiyonunu katalizleyerek $\text{O}_2^{\bullet-}$ 'i temizleyen ve detoksifiye eden süperoksit dismutazları içerir¹¹¹.



SOD'nin insanlarda iki izoenzimi vardır. Bunlar, sitozolde bulunan dimerik yapıdaki bakır ve çinko içeren Cu,Zn-SOD ile mitokondrilerde bulunan tetramer yapıdaki Mn içeren Mn-SOD'dir. Bu iki enzimden Cu,Zn-SOD siyanürle inhibe olurken, Mn-SOD siyanürden etkilenmez. SOD'nin fizyolojik görevi süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazladır. Buna karşılık ekstraselüler sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür. SOD izformlarının dağılımı dokudan dokuya değişiklik göstermektedir. İskelet kasında toplam SOD aktivitesinin %15-35'i mitokondrilerde gerçekleşirken geri kalanı sitozolde gerçekleşir^{107,111}.

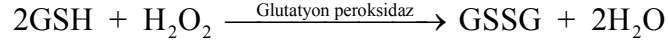
Katalaz enzimi hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler, hidrojen peroksit toksik bir maddedir, fakat peroksiti suya ve moleküler oksijene (O₂) parçalayan bir enzim olan katalazın aktivitesiyle konsantrasyonu çok düşük tutulmaktadır.



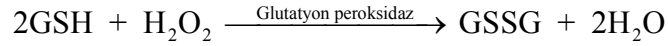
Enzim peroksizomlarda lokalize olmuştur ve yapısında dört tane hem grubu bulunur. Peroksidaz aktivitesi de vardır ve hidrojen peroksit gibi küçük moleküllere etki ederken, lipid hidroperoksidlerine etki etmez¹⁰³. SOD ve GPx gibi, katalaz aktivitesinin en yüksek olarak görüldüğü kaslar yüksek oksidatif kapasiteye sahip Tip-I kasları ve en düşük aktiviteye sahip olduğu kaslar da yüksek oranda Tip-II lifleri içeren kaslardır¹¹¹.

Peroksidaz (POD); Peroksidaz (POD, E.C: 1.11.1.7), hidrojen atomlarını vermek eğiliminde olan bileşikler ile bu atomları alıcı durumunda olan H₂O₂ bileşiği arasındaki reaksiyonu katalizleyen bir oksidoredüktazdır. POD, hidrojen peroksiti kullanarak organik ve inorganik substratların oksidasyonunu katalizlerken, fenoller, hidrokinonlar, hidrokinonid aminler gibi çok sayıda aromatik bileşiklerin dehidrogenasyonunu da katalizler. Bu moleküller arasında 2-kresol, 2-toluidin, guaiakol, pirogallol, lökomalaşit yeşili, 4,4'-diaminodifenilamin, propionil promozin, benzidin, o-tolidin, di-o-anisidin ve bazı azo boya türevleri sayılabilir¹¹².

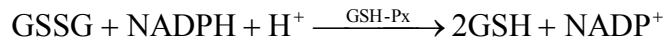
Canlılarda görev yapan farklı peroksidaz enzimleri vardır. Peroksidaz enzimlerinin en önemlilerinden biri olan glutatyon peroksidazın önceleri sadece hayvanlarda yaygın olarak bulunduğu kabul edilirken, yakın dönemlerde yapılan çalışmalar bitkilerde de H₂O₂ giderilmesi için glutatyon peroksidazın görev yaptığını göstermiştir. Substratı glutatyon olan bu enzim aneoroplarda bulunmaz¹¹².



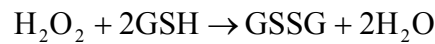
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px); sitozolde yerleşik bir enzimdir, tetramer yapısındadır, dört selenyum atomu içerir. GSH-Px aşağıdaki reaksiyonları katalizleyerek, hidrojen peroksitin ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini sağlar.



GSH-Px'in iki substratı vardır. Substratlarından biri olan peroksitler alkolle indirgenirken, diğer substrat olan glutasyon (GSH) yükseltgenir. Oluşan yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyona dönüşür. Glutasyonun okside formu (GSSG) disülfüt bağıyla bağlanmış iki glutasyon molekülü içerir. Bu tepkimeyi glutasyon peroksidaz katalizler^{107,111,113}.



Yapısı ve fonksiyonları çok yakın zamanda aydınlatılabilmiş olan bir diğer GSH-Px, “fosfolipit-hidroperoksit glutasyon peroksidaz” enzimidir. Bu enzim de selenyum içerir, ancak monomerik yapıdadır. Zar yapısındaki fosfolipit hidroperoksitlerini alkollere indirgeyerek özellikle E vitamininin yetersiz olduğu durumlarda peroksidasyona karşı korunma sağlar.



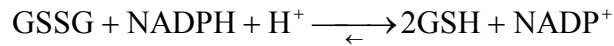


Glutasyon peroksidaz Tip-I liflerinde en yüksek aktivitelerini gösterirler ve hücre içindeki aktiviteleri %45 sitozol,%55 mitokondride gerçekleşir^{107,111}.

Glutasyon Redüktaz

Glutasyon (γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine; GSH) çok sayıda önemli fonksiyona sahiptir. Ksenobiyotiklerin toksinlerini gidermek için gerekli olan bir antioksidandır ve izomerizasyon reaksiyonlarda bir ko faktör olarak çalışır¹¹⁴.

Glutasyon proteinlerin yıkımı ve sentezinde enzimlerin düzenlenmesinde DNA'nın (deoksiribonukleik asit) oluşumunda ve reaktif oksijen türleri ve serbest radikallere karşı hücrenin korunmasında önemli bir role sahiptir. Glutasyon redüktaz NADPH'nın kullanımında okside glutathyonun (GSSG) indirgenmesini kataliz eder.



Enzim [GSH]/[GSSG]'yı yüksek bir oranda tutarak protein ve DNA biosentezine ilaveten reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerini gidermek gibi bir çok hayati hücresel fonksiyonları yürütür ¹¹⁵.Azalmış glutasyon seviyesi kazanılmış bağışıklık sendrom açığı, Parkinson hastalığı ve diyabet gibi bir çok hastalıkda da rapor edilmiştir. Eritrositlerde GSH'ın temel rolü eritrosit membranının sulfhydryl gruplarının bütünlüğünü koruyarak, kırmızı kan hücrelerinde Ksenobiyotiklerin ve reaktif oksijen türlerinin toksinlerini gidererek hemoglobinin doğal yapısının bozulmasını önlemektir¹¹⁶.Glutasyon redüktaz farklı saflaştırma prosedürleri kullanılarak

eritrositlerden saflaştırılmıştır. Bütün saflaştırma prosedürleri bir çok kromatografik basamaklar gerektirir^{117,118}.

2.8.1.2. Non-Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri

Askorbik asit: Suda çözünen vitaminlerdendir. İnsanlarda sentezlenemediğinden diyetle alınması gerekir. Doku yapımında, amino asit metabolizmasından ve hormon sentezinde önemli rol oynar. Isıtmaya dayanıksız, dondurulmaya dayanıklıdır. Dokularda ve plazmada askorbat iyonu şeklinde bulunur. En yüksek askorbat içeren dokular timus, adrenal bez ve korpus luteumdur. Askorbik asit güçlü bir antioksidandır, süperoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sulu fazda bulunmasına karşın lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek lipidleri ve zarları da oksidan hasara karşı korur¹⁰⁷.

Glutasyon (GSH): başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeyde bulunan ve glutamat, sistein ve glisinden sentezlenebilen bir tripeptiddir. Bitkilerde, hayvanlarda ve bazı bakterilerde genellikle yüksek düzeyde bulunur ve redoks tamponu olarak düşünülebilir. Önemli bir suda çözünür antioksidan ve indirgeyici ajandır. Glutasyonun pek çok metabolik görevi vardır. GSH peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz gibi enzimlerin substratı veya ko-substratıdır. Glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korur. Ayrıca, protein yapısındaki sülfhidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. Amino asitlerin membrandan transportunu sağlar. Hemoglobinin methemoglobine dönüşmesini önler. İndirgenmiş glutasyon (GSH) çeşitli reaksiyonlarda yükseltgenerek, yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) dönüşür. GSSG'nin tekrar indirgenmesi NADPH'nin de

kullanıldığı bir reaksiyonla olur. Bu şekilde dokularda GSH/ GSSG oranı yüksek tutulur(>100/1)^{107,113}.

Vitamin E: α-Tokoferol (Vitamin E): Çok güçlü bir antioksidandır. Hücre zarında bulunan poliansatüre yağ asitlerini, serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur¹¹⁹. Vitamin E, zincir kırıcı antioksidan olarak görev alır ve serbest radikalleri etkisiz hale getirir. Tokoferolun antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir ve bundan dolayı en yüksek oksijen kısmi basınçlarına maruz kalan lipid yapılarında, örneğin; eritrosit membranları ve solunum sistemi membranında yoğunlaşma eğilimi gösterir. E vitamini, hücre ve subsellüler yapıların membran lipidleri üzerindeki etkisi nedeniyle bu membranları oksidatif zedelenmeye karşı korur. Böylece eritrosit membranının stabilitesini artırır; aynı etkiyi diğer hücrelerde de gösterir¹²⁰.

Melatonin: En zararlı radikallerden hidroksil radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Melatoninin hidroksil radikali ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüştüğü ve bu radikalin de süperoksit radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Melatoninin bir diğer önemli özelliği lipofilik olmasıdır. Böylece hücrenin bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin engelini de kolayca geçer. Bu nedenle çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatoninin çok yüksek dozlarda ve uzun süre kullanımında bile toksik etkisi gözlenmemiştir. Ayrıca, bazı antioksidanlar gibi pro-oksidan aktivitesi de yoktur. DNA hasarının melatonin tarafından çok etkili bir şekilde inhibe edildiği gösterilmiştir. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi azalır. Bu durumun yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogenezinde önemli olabileceği düşünülmektedir¹⁰⁷.

2.8.2. Düzenli Egzersizde Antioksidan Savunma

Düzenli egzersiz, akut egzersizin yol açtığı oksidatif stresi azaltmak için adaptasyona neden olabilir. Antrenmana cevap olarak antioksidan enzim aktivitesinin artması, sistemin reaktif oksijen ve nitrojen türlerine (RONS) karşı korumayı kolaylaştırmak için antioksidan oluşturma ihtiyacından doğar. Çok hafif egzersiz adaptasyon sağlamada başarısız olur, çünkü oluşan RONS antioksidan savunma sistemi tarafından yeterince elimine edilir. Yeterli şiddet ve sürede tekrarlanan egzersizlerin biriken etkilerinin sonucunda adaptasyon gerçekleşir. Özetle, aerobik antrenmanlar egzersizin neden olduğu oksidatif stresi baskılamaya ilaveten antioksidan üretimini de uyarır¹²¹. Düzenli antrenmanın, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırmak suretiyle oksidatif stresin zararlı etkilerini ortadan kaldırdığı gösterilmiş, bu upregülasyonun, antioksidan enzimlerin mitokondriyal biyosentezini uyaran serbest radikal miktarındaki artışın sonucu olduğu ileri sürülmüştür¹²². Bir diğer araştırmada antrenmanın neden olduğu antioksidan enzimlerdeki artışın kasa özgü olduğunu bulmuşlar, yüksek ve orta şiddetteki antrenmanın ventrikül kasındaki süperoksit dismutaz aktivitesini artırdığı gösterilmiştir¹²³.

İki temel antioksidan enzim olan mitokondriyal süperoksit dismutaz ve sitozolik glutatyon peroksidaz aktivitesi antrenman yapan hayvanlarda yapmayanlara göre önemli ölçüde yüksek bulunmuş, katalaz ve sitozolik süperoksit dismutazda ise küçük bir farklılık gözlenmiştir¹²⁴. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada şiddete ilave olarak antrenman hacminin de antioksidan enzim aktivitelerinin adaptasyonunda önemli olduğunu göstermişlerdir¹²⁵. Sporcularda 90 günlük antioksidan takviyesinin submaksimal testten sonra lenfosit katalaz aktivitesinde belirgin adaptasyona neden olduğu bulunmuştur¹²⁶.

Antrenmanlı denekler sedanter bireylerden daha yüksek eritrosit antioksidan enzim aktivitesi gösterirler¹²⁷. Başlangıç antrenman durumu, antrenman protokolü ve sporcunun beslenme durumu gibi birçok faktörün bazal eritrosit antioksidan enzim aktivitelerini etkilediği bilinmektedir¹²⁶. 6,5 hafta kronik treadmill egzersizinden sonra sıçanların beyin TBARS seviyelerinde önemli bir değişiklik gözlenmezken antrenman periyodu esnasında C vitamini takviyesi yapılan sıçanlarda beyin TBARS seviyelerinin yükseldiği gözlenmiştir¹²⁸. Sıçanlarda 8 haftalık koşu egzersizinin yavaş kas liflerinde MDA, protein karbonil ve ubikinon seviyelerini artırıp glutamin sentetaz aktivitesini ve askorbik asit seviyelerini azalttığı, hızlı kas liflerinde MDA seviyesini ve glutamin sentetaz aktivitesini artırırken askorbik asit ve α -tokoferol seviyelerini azalttığı, kalpte MDA seviyesini artırdığı, karaciğerde protein karbonil, sistein ve sistin seviyelerini, glutamin sentetaz aktivitesini azalttığı, beyinde askorbik asit seviyesi artarken MDA seviyesini azalttığı gözlenmiştir¹²⁹. Kütle başına oksijen tüketimi ve oksidan oluşumu en fazla organ olan kalp, karaciğere kıyasla 4 kat daha az SOD aktivitesine sahiptir ve katalaz aktivitesi de düşüktür¹³⁰. Bilim adamları doymamış yağ içeren diyetin yüzme egzersizinden sonra sadece karaciğerdeki lipid peroksidasyonunu biraz arttığını, düzenli egzersiz yaptırılan sıçanların kaslarında bu artışın daha az olduğunu göstermişlerdir¹³¹.

