

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EGZERSİZİN SIÇAN BEYNİNDE
OKSİDAN-ANTIOKSİDAN DENGE ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

İLKAY YAKUT AKSU

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

İZMİR-2006

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EGZERSİZİN SIÇAN BEYNİNDE
OKSİDAN-ANTIOKSİDAN DENGE ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

İLKAY YAKUT AKSU

Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Osman Açıkgöz

(Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 04.KB.SAG.088 sayı ile desteklenmiştir.)

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	1
TABLO LİSTESİ	6
ŞEKİL LİSTESİ.....	7
ÖZET.....	9
ABSTRACT	10
1. GİRİŞ VE AMAÇ	11
2. GENEL BİLGİLER.....	14
2.1. EGZERSİZ.....	14
2.1.1. Egzersizin Beyin Üzerine Etkileri	14
2.2. SERBEST RADİKALLER VE HÜCRE HASARI	16
2.2.1. Serbest Radikal Kavramı	16
2.2.2. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri.....	18
2.2.3. Serbest Radikallerin Kaynakları	23
2.2.3.1.2. Ksantin Oksidaz Sistemi.....	24
2.2.3.1.4. Araşidonik Asit Metabolizması.....	25
2.2.3.1.5. Diğer Endojen Kaynaklar.....	25
2.2.4. Serbest Radikaller ile Oluşan Hücresel Hasarlar	26
2.3. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ.....	30
2.3.1. Antioksidan Savunma Enzimleri.....	31
2.3.2. Diğer Antioksidan Moleküller	33
2.4. OKSİDAN STRES	36
2.5. BEYİN VE OKSİDAN STRES	37
2.6. EGZERSİZ VE OKSİDAN STRES	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. DENEY HAYVANLARI	41
3.2. EGZERSİZ DÜZENEGİ.....	42
3.3. EGZERSİZ PROGRAMLARI.....	42
3.4. DOKU ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI	43
3.5. ENZİM AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI.....	44
3.5.1. SOD Aktivitesinin Ölçümü;.....	44
3.5.2. GPx Aktivitesinin Ölçümü.....	45

3.6.	TBARS DEĞERLERİNİN SAPTANMASI	45
3.7.	PROTEİN ÖLÇÜMÜ.....	46
3.8.	NİTRİT- NİTRAT DEĞERLERİNİN SAPTANMASI.....	46
3.9.	İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	47
4.	BULGULAR.....	48
4.1.	AKUT EGZERSİZ SONUÇLARI.....	48
4.1.1.	Deney Hayvanı Ağırlıkları	48
4.1.2.	SOD Enzim Aktivitesi Sonuçları	49
4.1.3.	GPx Enzim Aktivitesi Sonuçları.....	51
4.1.4.	Nitrit-Nitrat Sonuçları.....	53
4.2.	KRONİK EGZERSİZ SONUÇLARI.....	57
4.2.1.	Deney Hayvanı Ağırlıkları	57
4.2.2.	SOD Enzim Aktivitesi Sonuçları	58
4.2.3.	GPx Enzim Aktivitesi Sonuçları.....	60
4.2.4.	Nitrit-Nitrat Sonuçları.....	62
4.2.5.	TBARS Sonuçları	64
5.	TARTIŞMA.....	66
5.1.	AKUT EGZERSİZİN ETKİLERİ	66
5.1.1.	SOD Enzim Aktivitesi	66
5.1.2.	GPx Enzim Aktivitesi.....	67
5.1.3.	Nitrit-Nitrat Değerleri	68
5.1.4.	TBARS Değerleri	68
5.2.	KRONİK EGZERSİZİN ETKİLERİ	69
5.2.1.	SOD Enzim Aktivitesi	69
5.2.2.	GPx Enzim Aktivitesi.....	71
5.2.3.	TBARS Değerleri	72
5.2.4.	Nitrit-Nitrat Değerleri	73
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	74
7.	KAYNAKLAR.....	76

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Akut egzersiz grupları deney hayvanı ağırlıkları.....	48
Tablo 2: Kronik egzersiz grupları deney hayvanı ağırlıkları	57