2.8.3. Egzersiz ve Antioksidan Savunma Sistemi

Düzenli egzersizlerin, iskelet kasında hem antioksidan savunmayı hem de oksidatif kapasiteyi geliştirerek, oksidatif hasarın neden olduğu hastalık türlerini azalttığı, genel hayat kalitesini yükselttiği ve ömrü uzattığı belirtilmektedir^{132,133,134,135}. Dayanıklılık antrenmanları aynı zamanda, enzimatik antioksidan aktivitesinde veya enzimatik olmayan antioksidan konsantrasyonlarında bazı değişikliklere yol açar. Pek çok

Çalışma, hem insanlar hem de hayvanlarda, aerobik egzersizden sonra dokularda veya kanda antioksidan enzim aktivitesinin (SOD, GPx, CAT) arttığını gstermiştir^{136,137,138}. Enzimatik olmayan antioksidan konsantrasyonlarındaki değişiklikler ise çoğu kez çelişkilidir. Örneğin bazı çalışmalarda GSH veya GSH/GSSG'in egzersiz esnasında serbest radikallere karsı kullanımı nedeniyle düştüğü ileri srlrken^{139,140,141}, Vitamin E, C ve ürik asitin dayanıklılık antrenmanından sonra artma egiliminde olduğu belirtilmistir^{93,142}. Kronik egzersiz, çift yönlü etkilere sahiptir; bir taraftan oksidan oluşumu ve oksidatif stresle sonuçlanırken, diğer taraftan egzersizin neden olduğu oksidatif stresin etkilerini en aza indirmek için antioksidan enzimleri harekete geirmektedir^{143,144}.

3. MATERYAL METOT

3.1. Çalışma Grupları

Bu çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Hayvan Araştırma Merkezinden (FÜDDAM) temin edilen 48 adet, 250-300g ağırlığında 4-6 aylık Sprague Dawley erkek rat kullanıldı. Uygulama Atatürk Üniversitesi Deneysel Hayvan Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiş olup, çalışma protokolü Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AÜHADYEK) tarafından onaylanmıştır.

Ratlar 6'şar gruplu kafeslerde 24⁰C oda da 12 saatlik gece–gündüz siklusuna uygun olarak günlük yiyecek ve su kontrolü sağlanarak barındırıldı.

Çalışmada ratlar eşit sayıda 8 gruba ayrıldı:

Grup 1: 10°C ± 2 E (10°C Laboratuvar ortamında (n=6) 4 hafta haftada 6 gün egzersiz programına tabi tutulan grup.

Grup 2: 23°C ± 2 E (23°C Laboratuvar ortamında (n=6) 4 hafta haftada 6 gün egzersiz programına tabi tutulan grup.

Grup 3: 37°C ± 2 E (37°C Laboratuvar ortamında (n=6) 4 hafta haftada 6 gün egzersiz programına tabi tutulan grup.

Grup 4: 10°C ± 2 ME (10°C Laboratuvar ortamında (n=6) 4 hafta haftada 6 gün egzersiz programına tabi tutulan ve 4 hafta süre ile intraperitoneal (i.p) (5mg/kg/gün) yolla melatonin uygulanan grup.

Grup 5: 23°C ± 2 ME (23°C Laboratuvar ortamında (n=6) 4 hafta haftada 6 gün egzersiz programına tabi tutulan ve 4 hafta süre ile intraperitoneal (i.p) (5mg/kg/gün) yolla melatonin uygulanan grup.

Grup 6: $37^{\circ}\text{C} \pm 2$ ME (37°C Laboratuvar ortamında (n=6) 4 hafta haftada 6 gün egzersiz programına tabi tutulan ve 4 hafta süre ile intraperitoneal (i.p) (5mg/kg/gün) yolla melatonin uygulanan grup.

Grup 7: $23^{\circ}\text{C} \pm 2$ MS (23°C Melatonin uygulanan egzersiz yaptırılmayan sedanter grup) (n=6) 4 hafta süre ile intraperitoneal (i.p) (5mg/kg/gün) melatonin uygulanan kontrol grubu.

Grup 8: $23^{\circ}\text{C} \pm 2$ S (23°C Uygulama yapılmayan sedanter grup (n=6) hiç bir uygulamanın yapılmadığı kontrol grubu.

3.2. Melatonin Preparatının Hazırlanması

Kullanılan Melatonin sigma firmasından 1g 'lık toz prepatı halinde temin edilmiştir. Melatonin %0,5 etanol içinde çözüldükten sonra, %0,5 oranında %0,9'luk sodyum klorür eklenerek bütün melatonin uygulanan gruplar için 50ml'lik çözelti halinde hazırlandı¹⁴⁵. Egzersizden ve karanlığın başlamasından 1–1,5 saat önce 5mg/kg.gün'lük dozlar halinde 4 hafta süresince intraperitoneal (i.p) yolla verildi¹⁴⁶.

3.3. Deneklerden Kan Örneklerinin Alınması

Tüm denek gruplarından 4 haftalık yoğun egzersiz programından sonra, egzersiz grupları egzersizden hemen sonra, melatonin kontrol grubu melatonin uygulandıktan 1-1,5 sonra, sedanter grup hiçbir uygulama yapılmadan anestezi ile (desfluran), bayıltılarak karın bölgesi açılıp V. cava inferior bölgesinden 5-7 ml kan alındı.

Kan örnekleri normal biyokimya ve ETDA'lı tüplerine alındı. ETDA'lı tüplere alınan numuneler 3-5 kez alt-üst çevrilerek, 3500rpm'de santrifuj edildi. 24 saat içinde analizleri yapıldı.

3.4. Hemolizatın Hazırlanması

Farelerden alınan kandan hemolizat eldesi şu prosedüre göre yapılmıştır. Eritrositleri ayırmak için alınan kanlar 10 ml'lik tüplere konuldu ve 15 dakika santrifüj edildi. Tüplerin üst kısmında klalan plazma ve lökosit tabakaları damlalıkla dikkatli bir şekilde alınarak ayrıldı. Daha sonra eritrositler %0,9 NaCl çözeltisi ile iki defa yıkandı. Bu işlemler sonucu eritrositler hacimce %45'lik bir verimle elde edildi. Eritrositler hacimlerini yaklaşık 1,5 katı 0°C'deki destile su ile kuvvetli bir şekilde çalkalanılarak hemoliz edildi. Hemolizatlar 0°C'de 1000 rpm'de yarı saat süre ile santrifuj edilerek eritrosit zarları çöktürülerek uzaklaştırıldı. +4°C'de analizin yapılana kadar saklandı¹⁴⁷.

3.5. Siyanmethemoglobin Yöntemiyle Hemoglobinin Miktarının Belirlenmesi

Hemolizatlardaki hemoglobin konsantrasyonu, siyanmethemoglobin metoduna göre yapıldı¹⁴⁷. Siyanmethemoglobin yönteminin prensibi hemoglobin molekülündeki Fe^{2+} ile ferrosiyanürü 3+ değere yükseltgenerek potasyum siyanür ile kararlı siyanmethemoglobine dönüşür. Oluşan siyanomethemoglobin bileşiğinin 540 nm'de verdiği transmittans ölçülerek hemoglobin miktarı belirlenmektedir.

Bu amaçla 5 ml Drabkin çözeltisi bulunan tüpe 20 µl hemolizat ilave edildi. Tüp içeriği vortex ile karıştırılarak oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.

Spektrofotometrede 540 nm'de transmittansı okunarak daha önce hazırlanan standart eğriden hemoglobin miktarı g/ml hemolizat cinsinden bulundu.

3.6. Biyokimyasal Analizler

- Superoksit Dismutaz (Spektrofotometre ile)
- Malondialdehit (HPLC ile)
- Katalaz (Spektrofotometre ile)
- Peroksidaz (Spektrofotometre ile)
- Glutasyon Redüktaz (Spektrofotometre ile)

3.6.1. Superoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini

Enzimatik reaksiyonlarla üretilen $O_2^{\cdot-}$ radikalinin reaksiyon ortamında nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgemesinin numunede bulunan SOD enzimi tarafından engellenmesi prensibine dayanır¹⁴⁸ NBT'nin indirgenmesi ile 560 nm dalga boyunda maksimum absorbands veren mor renkli formazan oluşur. SOD aktivitesinin büyüklüğü oluşan formazanın absorbandsıyla ters orantılıdır.

Kullanılan reaktifler: Deney reaktifi (Ksantin, 0,3 mM, EDTA, 0,6 mM NBT, 150 μ M Na_2CO_3 , 0,4 M BSA, 1g/L), ksantin oksidaz, $(NH_4)_2SO_4$ 2M).

Deneyin Yapılışı: -83°C'den alınan serum numuneleri önce -20°C ye sonra +4°C ye alınarak yavaş yavaş çözülmesi sağlandı. Sun ve arkadaşlarının metoduyla SOD tayini yapıldı. Deneyin yapılışı aşağıda verilmiştir.

	Kör tüpü (ml)	Numune tüpü (ml)
Assay reaktifi	2,450	2,450
Numune	-	0,5
Bidistile su	0,5	-
Ksantin oksidaz	0,05	0,05

Deney tüpleri birer dakika arayla inkübasyona bırakıldı ve inkübasyon sonunda renkli bileşiğin absorbanısı 560 nm dalga boyunda tesbit edildi.

Hesaplamalar:

Enzim ünitesi; inkübasyon esnasında NBT'nin redüksiyon hızındaki %50'lik inhibisyon 1 SOD enzim ünitesi olarak ifade edilir. Aktivite aşağıda verilen formüle göre hesaplanır.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \frac{\lambda_{560}(\text{kör}) - \lambda_{560}(\text{numune})}{\lambda_{560}(\text{kör})} \times 100$$

$$\text{Enzim Aktivitesi (EU/ml)} = \frac{\text{İnhibisyon(\%)} }{50} \times \text{Numune Hacmi (ml)}$$

3.6.2. Malondialdehit (MDA) Aktivite Tayini

Kan plazma örneklerindeki MDA konsantrasyonu fluorescent detection (HPLC-FLD) olarak tanımlanan yüksek performanslı sıvı kromatografi ile ölçüldü. 50µL' lik plazma örneği (0,44 M) H₃PO₄ ve (42 mM) tiobarbitürik asitle karıştırıldı. Kaynayan su içerisinde 30 dakika bekletildi. Buz ile hızlı bir şekilde soğutulduktan sonra eşit hacimde alkalin metanol eklendikten sonra 3 dakika 3000 rpm'de santrifurujlendi. Sulu tabaka ayrıştırıldı.

Daha sonra 20 µL çökelti HPLC (HP, Agilent 1100 moduler systems with FLD detector, Almanya) ile analiz edildi: Kolon; RP-C18 (5 µm, 4,6 x 150 mm, Eclipse VDB- C18. Agilent) ayrışma, 50 mM KH₂PO₄, tampon (pH: 6.8), içeren metanol (40:60, v/v), akım hızı 0.8 mL/dak. Fluorimetrik belirleme 551 nm'de bir emisyon, 527 nm'de uyarımla yapıldı. MDA-TBA pik'i idrar ve plazma daki gibi tamamen aynı standart solusyondaki bir 1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP) ile kalibre edildi¹⁴⁹.

3.6.3. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini

Peroksidaz aktivitesi Shannon ve ark.'nın (1996) metodu ile ölçüldü. Buna göre 25 mL hemolizat, 1 mL, 0,1 M'lik potasyum fosfat tamponu (pH: 6.0) içine alındı. Daha sonra 1 mL ABTS'e eklendi. Reaksiyon 1 mL ve 3,2 M H₂O₂ eklenmesi ile başlatıldı. Absorbansdaki değişim 2 dakika içinde 15 saniye aralıklarla 470 nm'de kaydedildi. 0,01'lik absorbans artışına sebep olan enzim miktarı bir Enzim Ünitesi (EU) olarak kabul edildi. Enzim aktivitesi, EU/dk.gHb olarak ifade edildi¹⁵⁰.

3.6.4. Peroksidaz (POD) Aktivite Tayini

Peroksidaz aktivitesi Shannon ve arkadaşlarının (1996) metodu ile ölçüldü. Buna göre 0,1 ml haemolysate, 1,7 ml 0,05 M potasyum fosfat tamponu (pH: 7,3) içine alındı. Daha sonra 0,5 mL ABTS'e eklendi. Reaksiyon 0,2 ml 0,2 M H₂O₂ eklenmesi ile başlatıldı. Absorbansdaki değişim 2 dakika boyunca 15 saniye aralıklarla 470 nm'de kaydedildi. 0,01'lik absorbans artışına sebep olan enzim miktarı bir Enzim Ünitesi (EU) olarak kabul edildi. Enzim aktivitesi, EU/dk.gHb olarak ifade edildi¹⁵¹.

3.6.5. Glutasyon Redüktaz Aktivite Tayini

Glutasyon redüktaz enzim aktivitesi, Goldberg and Spooner (1983) metodu ile ölçüldü¹⁵². 30 mL hemolizat, 0,8 mL 50 mM Tris-HCl tamponu (pH: 7.3), 0.1 mL 1 mM EDTA ve 0.1 mL 20 mM okside glutasyon (GSSG) eklendi. 3 dakika sonra 0,05 mL 2 mM NADPH ve 70 ml eklendi ve karıştırıldı. Absorbans 15 saniye aralıklarla 340 nm'de kaydedildi. Bir enzim ünitesi (EU); 25°C'de ve pH: 8,0'de bir dakikada 1 µmol NADPH'ın oksidasyonunu sağlayan enzim miktarıdır.

3.7. Egzersiz Protokolü

Deney grubundaki egzersiz ve melatonin egzersiz gruplarına (n=36) 5 hafta süresince aynı egzersiz programı uygulandı. Deney sırasında dijital termometre (GEMO; mikro işlemci tabanlı PID sıcaklık kontrol cihazı) kullanıldı.

Uyum Antrenmanı: Başlangıçta ratların uyum sağlaması için 1 hafta boyunca 20 m/dk hızla ve 10–15 dk. Süreyle treadmillde (may tme 9805 treadmill exerciser, Commat Ltd., Ankara), egzersiz yaptırıldı. Uyum antrenmanı 23°C deki (ratlar için uygun oda sıcaklığı) laboratuvar sıcaklığında yapıldı.

Kademeli yüklenme antrenmanı: Çalışma 4 hafta süresince ve haftada 6 gün uygulandı. Her antrenman gününde egzersizden önce laboratuvar sıcaklıkları egzersiz grup sıcaklıklarına göre ısıtılıp soğutuldu (10, 23 ve 37°C).

Birinci hafta	Süre: 30 dk Hız: (23 m/dk)
İkinci hafta	Süre: 40dk Hız: (23m/dk)
Üçüncü hafta	Süre: 50 dk Hız: (25m/dk, %2 eğim)
Dördüncü hafta	Süre: 60dk Hız: (25m/dk, %2 eğim)

3.8. Sıcaklıkların Belirlenmesi

Amerikan Sağlık Birliği (AHA), normal vücut sıcaklığı sınırlarını 36,5–37,2°C olarak kabul etmiştir. Çıplak bir kişi kuru havada 12,5-55°C arasındaki hava sıcaklıklarında vücut iç ısını sabit tutabilir⁶⁹. Vücudun ısıyı hissetmesi havanın ısısına, nem oranına ve rüzgârın hızına

bağılıdır⁷⁵. Egzersiz esnasında vücut metabolizması 20-25 kat artar. Isı kaybı mekanizmaları (radyasyon, kondüksiyon, konveksiyon ve evaporasyon) devreye girmezse vücut iç ısı, her 5 dakikada 1-1,8°C artar ve 75-90 Kcal'lık bir ısı üretimi olur^{72,73,80}. Bu çalışmada ortam sıcaklıkları normal insanların ve ratların yaşadığı oda sıcaklıkları (22-23°C baz alınarak yapıldı. Ortamdaki nem oranı da göz önünde bulundurularak 10°C hipotermik 37°C hipertermik olarak kabul edildi. Bu dereceleri altında ve üstüdeki oda sıcaklıklarında ratların zorlandığı yapılan ön çalışmalarla tespit edildi. Ratlarda +4°C'ye kadar ısı toleransı yapılabilmekte.

3.9. İstatistiksel Değerlendirmeler

Verilerin hesaplanmasında SPSS 15.0 istatistik paket programı uygulandı. Tanımlayıcı istatistik olarak verilerin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak verildi. Verilere normallik sınaması yapıldı. Gruplar arası ikili karşılaştırmalar için independent samples *t*-testi uygulandı. Gruplar arası ilişki One-way Anova analizi sonucu farklılık bulunan verilerin derecelerini belirlemek için Duncan testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Uzun süre farklı oda sıcaklıklarında egzersiz yaptırılan ratlarda melatolinin ve çevresel (soğuk-sıcak) stresinin serbest radikal ve antioksidan düzeylerine etkisinin belirlenmesinin amaçlandığı çalışmada aşağıdaki veriler elde edilmiştir.

Tablo 5. 10°C Egzersiz ve 10°C Melatonin uygulanan egzersiz gruplarının MDA, SOD, GR, POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.

Parametreler	10°C Egzersiz grubu (10E, n=6)	10°C Melatonin Egzersiz grubu (10ME, n=6)	t	P
MDA (nmol/ml)	0,78 ± 0,13	0,81 ± 0,12	-0,309	P>0,05
SOD(EU/ml)	10,40 ± 1,74	9,12 ± 2,56	0,926	P>0,05
GR(EU/gHb)	0,39 ± 0,08*	0,27 ± 0,07	2,306	P<0,05
POD(EU/gHb)	1,83 ± 0,32	2,00 ± 0,32	-0,834	P>0,05
CAT(EU/gHb)	274,84 ± 42,44	249,56 ± 62,85	0,745	P>0,05

(*) Aynı satırda birinci ve ikinci ölçümler arasında istatistiksel farklılık olduğunu gösterir.

10°C egzersiz grubunun 4 haftalık uzun süreli egzersizden sonra ölçülen kan GR düzeyleri 10°C Melatonin uygulanan Egzersiz grubuna göre önemli şekilde büyüktür (P<0,05), her iki grup arasında MDA, SOD, POD ve CAT' de önemli değişiklik görülmemiştir (Tablo 5).

Tablo 6. 23°C Egzersiz ve 23°C Melatonin uygulanan egzersiz gruplarının MDA, SOD, GR, POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.

Parametreler	23°C Egzersiz grubu (23E, n=6)	23°C Melatonin Egzersiz grubu (23ME, n=6)	t	P
MDA (nmol/ml)	0,45±0,08*	0,26±0,13	2,931	P<0,05
SOD(EU/ml)	6,56±0,77	8,26±1,06*	-3,054	P<0,05
GR(EU/gHb)	0,33±0,04*	0,25±0,05	2,634	P<0,05
POD(EU/gHb)	1,83±0,33	1,70±0,36	0,582	P>0,05
CAT(EU/gHb)	225,05±13,21	198,80±48,30	1,284	P>0,05

(*) Aynı satırda birinci ve ikinci ölçümler arasında istatistiksel farklılık olduğunu gösterir.

23°C egzersiz grubunun ölçülen serum MDA, kan GR düzeyleri 23°C Melatonin uygulanan egzersiz grubuna göre önemli derecede büyüktür ($P<0,05$), her iki grup arasında ölçülen serum SOD düzeyi 23°C melatonin egzersiz grubuna göre küçüktür ($P<0,05$), her iki grup arasında POD ve CAT'de önemli değişiklik görülmemiştir (Tablo 6).

Tablo 7. 37°C Egzersiz ve 37°C Melatonin uygulanan egzersiz gruplarının SOD, MDA, GR, POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.

Parametreler	37 °C Egzersiz Grubu (37E, n=6)	37 °C Melatonin Egzersiz Grubu (37ME, n=6)	t	P
MDA (nmol/ml)	0,29±0,06	0,45±0,09*	-3,014	P< 0,05
SOD(EU/ml)	5,33±0,79	7,66±2,40	-1,841	P> 0,05
GR(EU/gHb)	0,30±0,05	0,23±0,04	2,058	P> 0,05
POD(EU/gHb)	1,99±0,34	1,86±0,24	0,711	P> 0,05
CAT(EU/gHb)	239,57±34,66	217,59±29,20	1,143	P> 0,05

(*) Aynı satırda birinci ve ikinci ölçümler arasında istatistiksel farklılık olduğunu gösterir

37°C egzersiz grubunun serum MDA düzeyleri, 37°C melatonin egzersiz grubuna göre önemli derecede küçüktür ($P<0,05$), her iki grup arasında ölçülen SOD, GR, POD ve CAT'de önemli değişiklik görülmemiştir (Tablo 7).

Tablo 8. 10, 23 ve 37°C Egzersiz gruplarının MDA düzeylerinin karşılaştırılması (ANOVA, DUNCAN).

Parametre	Grup	N	X ± SD	F	P	Duncan Testi
MDA (nmol/ml)	10°C	6	0,78 ± 13	28,564	0,000**	A*
	23°C	6	0,45 ± 0,08			B*
	37°C	6	0,29 ± 0,06			C*
Sütunda değişik harflerle simgeleme (A,B,C) gruplar arasındaki farklılığı istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterir. **(P< 0,001)						

Tablo 9. 10, 23 ve 37°C Melatonin uygulanan egzersiz gruplarının MDA, düzeylerinin karşılaştırılması.

Parametre	Grup	N	X ± SD	F	P	Duncan Testi
MDA (nmol/ml)	10°C	6	0,81 ± 0,12	29,333	0,000**	A*
	23°C	6	0,26 ± 0,13			C*
	37°C	6	0,45 ± 0,09			B*
Sütunda değişik harflerle simgeleme (A,B,C) gruplar arasındaki farklılığı istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterir. **(P< 0,001)						

Üç egzersiz grubu arasındaki MDA düzeyi 10°C, 23°C ve 37°C egzersiz arasında önemli derecede anlamlılık göstermiştir (P<0,001, Tablo 8). Melatonin verilen üç farklı sıcaklıktaki egzersizde ise, 10°C MDA düzeyi sırasıyla, 37 ve 23 °C den anlamlı olarak büyük, 37°C ise, 23°C'den anlamlı derecede büyüktür (P<0,001, Tablo 9).

Tablo 10. Bütün grupların [Egzersiz (E), Melatonin egzersiz (ME), Sedanter (S), Melatonin sedanter (MS)] MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Grup	MDA				
	N	X±SD	F	P	Duncan Testi
10 °C (E)	6	0,78 ± 13	24,062	0,000**	C*
23 °C (E)	6	0,45 ± 0,08			B*
37 °C (E)	6	0,29 ± 0,06			A*
10 °C (EM)	6	0,81 ± 0,12			C*
23 °C (EM)	6	0,26 ± 0,13			A*
37 °C (EM)	6	0,45 ± 0,09			B*
23 °C (S)	6	0,31 ± 0,11			A*
23 °C (MS)	6	0,35 ± 0,16			AB*
Sütunda değişik harflerle simgeleme (A,B,C) gruplar arasındaki farklılığı istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterir. **(P< 0,001)					

37°C (E), 23°C (EM), 23°C (S), 23°C(MS) grupları arasında MDA düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmazken bu grupların MDA düzeyi diğer gruplardan anlamlı olarak azalmıştır. 23°C (E), 37°C (EM), 23 °C (MS) MDA değerleri açısından benzerlik göstermektedir. 10°C (E) ve 10°C (EM) grupları MDA düzeyi arasında önemli farklılık görülmezken, bu

iki grup diğer tüm grupların MDA düzeyleri açısından anlamlı olarak büyüktür ($P<0,001$, Tablo 10).

Tablo11. 10, 23 ve 37°C Egzersiz gruplarının SOD düzeylerinin karşılaştırılması (ANOVA, DUNCAN).

Parametre	Grup	N	X ± SD	F	P	Duncan Testi
SOD (EU/ml)	10°C	6	10,4 ± 1,73	23,408	0,000**	A*
	23°C	6	6,56 ± 0,77			B*
	37°C	6	5,33 ± 0,79			B*
Sütunda değişik harflerle simgeleme (A,B) gruplar arasındaki farklılığı istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterir. **(P< 0,001)						

23 ve 37°C egzersiz grubunun serum SOD düzeyleri aynı iken, her iki grubun SOD düzeyi 10°C egzersiz grubundan önemli derecede küçüktür ($P<0,001$, Tablo 11). Melatonin uygulanan üç sıcaklık grubunda ise önemli fark bulunmamıştır (Tablo 12).

Tablo 12. 10, 23 ve 37°C Melatonin uygulanan egzersiz gruplarının SOD, düzeylerinin karşılaştırılması.

Parametre	Grup	N	X ± SD	F	P	Duncan Testi
SOD (EU/ml)	10°C	6	9,12 ± 2,56	0,629	0,549	A*
	23°C	6	8,26 ± 1,06			A*
	37°C	6	7,66 ± 2,40			A*
Sütunda aynı harflerle simgeleme (A) gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterir. (P> 0,05)						

SOD düzeyleri açısından 23°C (E), 37°C (E), 23°C (S) grupları benzerlik göstermiş olup, bu grupların SOD düzeyi 10°C (E), 10°C (EM), 23°C (EM), 37°C (EM), 23°C (MS) gruplarının SOD düzeyine göre önemli şekilde azalmıştır. 10°C (EM), 23°C (MS), 10°C (E) gruplarının SOD düzeyi arasında anlamlı farklılık bulunmazken bu grupların SOD düzeyi

diğer tüm grupların SOD düzeyinden anlamlı şekilde büyüktür ($P<0,001$, Tablo 13).

Tablo13. Bütün grupların [Egzersiz (E), Melatonin egzersiz (ME), Sedanter (S), Melatonin sedanter (MS)] SOD düzeylerinin karşılaştırılması.

Grup	SOD				
	N	X±SD	F	P	Duncan Testi
10°C (E)	6	10,4 ± 1,73	9,603	0,000**	D*
23°C (E)	6	6,56 ± 0,77			AB*
37°C (E)	6	5,33 ± 0,79			A*
10°C (EM)	6	9,12 ± 2,56			CD*
23°C (EM)	6	8,26 ± 1,06			BC*
37°C (EM)	6	7,66 ± 2,40			BC*
23°C (S)	6	5,61 ± 1,04			A*
23°C (MS)	6	9,34 ± 0,65			CD*
Sütunda değişik harflerle simgeleme (A,B,C,D) gruplar arasındaki farklılığı istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterir. **(P< 0,001)					

Tablo 14. 10, 23 ve 37°C Egzersiz gruplarının GR düzeylerinin karşılaştırılması (ANOVA, DUNCAN).

Parametre	Grup	N	X ± SD	F	P	Duncan Testi
GR (Eu/gHb)	10°C	6	0,39 ± 0,08	2,633	0,110	A*
	23°C	6	0,33 ± 0,04			A*
	37°C	6	0,30 ± 0,05			A*
Sütunda aynı harflerle simgeleme (A) gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterir.(P> 0,05)						

Tablo 15. 10, 23 ve 37°C Melatonin uygulanan egzersiz gruplarının GR, düzeylerinin karşılaştırılması.

Parametre	Grup	N	X ± SD	F	P	Duncan Testi
GR (Eu/gHb)	10°C	6	0,27 ± 0,07	0,524	0,603	A*
	23°C	6	0,25 ± 0,05			A*
	37°C	6	0,23 ± 0,04			A*
Sütunda aynı harflerle simgeleme (A) gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterir. (P>0,05)						

Egzersiz yaptırılan 10, 23 ve 37°C deki grupların GR düzeyleri ile melatonin verilip egzersiz uygulanan 10, 23 ve 37°C deki farklı sıcaklık gruplarının GR düzeylerinde anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 14 ve 15).

Tablo16. Bütün grupların [Egzersiz(E), Melatonin Egzersiz (ME), Sedanter (S), Melatonin sedanter (MS)] GR düzeylerinin karşılaştırılması.

Grup	GR				
	N	X±SD	F	P	Duncan Testi
10°C (E)	6	0,39 ± 0,08	3,690	0,004**	C*
23°C (E)	6	0,33 ± 0,04			BC*
37°C (E)	6	0,30 ±0,05			AB*
10°C (EM)	6	0,27 ± 0,07			AB*
23°C (EM)	6	0,25 ± 0,05			AB*
37°C (EM)	6	0,23 ± 0,04			A*
23°C (S)	6	0,23 ± 0,10			A*
23°C (MS)	6	0,32 ± 0,08			AB*
Sütunda değişik harflerle simgeleme (A,B,C) gruplar arasındaki farklılığı istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterir. **(P< 0,001)					

10 ve 23°C (E) gruplarının GR düzeyleri arasında anlamlı farklılık görülmezken, 10°C (E) grubunun GR düzeyi diğer grupların GR düzeyinden anlamlı derecede büyüktür. Diğer gruplar; 23 ve 37°C (E), 10, 23 ve 37°C (EM), 23°C (S), 23°C (MS) kendi arasında GR düzeyleri açısından benzerlik göstermektedir (P<0,001, Tablo 16).

Tablo 17. 10, 23 ve 37°C Egzersiz gruplarının POD düzeylerinin karşılaştırılması (ANOVA, DUNCAN).

Parametre	Grup	N	X ± SD	F	P	Duncan Testi
POD (EU/gHb)	10°C	6	1,83 ± 0,32	0,406	0,675	A*
	23°C	6	1,83 ±0,33			A*
	37°C	6	1,99 ± 0,34			A*
Sütunda aynı harflerle simgeleme (A) gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterir. (P> 0,05)						

Tablo 18. 10, 23 ve 37 °C Melatonin uygulanan egzersiz gruplarının POD, düzeylerinin karşılaştırılması.

Parametre	Grup	N	X ± SD	F	P	Duncan Testi
POD (Eu/gHb)	10°C	6	2,00 ± 0,32	1,209	0,328	A*
	23°C	6	1,70 ± 0,36			A*
	37°C	6	1,86 ± 0,24			A*
Sütunda aynı harflerle simgeleme (A) gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterir. (P> 0,05)						

Egzersiz yaptırılan 10, 23 ve 37°C grupların POD düzeyleri ile melatonin verilip egzersiz uygulanan 10, 23 ve 37°C'deki farklı sıcaklık gruplarının POD düzeylerinde anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 17, Tablo 18).

Tablo19. Bütün grupların [Egzersiz (E), Melatonin egzersiz (ME), Sedarter (S), Melatonin sedanter (MS)] POD düzeylerinin karşılaştırılması.

Grup	POD				
	N	X±SD	F	P	Duncan Testi
10°C (E)	6	1,83 ± 0,32	0,923	0,499	A*
23°C (E)	6	1,83 ± 0,33			A*
37°C (E)	6	1,99 ± 0,34			A*
10°C (EM)	6	2,00 ± 0,32			A*
23°C (EM)	6	1,70 ± 0,36			A*
37°C (EM)	6	1,86 ± 0,24			A*
23°C (S)	6	2,37 ± 0,94			A*
23°C (MS)	6	1,77 ± 0,18			A*
Sütunda değişik harflerle simgeleme (A) gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterir. (P>0,05)					

Tüm grupların POD düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmamıştır (P>0,05,Tablo 19).

Tablo 20. 10, 23 ve 37°C Egzersiz gruplarının CAT düzeylerinin karşılaştırılması (ANOVA, DUNCAN).

Parametre	Grup	N	X ± SD	F	P	Duncan Testi
CAT (Eu/gHb)	10°C	6	274,84±42,44	3,525	0,060	A*
	23°C	6	225,05±13,21			A*
	37°C	6	239,57 ± 34,66			A*
Sütunda aynı harflerle simgeleme (A) gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterir. (P> 0,05)						

Tablo 21. 10, 23 ve 37°C Melatonin uygulanan egzersiz gruplarının CAT, düzeylerinin karşılaştırılması.

Parametre	Grup	N	X ± SD	F	P	Duncan Testi
CAT (EU/gHb)	10°C	6	249,56 ± 62,85	1,566	0,243	A*
	23°C	6	198,80 ± 48,30			A*
	37°C	6	217,59 ± 29,20			A*
Sütunda aynı harflerle simgeleme (A) gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterir. (P> 0,05)						

Egzersiz yaptırılan 10, 23 ve 37°C'deki grupların CAT düzeyi, melatonin verilip egzersiz uygulanan 10, 23 ve 37°C deki farklı sıcaklık gruplarının CAT düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 20 ve 21).

Tablo22. Bütün grupların [Egzersiz (E), Melatonin egzersiz (ME), Sedanter (S), Melatonin sedanter (MS)] CAT düzeylerinin karşılaştırılması.

Grup	CAT				
	N	X±SD	F	P	Duncan Testi
10 °C (E)	6	274,84±42,44	3,573	0,004**	C
23 °C (E)	6	225,05±13,21			AB
37 °C (E)	6	239,57±34,66			BC
10 °C (EM)	6	249,56±62,85			BC
23 °C (EM)	6	198,80±48,30			AB
37 °C (EM)	6	217,59±29,20			AB
23 °C (S)	6	212,87±48,44			AB
23 °C (MS)	6	178,61±33,44			A
Sütunda değişik harflerle simgeleme (A,B,C) gruplar arasındaki farklılığı istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterir. ** (P< 0,001)					

CAT düzeyleri 23°C (MS), 23°C (S), 37°C (EM), 23°C (EM), 23°C (E), grupları arasında anlamlı farklılık bulunmazken bu grupların CAT düzeyi 10°C (E), 37°C (E), 10°C (EM) gruplarının CAT düzeyine göre önemli şekilde düşüktür. 10°C (E) CAT düzeyi, tüm grupların CAT düzeyine göre büyük anlamlılık gösterirken, 37°C (E), 10°C (EM) gruplarının CAT düzeyi ile farklılık göstermemektedir ($P < 0,001$, Tablo22).

Tablo 23. 23°C Melatonin uygulanan egzersiz ve 23°C Melatonin uygulanan kontrol gruplarının MDA, SOD, GR, POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.

Parametreler	23 °C Melatonin Egzersiz (n=6)	23 °C Melatonin Sedar grup (n=6)	t	P
MDA (nmol/ml)	0,26 ± 0,13	0,35 ± 0,16	-,991	P> 0,05
SOD(EU/ml)	8,26 ± 1,06	9,34 ± 0,65	-1,930	P> 0,05
GR(EU/gHb)	0,25 ± 0,05	0,32 ± 0,08	-1,488	P> 0,05
POD(EU/gHb)	1,70 ± 0,36	1,77 ± 0,18	-,398	P> 0,05
CAT(EU/gHb)	198,80 ± 48,30	178,61 ± 33,44	0,787	P> 0,05

23°C melatonin verilen egzersiz grubu ile 23°C melatonin verilir egzersiz yapılmayan kontrol grubu arasında yapılan SOD, MDA, GR, POD ve CAT ölçümleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($P > 0,05$, Tablo 23).

Tablo 24. 23 °C Uygulama yapılmayan Sedar grup ve 23 °C Melatonin uygulanan sedanter gruplarının MDA, SOD, GR, POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.

Parametreler	23°C Sedar grup (n=6)	23°C Melatonin Sedar Grup (n=6)	t	P
MDA (nmol/ml)	0,31 ± 0,11	0,35 ± 0,16	-,519	P> 0,05
SOD(EU/ml)	5,61 ± 1,04	9,34 ± 0,65*	-6,894	P< 0,001
GR(EU/gHb)	0,23 ± 0,10	0,32± 0,08	-1,399	P> 0,05
POD(EU/gHb)	2,37 ± 0,94	1,77 ± 0,18	1,362	P> 0,05
CAT(EU/gHb)	212,87 ± 48,44	178,61± 33,44	1,332	P> 0,05

(*) Aynı satırda birinci ve ikinci ölçümler arasında istatistiksel farklılık olduğunu gösterir.

23°C egzersiz yaptırılmayan kontrol grubu ve 23°C melatonin verilip egzersiz yaptırılmayan kontrol grubu arasında ölçülen MDA, GR, POD ve CAT'da anlamlı bir fark görülmemiştir. Her iki grup arasında ki serum SOD değeri ise egzersiz yaptırılmayıp melatonin verilen kontrol grubunda anlamlı şekilde fark göstermiştir ($P < 0,001$, Tablo 24).

Tablo 25. 23°C Uygulama yapılmayan sedanter grup ve 23°C Egzersiz gruplarının MDA, SOD, GR, POD ve CAT düzeylerinin karşılaştırılması.

Parametreler	23°C Sedanter grubu (n=6)	23°C Egzersiz grubu (n=6)	t	P
MDA (nmol/ml)	0,31 ± 0,11	0,45 ± 0,08*	-2,496	P < 0,05
SOD(EU/ml)	5,61 ± 1,04	6,56 ± 0,77	-1,791	P > 0,05
GR (EU/gHb)	0,23 ± 0,10	0,33 ± 0,04	-1,993	P > 0,05
POD(EU/gHb)	2,37 ± 0,94	2,65 ± 2,03	-,303	P > 0,05
CAT(EU/gHb)	212,87 ± 48,44	225,05 ± 13,21	-,594	P > 0,05

(*) Aynı satırda birinci ve ikinci ölçümler arasında istatistiksel farklılık olduğunu gösterir

23°C egzersiz grubu ile 23°C sedanter kontrol grubu arasındaki MDA düzeyi egzersiz grubu lehine anlamlılık gösterirken ($P < 0,05$), SOD, GR, POD ve CAT ölçüm düzeylerinde fark görülmemiştir (Tablo 25).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada farklı oda sıcaklıklarında uzun süre egzersiz yaptırılan ratlarda melatonin, soğuk-sıcak gibi çevresel stresinin serbest radikal ve antioksidan düzeylerine etkisinin belirlenmesinin amaçlanmıştır.

10°C egzersiz ve 10°C melatonin uygulanan egzersiz gruplarının MDA düzeylerinde anlamlı farklılık bulunmazken (Tablo 5); 23°C egzersiz ve 23°C melatonin uygulanan egzersiz grupları karşılaştırıldığında 23°C egzersiz grubunun MDA düzeyi (Tablo 6), 37°C egzersiz ve 37°C melatonin uygulanan egzersiz grupları karşılaştırıldığında ise 37°C melatonin uygulanan egzersiz grubunun MDA düzeyi anlamlı olarak artmıştır (Tablo7).

Oksijen radikalleri; hücre fonksiyonlarına zarar veren membran peroksidasyonuna ve malondialdehit oluşumuna neden olabilir. Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehittir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA meydana gelir^{104,105}.

Vücutta normalde aerobik metabolizma sırasında süperoksit anyonu ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türleri oluşur. Bu serbest oksijen radikallerinin doymamış yağ asitlerinde lipid peroksidasyonuna yol açarak hücre hasar meydana getirmeleri karşı antioksidan sistemler ile engellenir¹⁵³.

Bu çalışmanın bulgularında normal sıcaklıkta melatoninin olumlu etkisi gözlenirken hipertermik ortamda MDA'nın artması ise olumsuz bir etki olarak düşünülmektedir. Karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik

fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormon olan Melatoninin²⁶, hücreleri, dokuları ve organları serbest radikal sebep olduğu (potasyum siyanit, L-sistein, aşırı egzersiz, karbon tetraklorid, iskemi- α - reperfüzyon, protein ve iyonize radyasyon sonucu gelişen) oksidatif hasara karşı korumaktadır^{26,31}.

Egzersiz performansının gelişiminde melatoninin olası ergojenik etkisi literatürde az dikkate alınmıştır. Birçok deneysel çalışma egzersizin yüksek bir kor sıcaklığa ulaşmada sınırlı olduğunu göstermiştir^{58,59}. Egzersizden önce vücut sıcaklığını azaltmaya yönelik stratejiler, organizmanın hayati olarak vücut sıcaklığı derecesine ulaşmadan büyük bir sınır sağlar ve performansın gelişimine yol açar. Böyle gelişmeler egzersiz öncesinde kullanılan ön soğuma manevraları ile vücut sıcaklığında azalma yaparak kendini göstermektedir⁶⁰. Sadece bir grup çalışma egzersizde termal cevap üzerine melatoninin etkisini açıklamıştır^{61,62}.

Mclellan ve arkadaşlarının 2x1 mg dozunda melatoninin uyguladıkları çalışmada 40°C bir ortam sıcaklığında saatte 3,5 km/saat hızla treadmillde aralıklı yürüme egzersizinin termal regülasyon cevaplar ve tolerans zamanı üzerine etkisini araştırmışlardır. Melatoninin egzersizden önce ve egzersizden sonra rektal sıcaklığı ve egzersiz tolerans zamanını anlamlı derecede etkilemediğini gözlenmiştir. Ayrıca aynı grubun diğer bir çalışmalarında yüksek dozdaki melatoninin çok sıcak şartlarda düşük yoğunluktaki egzersizde sınırlı faydalı etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir⁶¹.

Mclellan ve arkadaşlarının 5g melatonin alınımini iki melatonin ve iki plasebo grubunda uyguladıkları çalışmada, çalışmaya katılan 1 grup 23°C sıcaklıkta 2 saat dinlendirilip, dinlenme periyodundan sonra 40°C sıcaklıkta 3,5 km/saat hızla hafif yürüme egzersizi yaptırılıp,

diğer grup 40°C sıcaklıkta 2 saat bekletildikten sonra aynı egzersiz uygulanmıştır. 23°C sıcaklıkta dinlenen grup da rektal sıcaklık anlamlı olarak azalırken, Bu sıcaklık egzersizin ilk 50 dakikasında sabit kalmış ve rektal sıcaklıktaki bu değişimin ne buharlaşma ne de ısı kaybının artışı ile eşlik etmediğinin tahmin edilemediğini belirtirken, kor ısıdaki azalmanın 40°C de ve 23°C deki sıcaklıkta gözlemlenmediğini bildirmişlerdir⁶². Yukarıda açıklanan bu araştırma sonuçları ile bu çalışmada elde edilen bulgular arasında paralellik göstermiş olup; hipertermik ortamda melatoninin oksidadif stresi engellemediğini ortaya koymaktadır.

10, 23 ve 37°C soğuk-sıcak ortamda egzersiz yaptırılan ratlarda ısı stresinin etkisine bakıldığında, 10, 23 ve 37°C grupları arasında (Tablo 8) ve 10, 23 ve 37°C melatonin uygulanan egzersiz grupları arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur (Tablo 9). Her iki grubun 10°C sıcaklık değerlerinde de en yüksek MDA düzeylerine ulaşılmıştır (Tablo 8 ve 9).

Sıcaklık farkına göre bu çalışmanın bulgularında hipotermik ortam diğer koşullara göre daha fazla stres oluşturmaktadır. Benzer sonuçlar melatonin verilen gruplarda da elde edilmiştir. İnsan organizması soğuk bir ortama girdiğinde, vücut ısının belirli bir süre korunduğu ancak deride meydana gelen aktif soğuma ile iç ısının düştüğü gözlenmiştir^{73,81}. Böyle durumlar sportif performans üzerinde olumsuz bir etkisinin yanı sıra hayati tehlikede yaratabilir⁷⁴.

Birçok olay melatoninin eksojenik kullanımının aktivite seviyesi, postür, yüksek bir ışığa maruz kalma gibi faktörlerle kontrol edildiğinde, dinlenme şartlarında melatoninin hipotermik bir etkiye sahip olduğunu gösterir¹⁵⁴.

Cagnagi ve ark., 13 bayan üzerinde yaptığı çalışmada, 2,5 mg. melatoninin dinlenmede vücut sıcaklığını 0,3°C derece azalttığını bildirirken²⁰, Aizawa ve ark. 20 erkek üzerinde yapmış olduğu çalışmada 0, 1, 0,3, 1, 10 mg melatoninin dinlenmede vücut sıcaklığını 1 mg. kullananlarda 0,12°C, 10 mg. kullananlarda 0,2°C azalttığını bildirmişlerdir¹⁵⁵.

Reid ve arkadaşlarının ise 5 mg melatoninin dinlenmede vücut sıcaklığını 0,28°C azalttığını bildirmişlerdir¹⁵⁶. Japon bıldırcınlarında pineal ve retinal melatonin konsantrasyonu aşırı soğukta azaldığı bildirilmiştir¹⁵⁷. Başka bir çalışmada ise aşırı soğuk strese farklı bir sonuç ortaya çıkmış ve kemirgenlerde melatonin seviyesi arttığı bildirilmiştir^{158,159}. Rozemboim ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada melatonin verilen tavuklarda hipotermik ortamda deri sıcaklığında buharlaşma olmadan ısı kaybında artış ve solunum buharlaşmasında ise hafif artış görülmüştür¹⁶⁰. Bu bulgular doğrultusunda melatoninin hipotermik ortamda vücut sıcaklığını daha da düşürme özelliği veya soğuk ortamda melatonin miktarının azalmasıyla ilişkili olarak oksidatif hasarı önlemediği düşünülebilir. Ancak egzersizde melatoninin hipotermik etkisi bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar ve bu araştırmanın bulguları doğrultusunda egzersizin hipotermik ortamda oksidatif stresi arttırdığı, melatoninin de hipotermik ortamda artan oksidatif stresi daha da artırdığı düşünülebilir.

23°C melatonin verilen egzersiz ile 23°C uygulama yapılmayan sedanter grubunun; 23°C melatonin verilip egzersiz yaptırılmayan kontrol grubu arasındaki MDA düzeyleri arasında da anlamlı fark görülmemiştir (Tablo 23 ve 24). 23°C egzersiz grubu ile 23°C sedanter kontrol grubu arasındaki MDA düzeyi anlamlılık göstermiştir (Tablo 25).

Sportif aktivite sonucu artmış metabolik hız kesin olarak diğer dokularla birlikte kalp ve lokomotif kaslarda oksijen tüketimini artırır.

İskelet kaslarına da oksijen alımı 100-200 kat oranında artmaktadır. Bu artan metabolik aktiviteye bağlı olarak kullanılan oksijen ve mitokondriyel elektron transport zincirinden elektron sızıntısı artmakta ve sonuçta süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri başta olmak üzere birçok reaktif oksijen türü açığa çıkmaktadır⁹².

Bütün gruplar arasında egzersiz, soğuk-sıcak stres ve melatonin değişkenlerine göre MDA düzeylerinde ise 37°C (E), 23°C (EM), 23°C (S), 23°C (MS) grupları arasında MDA düzeyleri arasında benzerlik bulunurken bu grupların MDA düzeyi diğer gruplardan anlamlı olarak azalmıştır. 23°C (E), 37°C (EM), 23°C (MS) MDA değerleri açısından benzerlik göstermektedir. 10°C (E) ve 10°C (EM) grupları MDA düzeyi arasında önemli farklılık görülmezken, bu iki grup diğer tüm grupların MDA düzeyleri açısından anlamlı olarak büyüktür (Tablo 10).

Sportif aktiviteler esnasında kas hasarına, termal ısıya ve iskemi-reperfüzyona bağlı olarak doku hasarı oluşabilir. Spor bilimcileri sportif aktiviteler esnasındaki ROT üretimini mitokondrial elektron transfer zinciri, ksantin oksidaz sistemi, metal katalizörlü reaksiyonlar ve aktive olmuş nötrofiller gibi etkenlere bağlamaktadır⁹¹.

Özellikle yoğun sportif yüklenmelerde organizmada oksijen türevi radikal oluşumu artmaktadır. Özellikle 50km. maraton gibi ekstrem dayanıklılık alıştırma çalışmalarında lipid peroksidasyonunun arttığı tespit edilmiştir. Bu artışta; mitokondride elektron transport zincirinde elektron akışının hızlanması, ksantin oksidaz aktivitesinin artması, lokal inflamasyon, transferinden demirin serbestleşmesi, antioksidan tüketimi gibi faktörler rol oynamaktadır⁹³. Gerçekleştirdiğimiz çalışmada antioksidan sistemin göstergesi olarak SOD, GR, POD ve CAT parametreleri tayin edilmiştir.

10°C egzersiz grubunun 4 haftalık uzun süreli egzersizden sonra ölçülen kan GR düzeyleri 10°C Melatonin uygulanan Egzersiz grubuna göre önemli şekilde büyüktür ($P<0,05$), her iki grup arasında SOD, POD ve CAT'da önemli değişiklik görülmemiştir (Tablo 5). 23°C egzersiz grubunun ölçülen kan GR düzeyleri 23°C Melatonin uygulanan egzersiz grubuna göre önemli derecede büyüktür ($P<0,05$), her iki grup arasında ölçülen serum SOD düzeyi 23°C melatonin egzersiz grubuna göre küçüktür ($P<0,05$), her iki grup arasında POD ve CAT'de önemli değişiklik görülmemiştir (Tablo 6). 37°C egzersiz grubu ile 37°C melatonin egzersiz grubu arasında ölçülen SOD, GR, POD ve CAT'da önemli değişiklik görülmemiştir (Tablo 7).

Mevcut çalışmada melatoninin hipotermik ve normal sıcaklıkta GR düzeyleri üzerine olumsuz etkisi gözlenirken SOD düzeylerini normal sıcaklıkta olumlu etkilediği görülmüştür.

Melatoninin hidroksil radikali giderme özelliği glutatyondan 5 kat, mannitolden 15 kat, peroksit radikal tutucu özelliği ise E vitamininden 2 kat daha güçlü olduğu gösterilmiştir⁴⁴.

Melatonin yüksek dozlarda alındığında bile toksik etki yaratmaz, onun koruyucu rolü oksidatif stresi ve lipid peroksidasyonunu azaltarak doku zararının çeşitli çevresel modellerinde rapor edilmiştir ve birçok çalışmada melatoninin anti-inflamator etkileri önem kazanmıştır. Ancak melatoninin anti oksidasyon ve anti inflamator özellikleri herhangi bir egzersiz içeriğinde incelenmemiştir¹⁵⁴.

Melatonin eksojenik kullanımı insanlarda kısa süreli zihinsel ve fiziksel performansın azalması ile ilişkili olan hipnotik ve hipotermik cevaplara yol açar. Melatoninin hipotermik etkisinin sıcak ortamda dayanıklılık performansının gelişmesine yol açtığı hipotezi düşük

yoğunluktaki egzersizleri yapan askeri kurtarıcılar dâhil olduğu çalışmalarla desteklenmemiştir. Yüksek yoğunluktaki egzersizlere katılan sporcularda böyle bir hipotezi açıklayacak araştırma yoktur¹⁵⁴.

23°C ve 37°C egzersiz grubunun serum SOD düzeyleri aynı iken, her iki grubun SOD düzeyi 10°C egzersiz grubundan önemli derecede küçüktür ($P<0,001$, Tablo 11). Melatonin uygulanan üç sıcaklık grubunda ise önemli fark bulunmamıştır (Tablo 12). Egzersiz yaptırılan 10, 23 ve 37°C deki grupların GR, POD ve CAT düzeyleri ile melatonin verilip egzersiz uygulanan 10, 23 ve 37 °C deki farklı sıcaklık gruplarının GR, POD ve CAT düzeylerinde anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 14, 15, 17, 18, 20 ve 21).

Sıcaklık farkına göre SOD'ın özellikle hipotermik ortamda artması diğer ısı derecelerine göre soğuk ortamın daha oksidatif strese neden olduğunu göstermektedir. Literatürde bunu destekleyen bilgi olmamakla beraber Price ve Campbell; Soğuk ortamda karşılaştırıldığında sıcak ortamda deri sıcaklığı, işitsel sıcaklık ve ısı depolarında egzersiz sırasında sürekli artış gözlemlenmiş ve termal stres sabit kalmasına rağmen egzersiz sırasında termal zorlanmanın arttığını bildirmişlerdir¹⁶¹.

Sıcaklık farkına göre melatonin gruplarında anlamlı farklılığın olmamasının nedeni de kullanılan melatoninin antioksidan etkisinde kaynaklanabilir. Vücut sıcaklığının düzenlenmesi sinir sisteminin algılama, dış çevreden ve vücut korundan gelen termal bilginin etkileşme yeteneğine bağlıdır¹⁶². Bu etkileşim merkezi ve çevresel termal reseptörlerin hipotalamusdaki termoregülasyon merkezle tamamlanır¹⁶³.

Melatonin ve vücut sıcaklığı arasındaki ilişki birçok omurga sınıfları arasında gözükür. Bu ilişkinin temelinde iki kontrol merkezinin anatomik ko-lokalizasyonu ile sağlanır. Pineal bez ve hipotalamus

arasındaki anatomik ağın varlığı hipotalamusdaki melatonin reseptörlerini gösterir¹⁶⁴.

Melatonin'in $\text{HO}\bullet$, H_2O_2 , $^1\text{O}_2$, HOCl , NO , ONOO^- gibi oksidatif strese yol açabilen reaktif oksijen türlerini detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir⁵⁴.

23°C melatonin verilen egzersiz grubu ile 23°C melatonin verilip egzersiz yaptırılmayan kontrol grubu arasında yapılan SOD, GR, POD, CAT, ölçümleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($P>0,05$). (Tablo 23).

Düzenli egzersiz, akut egzersizin yol açtığı oksidatif stresi azaltmak için adaptasyona neden olabilir. Düzenli egzersizlerin, iskelet kasında hem antioksidan savunmayı hem de oksidatif kapasiteyi geliştirerek, oksidatif hasarın neden olduğu hastalık türlerini azalttığı, genel hayat kalitesini yükselttiği ve ömrü uzattığı belirtilmektedir^{132,133,134,135}. Pek çok çalışma, hem insanlar hem de hayvanlarda, aerobik egzersizden sonra dokularda veya kanda antioksidan enzim aktivitesinin (SOD, POD ve CAT) arttığını göstermiştir^{136,137,138}.

23°C egzersiz yaptırılmayan kontrol grubu ve 23°C melatonin verilip egzersiz yaptırılmayan kontrol grubu arasında ölçülen, GR, POD ve CAT'de anlamlı bir fark görülmemiştir. Her iki grup arasında ki serum SOD değeri ise egzersiz yaptırılmayıp melatonin verilen kontrol grubunda anlamlı şekilde fark göstermiştir ($P<0,001$, Tablo 24).

23°C egzersiz grubu ile 23°C sedanter kontrol grubu arasındaki, SOD, GR, POD ve CAT ölçüm düzeylerinde fark görülmemiştir (Tablo 25).

Her iki kontrol grubu arasında SOD düzeylerinin melatonin grubu lehine artması melatoninin güçlü bir antioksidan etkisinden kaynaklanabilir. Melatonin'in antioksidan özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır. Farmakolojik ve muhtemelen fizyolojik düzeylerdeki melatonin'in, SOD, GSH-Px, GSSG-Rd, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve &-glutamilsistein sentetaz gibi bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ya da aktivitelerini artırdığı ve bu yolla oksidatif stresi baskıladığı bildirilmektedir. Melatonin'in bazı prooksidan enzimleri inhibe ederek, serbest radikal oluşumunu azalttığı ve bu yolla da antioksidan sistemi desteklediği öne sürülmektedir^{1,54}.

Sonuç olarak;

- GR, düzeyi 10°C egzersiz grubunda, 10°C melatonin egzersiz grubuna göre daha yüksektir,
- MDA ve GR 23°C egzersiz grubunda, 23°C melatonine göre daha yüksektir,
- 37°C melatonin grubunda MDA düzeyi egzersiz grubuna göre daha yüksektir,
- Normal sıcaklıktaki sedanter grupların karşılaştırılmasında Melatonin sedanter grubunda SOD düzeyi daha yüksektir,
- Üç farklı sıcaklığa göre gruplar arasında CAT düzeyi açısından anlamlılık olmamasına karşın, tüm gruplar karşılaştırıldığında CAT düzeyi melatonin gruplarından daha yüksektir,
- POD düzeyinde tüm gruplar arasında benzerlik bulunmaktadır.

Isı değişkeni bakımından en yüksek oksidadif stres 10°C egzersiz ve melatonin egzersiz grubunda oluşmuş olması Melatoninin hipotermik ortamda vücut sıcaklığını daha da düşürme özelliği veya soğuk ortamda vücutta melatonin miktarının azalmasıyla ilişkili olarak oksidatif hasarı önleyemediği düşünülebilir. Soğuk ortamda SOD düzeyinin yine en yüksek artışı 10°C egzersiz ve 10°C melatonin gruplarında göstermiş olması ve CAT düzeyinin melatonin gruplarında daha yüksek olması melatonin antioksidan etki göstermesinden kaynaklanabilir.

Bu sonuçlar doğrultusunda melatoninin antioksidan etkisinin daha iyi belirlenebilmesi için değişik dozlarda ve değişik hipotermik ortam sıcaklıklarında in vivo ve in vitro gibi çalışmalarla uygulanması önerilir.

6. ÖZET

Bu çalışma, farklı oda sıcaklıklarında uzun süre egzersiz yaptırılan ratlarda melatolinin ve çevresel (soğuk-sıcak) stresinin serbest radikal ve antioksidan düzeylerine etkisini araştırmak amacıyla yapıldı.

Araştırma, 48 adet, 250-300g ağırlığında 4–6 aylık Spraque Dawley erkek rat üzerinde gerçekleştirildi.

Çalışmada ratlar eşit sayıda 8 gruba ayrıldı:

Grup 1: 10°C±2 E (10°C Laboratuvar ortamında treadmillde kronik egzersiz yaptırılan grup, n=6).

Grup 2: 23°C±2 E (23°C Laboratuvar ortamında treadmillde kronik egzersiz yaptırılan grup, n=6).

Grup 3: 37°C±2 E (37°C Laboratuvar ortamında treadmillde kronik egzersiz yaptırılan grup, n=6)

Grup 4: 10°C±2 ME (10°C Laboratuvar ortamında Melatonin uygulanan treadmillde kronik egzersiz yaptırılan grup, n=6)

Grup 5: 23°C±2 ME (23°C Laboratuvar ortamında Melatonin uygulanan treadmillde kronik egzersiz yaptırılan grup, n=6)

Grup 6: 37°C±2 ME (37°C Laboratuvar ortamında Melatonin uygulanan treadmillde kronik egzersiz yaptırılan grup, n=6)

Grup 7: 23°C±2 MS (23°C Melatonin uygulanan egzersiz yaptırılmayan sedanter grup, n=6).

Grup 8: 23°C±2 S (23°C Uygulama yapılmayan sedanter grup (n=6) hiç bir uygulamanın yapılmadığı kontrol grubu. Çalışmada melatonin gruplarına egzersizden önce 4 hafta süre ile gün/kg.5 mg intraperitoneal (i.p) yolla melatonin verildi.

Egzersiz ve melatonin uygulanan egzersiz gruplarına başlangıçta ratların uyum sağlaması için 7 gün boyunca 10–15 dakika

süreyle 23°C oda sıcaklığında treadmilde egzersiz yaptırıldıktan sonra 10°C, 23°C, 37°C, egzersiz ve melatonin egzersiz grupları 4 hafta haftada 6 gün kademeli yüklenme antrenmanı programının bitiminden sonra, melatonin kontrol grubu melatonin uygulandıktan 1–1,5 sonra, sedanter grup ise hiç bir uygulama yapılmadan 5–7 ml kan alındı. Alınan kan örnekleri de spektrofotometre (SOD, GR, POD ve CAT) ve HPLC (MDA) yöntemleriyle tayinleri gerçekleştirildi. Çalışmanın istatistiksel analizinde Anova, Duncan ve t-testi kullanıldı.

10°C egzersiz grubunda GR düzeyi 10°C melatonin grubuna göre önemli şekilde büyüktür ($P<0,05$). 23°C egzersiz grubunun ölçülen serum MDA, GR düzeyleri 23°C melatonin uygulanan egzersiz grubuna göre önemli derecede büyüktür ($P<0,05$). 37 °C egzersiz grubunun serum MDA düzeyleri, 37°C melatonin egzersiz grubuna göre önemli derecede küçüktür ($P<0,05$). 23 ve 37°C egzersiz grubunun serum SOD düzeyleri aynı iken, her iki grubun SOD düzeyi 10°C egzersiz grubundan önemli derecede küçüktür ($P<0,001$). Egzersiz yaptırılmayan kontrol grubu ile egzersiz yaptırılmayıp melatonin verilen kontrol grubunda SOD değeri ise anlamlı şekilde fark göstermiştir ($P<0,001$).

Çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular göre farklı sıcaklıklarda ki egzersizde, oksidatif stresin en fazla hipotermik ortamda olduğu, hipotermik ve hipertermik ortamda melatoninin oksidatif stresi engellemediği ancak normal oda sıcaklığında antioksidan sistemi aktive ederek serbest radikal üretimini azalttığı görülmüştür.

7. SUMMARY

This study was carried out to examine the effect of melatonin and environmental stress on free radicals and antioxidant levels in rats which were made to exercise at differing room temperatures.

The study was performed upon 48 Sprague Dawley male rats of 250-300 g weight and aged 4-6 months.

The rats were divided into 8 groups.

Group 1: (The group made to have chronic exercise on treadmill in a laboratory at $10^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Group 2: (The group made to have chronic exercise on treadmill in a laboratory at $23^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Group 3: (The group made to have chronic exercise on treadmill in a laboratory at $37^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Group 4: (The group made to have chronic exercise on treadmill with melatonin in a laboratory at $10^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Group 5: (The group made to have chronic exercise on treadmill with melatonin in a laboratory at $23^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Group 6: (The group made to have chronic exercise on treadmill with melatonin in a laboratory at 37°C).

Group 7: (The sedentary group with melatonin that was not made to have exercise at $23^{\circ}\text{C}\pm 2$).

Group 8: (The sedentary group on which no application was employed, the control group). The groups which took melatonin were given the related substance 5 mg per day before the exercise for 4 weeks intraperitoneally.

5 to 7 ml blood was taken from the rats in the sedentary group before test, from the melatonin control group 1-1,5 hour after the application of melatonin, from the exercise and melatonin exercise groups

after the training programmes 6 days a week for four weeks, from the exercise and melatonin groups after the exercise on treadmill at 23 °C). Blood samples were detected through Spectrophotometre (SOD, GR, POD ve CAT) and HPLC (MDA) methods. In the statistical analyses Anova, Duncan and t- test were used.

GR level is higher in 10°C exercise group compared to 10°C melatonin group. MDA, GR levels are higher than those of 23°C melatonin exercise groups. Serum MDA levels of the 37°C exercise group are lower than those of 37°C melatonin exercise group. Serum SOD levels are the same in 23°C and 37°C exercise groups, SOD levels of both of which are lower than those of the 10°C exercise group. SOD levels in the control group and the other control group which took melatonin were significantly different.

It was found out in the study that oxidative stress appeared most in hypothermic environment, that melatonin did not prevent oxidative stress in hypothermic and hypermetric environment but that it activated antioxidant system and decreased emergence of free radicals at normal temperatures.

8. KAYNAKLAR

1. Yazıcı, C., Köse, K., Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (E.Ü.Journal of Health Sciences) 2004; 13(2) 56-65.
2. Palaoğlu, S., Beşkonaklı, E., Pineal Bez ve Yaşlanma Geriatri Turkish Journal of Geriatrics 1998; 1: 13-18.
3. Altun, A., Vardar, A., Uğur Altun, B., Melatonin ve Kardiyovasküler Sistem. Ana Kar Der, 2001; 1: 283-288.
4. Freeman BA, Crapo ID. Biology of disease-free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982; 47: 412.
5. Lunec J, Blake D. Oxygen free radicals: Their relevance to disease processes, P., Ed. R.D. Cojhen, Balliere Tindall, London. 1990; 189-212.
6. Gülçin, İ. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). Toxicology, 2006; 217: 213-220.
7. Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: A novel protective agent against oxidative injury of the ischemic-reperfused heart. Cardiovascular Research 2003; 58: 10-9.
8. Reiter RJ, Tan DX, Kim SJ, Wenbo QI. Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and DNA. Proc West Pharmacol Soc 1998; 41: 229-36.

9. Reiter RJ. Cytoprotective properties of melatonin: Presumed association with oxidative damage and aging. *Nutrition* 1998; 14: 691-6.
10. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol.*, 2001; 426: 1-10.
11. Reiter RJ. Melatonin: clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2003,17: 273-85.
12. Selçuk M. Sedanterler ile kuzey disiplini yapan antrene bireylerde programlı aerobik ve anaerobik egzersizlerin bazı antioksidan profiller üzerine etkilerinin araştırılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Van, 2003, 1-2.
13. Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, Et Al. Effect Of Different intensities of exercise on endothelium dependent vasodilation on humans: Role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation*, 2003; 108: 530-5.
14. Durstine JI, Grandjean PW, Davis PG, Ferguson MA, Alderson NL, Dubose KD. Blood lipid and lipoprotein adaptations to exercise: a quantitative analysis. *Sports Med* 2001; 31 (15):1033-62.
15. Scislo TJ, Dicarlo SE, Jarjoura DG. Daily exercise improved blood pressure homeostasis of rats subjected to surgical stress. *J Appl Physiol* 1994; 76: 783-6.

16. Stein CJ, Colditz GA. Modifiable risk factors for cancer. Br J Cancer 2004; 90: 299–303.
17. Bi L, Triadafilopoulos G. Exercise and gastrointestinal function and disease: an evidence-based review of risks and benefits. Clin Gastroenterol Hepatol 2003; 1: 345–55.
18. Vallee, B.L. And Falcukh, K.H. The Biochemical Basis Of Zinc Physiology, 1993; 73, 341 – 363.
19. Erkan N. Sağlık ve zindelik için egzersiz ve fizyolojik temeller. Spor Hekimliği Dergisi.1979; 14.61–70.
20. Cagnacci A, Elliott JA, Yen SSC. Melatonin: a major regulator of the circadian rhythm of core temperature in humans. J Clin Endocrinol Metab 1992; 75: 447-52.
21. Arendt J. The pineal. In: Touitou Y, Haus E, editors. Biological rhythms in clinical and laboratory medicine. Berlin: Springer- Verlag, 1992; 348-362.
22. Atkinson, G., Drust, B., Reilly, T and Waterhouse, J. The relevance of melatonin to sports. Medicine and Science Sports Med 2003; 33: 809-831.
23. Dawson D, Van Den Heuvel CJ. Integrating the actions of melatonin on human physiology. Ann Med 1998; 30: 95-102
24. Zhdanova IV, Wurtman RJ. The pineal hormone: melatonin. In: Conn PM, Melmed S, editors. Endocrinology: basic and clinical principles. Totowa (NJ): Humana Press Inc, 1997; 279-290.

25. Carr DB. Plasma melatonin increases during exercise in women. J Clin Endocrinol Metab 1981; 53: 224-5
26. Brzezinski A. Melatonin in humans. N Engl J Med 1997, 336: 186-95.
27. Keleş Timur, H. İnsanda Pineal Bezin Fonksiyonları. Fırat Üniv. Sağlık Bil Dergisi 1996; 10: 141-7.
28. Arıncı K, Elhan A. Anatomi, Ankara, Güneş Kitabevi Ltd şti. 1995; 368-9.
29. Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. Histology. A Text and Atlas 3 rd., Baltimore, Williams & Wilkins. 1995; 602-3.
30. Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. Text / Atlas of Histology, Philadelphia, WB Saunders Co. 1988; 594-7.
31. Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: A brief review. Brazilian J Med Biol Res 1993, 26: 1141-55.
32. Çam, A., Erdoğan, F., Melatonin. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 2003; cilt 56, sayı 2.
33. Erlich SS, Apuzzo MLJ: The pineal gland: anatomy, physiology and clinical significance. J Neurosurg, 1985; 63: 321-41.
34. Cassone VM, Varren WS, Brooks DS, Lu J; Melatonin, the pineal gland and circadian rhythms. J Biological rhythms, 1993; 8:S. 73-81.

35. Reiter RJ. Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev* 1991, 12 : 151-180.
36. Poeggeler B, Reiter RJ, Tan D-X, Chen L-D, Manchester LC. Melatonin, hydroxyl radical mediated oxidative damage, and aging: A hypothesis. *J Pineal Res* 1993, 14: 151-168.
37. Acuna CD, Reiter RJ, Menendez PA, Pablos MI, Burgos A. Characterization of high-affinity melatonin binding sites in purified cell nuclei of rat liver. *J Pineal Res* 1994, 16: 100-2.
38. Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, Tan DX. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: Antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neurosci Biobehav Rev* 1993, 17:347-57.
39. Şahna, E., Deniz, E., Aksulu, H.E. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı ve melatonin. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2006; 6: 163-8.
40. Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 446-56.
41. Schulz R, Wambolt R. Inhibition of nitric oxide synthesis protects the isolated working rabbit heart from ischaemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 1995; 30: 432-9.
42. Salie R, Harper I, Cillie C, Genade S, Huisamen B, Moolman J, et al. Melatonin protects against ischemic-reperfusion myocardial damage. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 343-57.

43. Theroux P. Protection of the myocardial cell during ischemia Am J Cardiol 1999; 83:3-9.
44. Reiter RJ: Functional diversity of the pineal hormone melatonin: its role as an antioxidant. Exp clin endocrinol, 1996; 104: 10-6.
45. Arendt J. Melatonin and the mammalian pineal gland, London, Chapman & Hall. 1995; 6-49.
46. Kuş, İ., Sarsılmaz, M., Pineal bezin morfolojik yapısı ve fonksiyonları. T Klin J Med Sci 2002, 22.
47. Cagnacci A. Melatonin in Relation to Physiology in Adult Humans. J Pineal Res 1996; 21: 200-13.
48. Ianas O, Olivescu R, Badescu I. Melatonin involvement in oxidative processes. Rom J Endocrinol 1991, 29:117-23.
49. Pahkla R, Zilmer M, Kullisaar T, Rago L. Comparison of the antioxidant activity of melatonin and pinoline in vitro. J Pineal Res 1998, 24: 96-101.
50. Yamamoto HA, Tang HW. Melatonin attenuates L-cysteine induced seizures and lipid peroxidation in the brain of mice. J Pineal Res 1996, 21: 108-13.
51. Gülçin İ, Büyükkuroğlu M.E., Oktay M., Küfrevioğlu O.İ., On the in vitro antioxidative properties of melatonin. J. Pineal Res. 2002, 33: 167-71.

52. Gülçin İ., Büyükokuroğlu M.E., Küfrevioğlu O.İ. Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. J. Pineal Res. 2003, 34: 278-81.
53. Arendt J. Melatonin. Clin Endocrinol 1988, 29: 205-9.
54. Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. Biochem Pharmacol 1998, 56: 1265-72.
55. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. J Biomed Sci 2000, 7: 444-58.
56. oktay.com.tr
57. www.antiagingtr.com
58. Gonzalez-Alonso J, Teller C, Andersen SL, et al. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. J Appl Physiol 1999; 86: 1032-9.
59. Walters TJ, Ryan KL, Tate LM, et al. Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature. J Appl Physiol 2000; 89: 799-806.
60. Marino FE. Methods, advantages and limitations of body cooling for exercise performance. Br J Sports Med 2002; 36: 89-94.
61. McLellan TM, Gannon GA, Zamecnik J, et al. Low doses of melatonin and diurnal effects on thermoregulation and tolerance to uncompensable heat stress. J Appl Physiol 1999; 87: 308-16.

62. McLellan TM, Smith IF, Gannon GA, et al. Melatonin has no effect on tolerance to un compensable heat stress in man. Eur J Appl Physiol 2000; 83: 336-43.
63. Ergen,E., ve ark., Egzersiz Fizyolojisi, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2002.
64. <http://www.aof.edu.tr/kitap/IOLTP/2281/unite05.pdf>
65. Brooks, G.A., And Fahey, T.D., Exercise Physiology, Macmillan Publishing Company, New York, 1985.
66. Valentine JS, Wertz DL, Lyons TJ, et al. The dark side of dioxygen biochemistry. Curr Opin Chem Biol 1998, 2: 253-62.
67. Koz, M., Ersöz G., Gelir, E., Fizyoloji Ders Kitabı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2003.
68. Noyan, A., Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji, Meteksan Basım Yayım ve Dağıtım 10. Baskı, Ankara, 1998.
69. Ünal, M., Sıcak ve Soğuk Ortamda Egzersiz, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, İstanbul, 2002; 65:4.
70. Ganong W.F., Medical Physiology, Chapter 14, Çev; Doğu A., İstanbul, 1995.

71. Zorba, E., Fiziksel Uygunluk, Gazi Kitabevi, 2. Baskı, Ankara, 2001.
72. Günay, M., Tamer, K., ve Cicioğlu İ., Spor Fizyolojisi ve Performans Ölçümü, Gazi Kitabevi, Ankara, 2006.
73. Günay, M., Cicioğlu İ., Kara, E., Egzersize metabolik ve ısı adaptasyonu. Gazi Kitabevi, Ankara, 2006.
74. Akgün, N., Egzersiz fizyolojisi. Ege Üniversitesi Basımevi, 4. Baskı, II Cilt, İzmir, 1993.
75. Fox, Bowers, Foss, Beden Eğitimi ve Sporun Fizyolojik Temelleri, Bağırhan Yayımevi, Çeviri: Cerit, M., Ankara, 1999.
76. Guyton, A.C., Hall, J.E., Tıbbi Fizyoloji Ders Kitabı, Çeviri ÇAVUŞOĞLU, H., İstanbul, 1996.
77. Günay, M., Egzersiz Fizyolojisi, Bağırhan Yayımevi, 2. Baskı, Ankara, 1999.
78. Zorba, E., Yaşam Boyu Spor, Marmara Basım Yayım, 2004, İstanbul.
79. Cobb, H.C., Henderson, M.J., Heat Injuries, Mellion BM Sports Medicine Secrets, Philadelphia, 1999.

80. Akgün, N., Egzersiz Fizyolojisi, Ege Üniversitesi Basımevi, 2. Baskı, İzmir, 1986.
81. Günay, M., Cicioğlu İ., Spor Fizyolojisi, Gazi Kitabevi, Ankara, 2001.
82. <http://www.hadiyaa.org/forum/soğuk-ve-egzersiz-16049>, Ekim 2007.
83. Açıkada, C., Ergen, E., Bilim ve Spor, Büro Tek Ofset ve Matbaacılık, Ankara, 1990.
84. Heipertz, W., Spor Hekimliği, Arkadaş Tıp Kitapları, Çev. Mehmet İ. ARMAN, İstanbul, 1985.
85. Roberts, W.O., Cold-Related Injury In Athletes And Active People, Principles And Practice Of Primery Care Sports Medicine, Ed. By Carrett WE, Kirkandall DT, Philadelphia 2001.
86. Dünder Y, Aslan R. Oksidan-Antioksidan Denge Ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü. Hayvancılık Araştırma Dergisi 1999; 9: 32-9.
87. Armstrong D. Editor. Free radical and antioxidant protocols. New Jersey: Humana Pres; 1998.
88. Okezie Ia. Free Radicals And Antioxidant Strategies In Sports. J Nutr Biochem 1994; 5: 370-81.

89. Tamer L, Polat G, Eskandari G, Ercan B, Atik U. Serbest Radikaller. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2000; 1: 52-8.
90. Lamprecht M, Greilberger J, Oetl K. Analytical Aspects Of Oxidatively Modified Substances In Sports And Exercise. Nutrition 2004; 20: 728-30.
91. Peake J, Suzuki K. Neutrophil Activation, Antioxidant Supplements And Exercise-Induced Oxidative Stress. Exerc Immunol Rev 2004; 10:129-41.
92. Güzel-Atalay N. Sıçanlarda Akut Ve Kronik Egzersizde Askorbik Asit Yüklemesinin Lipid Peroksidasyona Ve Antioksidan Sisteme Etkisi. Doktora. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2001.
93. Mastaloudis A, Leonard Sw, Traber Mg. Oxidative Stress In Athletes During Extreme Endurance Exercise. Free Radic Biol Med 2001; 31: 911-22.
94. Aldemir H. Egzersiz Ve Egzersiz Kronobiolojisinin Hematolojik, Metabolik, Hemodinamik Ve Kardiyovasküler Parametreler İle Oksidatif Stres Olusumu Üzerine Etkisi. Doktora. Ankara: Gazi Üniversitesi; 1999.
95. Sen Ck. Antioxidant And Redox Regulation Of Cellular Signaling: Introduction. Med Sci Sports Exerc 2001; 33: 368–70.
96. Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E., Küfrevioğlu, Ö.İ., Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. Food Chem. 2003, 83: 371-82.

97. Yavuzer S, Nalçacı E, Akbay C, Yardımcı S, Ocakçioğlu B, Baştuğ M. Yavuzer Ş. Oksidan Stres Ve Akciğerler Solunum. 1991; 14; 181–189.
98. Uysal M. Serbest Radikaller, Lipit Peroksidleri Ve Organizmadaki Prooksidan-Antioksidan Dengeyi Etkileyen Kosullar. Klinik Gelişim 1998; 11: 336-41.
99. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative Stress Relationship With Exercise And Training. Sports Med 2006; 36: 327–58.
100. Akkuş İ. Serbest Radikaller Ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya. Mimoza Yayınları. 1995.
101. Radak Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Pucsek J, Sasvari M, Et Al. Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. Neurochem Int 2001; 38: 17–23.
102. Volvaard NBJ, Shearman JP, Cooper CE. Exerciseinduced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance, Sports Med 2005; 35: 1045-62.
103. Kamal AA, Gomaa A, el Khafif M, Hammad AS. Plasma lipid peroxides among workers exposed to silica or asbestos dust. Environ Res 1989; 49: 173–180.
104. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi veterinerlik fakültesi dergisi 2004; 15: 91-6.
105. Child RB, Wilkinson DM, Fallowfield JL, Donnelly AE. Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in

response to a simulated half-marathon run. Med Sci Sports Exerc 1998; 30: 1603-7.

106. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf>

107. Yalçın As. Antioksidanlar. Klinik Gelişim 1998; 11: 342-46.

108. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 2004; 15: 91-6.

109. Jill, L., Exercise and oksidative stres: Role of the cellular anti oksidant systems Ed. Exercise Sport sci.Rev. Maltimore, MD. Willams & Wilkins 1995, 135-66

110. Gutteridge, J.M.C., Lipid peroxidation antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin. Chem. 1996, 41: 1819-28.

111. Powers Sk, Ji LI, Leeuwenburgh C. Exercise Traininginduced Alterations İn Skeletal Muscle Antioxidant Capacity. Med Sci Sports Exerc 1999; 31: 987-97.

112. Gülçin, İ.. Determination of antioxidant activity, characterization of oxidative enzymes, and investigation of some in vivo properties of nettle (*Urtica dioica*). PhD Thesis, Atatürk University, 2002, pp 45-48.

113. Nelson DL, Cox MM. Biyokimyanın ilkeleri. 3. Baskıdan Çeviri (Kılıç N. Çeviri Editörü). Ankara: Palme Yayıncılık; 2005.

114. Meisler, A., Anderson, M.E., Glutathione. Ann. Rev. Biochem. 1983, 711-760.

115. Schirmer, R.H., Krauth-Siegel, R.L., Schulz, G.E., Glutathione reductase, New York, John Wiley and Sons Press. 1989, p 553-596.
116. Srivastava, S.K., Beutler, E., Biochem. J., 1970, 353-357.
117. Thieme, R.R., Pai, E.F., Schirmer, R.H., Schulz, G.E., J. Mol. Biol., 1981, 763-782.
118. Boggaram, V., Brobjer, T., Larson, K., Mannervik, B., Anal. Biochem., 1979, 335-40.
119. Banarjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti S. Oxidant, antioxidant and physical exercise. Mol Cell Biochem 2003; 253: 307-12.
120. Meram, Köylüoğlu O, Tarakçıoğlu M. E vitamini ve klinik önemi. İbni Sina Tıp Dergisi 2001; 6: 66-71.
121. Bloomer, R.J., Goldfarb, A.H. Anaerobic Exercise and Oxidative Stress: A review. Can J Appl Physiol, 2004; 29: 245 – 263.
122. Greathouse, K.L., Samuels, M., Dimarco, N.M., Criswell, D.S.: Effects of Increased Dietary Fat and Exercise on Skeletal Muscle Lipid Peroxidation and Antioxidant Capacity in Male Rats Eur J Nutr, 2005; 44:429-435.
123. Powers, S.K., Criswell, D., Lawler, J., Ji, L.L., Martin, D., Herb, R.A., Dudley, G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. Am J Physiol, 1994; 266(2pt2): R 375–80.

124. Leeuwenburgh, C., Heinecke, J.W.: Oxidative stress and antioxidants in exercise. *Curr Med Chem*, 2001; 8:829-838.
125. Hellsten, Y., Apple, F.S., Sjodin, B. Effect of sprint cycle training on activities of antioxidant enzymes in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 1996; 81: 1484- 1487.
126. Tauler, P., Aguilo, A., Gimeno, I., Fuentespina, E., Tur, J.A., Pons, A. Response of blood cell antioxidant enzyme defences to antioxidant diet supplementation and to intense exercise. *Eur J Nutr Epub Ahead of Print*, (2005).
127. Robertson, J.D., Maughan, R.J., Duthie, G.G., Morrice, P.C.: Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load. *Clin Sci (Lond)*, 1991; 80:611-618.
128. Coskun, S., Gonul, B., Guzel, N.A., Balabanlı, B.;The effects of vitamin c supplementation on oxidative stress and antioxidant content in the brains of chronically exercised rats. *Mol Cell Biochem*, 2005; 280:135-48.
129. Liu, J., Yeo, H.C., Overvik-Douki, E., Hagen, T., Doniger, S.J., Chyu, D.W., Brooks, G.A., Ames, B.N.: Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants, *Appl Physiol*, 2000; 89:21-8.
130. Somani, S.M., Frank, S., Rybak, L.P. Responses of antioxidant system to acute and trained exercise in rat heart subcellular fractions *Pharmacol Biochem Behav*, 1995; 51: 627-34.

131. Karanth, J., Kumar, R., Jeevaratnam, K. Response of antioxidant system in rats to dietary fat and physical activity. *Indian J Physiol Pharmacol*, 2004; 48:446-52.
132. Pereira B, Costa Rosa LFB, Safi DA, Medeiros MHG, Curi R, Bechara EJJH. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in muscle and lymphoid organs of sedentary and exercise-trained rats. *Physiol Behav* 1994; 56: 1095–9.
133. Oh-Ishi S, Kizaki T, Okawara T, Sakurai T, Izawa T, Nagata N, et al. Endurance training improves the resistance of rat diaphragm to exercise-induced oxidative stress. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1579-85.
134. Terblanche SE. The effects of exhaustive exercise on the activity levels of catalase in various tissues of male and female rats. *Cell Biol Int* 2000; 23: 749–53.
135. Servais S, Couturier K, Koubi H, Rouanet JL, Desplanches D, Sornay-Mayet MH, et al. Effect of voluntary exercise on H₂O₂ release by subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 24–32.
136. Clarkson PM. Antioxidants and physical performance. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1995; 35: 131–41.
137. Ji LL, Fu R. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sport Exerc* 1993; 25: 225–31.
138. Leeuwenburgh C, Hansen PA, Holloszy JO, Heinecke JW. Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein

oxidation and levels of urinary dityrosine. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 186–92.

139. Inal M, Akyüz F, Turgut A, Getsfrid WM. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation in swimmers. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33: 564–7.
140. Powers SK, Lennon SL. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* 2000; 58: 1025–33.
141. Tessier F, Margaritis I, Richard MJ, Moynot C, Marconnet P. Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Med Sci Sports Exerc* 1995; 27: 390–6.
142. Palmer FM, Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty L, Swick NS, et al. Influence of Vitamin C supplementation on oxidative and salivary IgA changes following an ultramarathon. *Eur J Appl Physiol* 2003; 89: 100–107.
143. Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* 1995; 79: 675–86.
144. Tiidus PM. Radical species in inflammation and overtraining. *Can J Physiol Pharm* 1998; 76: 533–8.
145. Alonso M, Colloda P.S., Gallego J.G., Melatonin inhibits the expression of the inducible isoform of nitric oxide synthase and nuclear factor kappa B activation in rat skeletal muscle. *J. Pineal Res.* 2006; 41:8-14.

146. Saez, M.C., Barriga, C., Garcia, J.J., Rodriguez, A.B., Ortega, E., Exercise-Induced stress enhances mammary tumor growth in rats: Beneficial effect of the hormone melatonin. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2006; 294:19-24
147. Olcay H., Beydemir, Ş., Gülçin, İ., Küfrevioğlu, İ., Supuran, C.T., Effects of low molecular weight plasma inhibitors of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on human erythrocyte carbonic anhydrase isozyme activity in vitro and rat erythrocytes in vivo. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2005; 20: 35–39.
148. Sun Y, Oberley L, Li Y, A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
149. Khoschsorur GA, Winklhofer-Roob BM, Rabl H, Auer TH, Peng Z, Schaur RJ. Evaluation of a sensitive HPLC method for the determination of malondialdehyde, and application of the method to different biological materials. *Chromatographia* 2000; 52: 181-4.
150. Aebi, H. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymol.* 1984; 121–126.
151. Shannon, L. M., Kay, E. and Law, J. Y. Peroxidase isoenzymes from horseradish roots: isolation and physical properties. *J. Biol. Chem.* 1996; 241, 2116–2172.
152. Goldberg, D. M. and Spooner, R. J. Glutathione reductase. In: Bergmayer, O. H. (ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*. pp. 1983; 259-65.

153. Kaneko S, Okumura K, Numaguchi Y, et al. Melatonin scavenges hydroxyl radical and protects isolated rat hearts from ischemic reperfusion injury. *Life Sci* 2000; 67: 101-12.
154. Greg Atkinson, Barry Drust, Thomas Reilly and Jim Waterhouse The Relevance of Melatonin to Sports Medicine and Science *Sports Med* 2003; 33: 809-31.
155. Aizawa S, Tokura H, Morita T. The administration of exogenous melatonin during the daytime lowers the thermoregulatory setpoint. *J Therm Biol* 2002; 27: 115-9.
156. Reid K, Van Den Heuvel C, Dawson D. Day-time melatonin administration: effects on core temperature and sleep onset latency. *J Sleep Res* 1996; 5: 150-4.
157. Lee, P.P., A.E. Allen, and S.F. Pang. Cold stress during scotophase elicited differential responses in quail pineal, retinal, and serum melatonin levels. *Acta Endocrinol.* 1990; 122: 535–9.
158. Lee, T. M., W. G. Holmes, and I. Zucker. Temperature dependence of circadian rhythms in golden-mantled ground squirrels. *J. Biol. Rhythms* 5: 1990; 25-34.
159. Shiu, S. Y. W., S. F. Pang. Cold stress induced rise in mid light levels of serum and pineal melatonin in male hamsters. *J. Steroid Biochem.* 1984; 20B: 1467.
160. Rozenboim, I., Miara, L. Wolfenson D., The thermoregulatory mechanism of melatonin-induced hypothermia in chicken. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 1998; 274: 232-6.

161. M.J. Price, Campbell I.G. Thermoregulatory responses during prolonged upper-body exercise in cool and warm conditions. *Journal of Sports Sciences*, 2002, 20:519-27.
162. Boulant JA. Neural thermal reception and regulation of body temperature. In: Blatteis CM, editor. *Physiology and patho-physiology of temperature regulation*. London: World Scientific, 1998: 93-107.
163. Fortney SM, Vroman NB. Exercise, performance and temperature control: temperature regulation during exercise and implications for sports performance and training. *Sports Med* 1985; 2: 8-20.
164. Krause DN, Dubocovich ML. Regulatory sites in the melatonin system of mammals. *Trends Neurosci* 1990; 13: 464-70.

9. ÖZGEÇMİŞ

Araştırma Görevlisi Erdinç ŞIKTAR

1971 yılında Erzurum da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Erzurum'da tamamladı. Lisans eğitimini Atatürk Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu, Öğretmenlik Anabilim dalında birincilikle tamamladı. 1998 yılında öğretmen olarak başladığı göreve başladı. 2000 yılında Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu'na araştırma görevlisi olarak atandı. Yüksek lisans çalışmalarını Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Programı'nda tamamladı.

2006 yılında Yüksek öğretimin 2547 sayılı kanunun 35. maddesine göre Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Beden Eğitimi ve Spor Anabilimdalı'nda doktora eğitimine başladı. Uzun yıllar Palandöken, PTT, Yol, Pasinler ve Tek spor kulüplerinde lisanslı profesyonel futbol oynadı. Evli ve bir çocuk babasıdır.

İLETİŞİM:

Mail: erdincsiktar@hotmail.com

10. EK

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 2008-51

08.04.2008

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik
Kurul Kararı.

Sayın Doç.Dr. İlhami GÜLÇİN
Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü Öğretim Üyesi
25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 26.03.2008 tarihli yazı.

İlgi yazınızla belirtildiği üzere, ATADEM laboratuvarında yapılacak olan “Melatonin, serotonin, 5-hidroksi triptofan ve L-Karnitin verilen ratlarda Hipotermik ve Hipertermik ortamda yaptırılan uzun süreli dayanıklılık egzersizinin serbest radikal ve antioksidan mekanizmalar üzerine etkisi” ile “Melatonin, serotonin, 5-hidroksi triptofan ve L-Karnitin verilen ratlarda hipotermik ve hipertermik ortamda yaptırılan maksimal akut yüzme egzersizinin ve termal stresin serbest radikal ve antioksidan mekanizmalar üzerine etkisi” başlıklı araştırma çalışmalarının, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 28.03.2008 tarih ve 4 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 27 no’lu kararı ile araştırmaların Etik Kurallara uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.


Doç.Dr.Mustafa ATASEVER
Başkan

Toplantı Tarihi : 28.03.2008

Toplantı Sayısı : 4

KARAR NO : 27- Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Doç.Dr. İlhami GÜLÇİN ve Gazi Üniversitesi BESYO öğretim üyelerinden Prof.Dr.Mehmet GÜNAY’ın yürütücülüğünde ATADEM laboratuvarında yapılacak olan “Melatonin, serotonin, 5-hidroksi triptofan ve L-Karnitin verilen ratlarda Hipotermik ve Hipertermik ortamda yaptırılan uzun süreli dayanıklılık egzersizinin serbest radikal ve antioksidan mekanizmalar üzerine etkisi” ile “Melatonin, serotonin, 5-hidroksi triptofan ve L-Karnitin verilen ratlarda hipotermik ve hipertermik ortamda yaptırılan maksimal akut yüzme egzersizinin ve termal stresin serbest radikal ve antioksidan mekanizmalar üzerine etkisi” başlıklı araştırma çalışmalarının etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.