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Akut egzersiz SOD aktivitesi ölçüm değerleri.....	50
Şekil 2: Akut egzersiz GPx aktivitesi ölçüm değerleri.....	52
Şekil 3: Akut egzersiz nitrit-nirat değerleri.....	54
Şekil 4: Akut egzersiz TBARS değerleri.....	56
Şekil 5: Kronik egzersiz SOD aktivitesi ölçüm değerleri.....	59
Şekil 6: Kronik egzersiz ortalama GPx aktivitesi değerleri.....	61
Şekil 7: Kronik egzersiz nitrit-nitrat ölçüm değerleri.....	63
Şekil 8: Kronik egzersiz TBARS değerleri.....	65

KISALTMALAR

BDNFBeyin Kökenli Nörotrofik Faktör
BOSBeyin Omurilik Sıvısı
CATKatalaz
GPxGlutasyon Peroksidaz
GSHİndirgenmiş Glutasyon
GSSGYükseltgenmiş Glutasyon
H₂O₂Hidrojen Peroksit
MAOMonoamin Oksidaz
MDAMalondialdehit
NADPHNikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NGFSinir Büyüme Faktörü
NONitrik Oksit
NOSNitrik Oksit Sentaz
O₂[•]Süperoksit radikali
OH[•]Hidroksil Radikali
¹O₂Singlet Oksijen
PUFAÇoklu Doymamış Yağ Asiti
RNSReaktif Nitrojen Türleri
ROSReaktif Oksijen Türleri
SODSüperoksit Dismutaz
TBARSTiyobarbitürik Asitle Reaksiyona Giren Maddeler

İL KAY AKSU

Fizyoloji Doktora Tezi

Egzersiz Sıçan Beyninde Oksidan-Antioksidan Denge Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Egzersiz pek çok sistem üzerine olumlu etkileri bilinmektedir. Akut egzersiz çeşitli dokularda oksidan ve antioksidan düzeyleri arasında dengesizlik yaratarak oksidan stres oluşturmaktadır. Düzenli egzersiz ise antioksidan savunmayı güçlendirmektedir. Egzersizin beyinde oksidan strese yol açıp açmadığını inceleyen çalışmalar yetersizdir. Bu çalışmada, farklı şiddetlerde yapılan akut ve kronik koşu bandı egzersizinin; glukokortikoidlerin etkilerinin yoğun olarak gözlendiği hipokampus, dopaminerjik nöronların sonlanma bölgeleri olan prefrontal korteks ve striatumda oksidan-antioksidan denge üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada 22 haftalık erkek Sprague Dawley sıçanlar kullanılmıştır. 10 m/dakika, 15 m/dakika, 20 m/dakika hızda 1 saat ve 25 m/dakika 5° eğimde tükeninceye kadar akut koşu bandı egzersizi yaptırılmıştır. Kronik egzersiz gruplarına ise 10 m/dakika, 15 m/dakika, 20m/dakika hızda günde 1 saat, haftada 5 gün ve toplam 8 hafta süreyle koşu bandı egzersizi yaptırılmıştır. Akut ve kronik egzersiz deneylerinde ellenmemiş sıçanlardan oluşan kontrol grubu ve koşu bandına koyulup egzersiz yapmayan sıçanlardan oluşan kontrol grubu kullanılmıştır. Hipokampus, prefrontal korteks ve striatum bölgeleri çıkarılarak süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri, nitrit-nitrat ve tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddelerin değerleri ölçülmüştür. Sonuçlar SPSS programında non parametrik Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Akut egzersizle glutatyon peroksidaz, tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddeler ve nitrit-nitrat değerleri her üç beyin bölgesinde de değişmezken, striatumda süperoksit dismutaz enzim aktivitesi hızlı koşan grupta artmış bulunmuştur. Kronik egzersizle tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddeler ve nitrit-nitrat değerleri değişmezken, hipokampusta süperoksit dismutaz aktivitesi 10 ve 15 m/dakika hızda koşan gruplarda azalmış, prefrontal kortekste glutatyon peroksidaz aktivitesi ellenmiş grupta kontrole göre artmış bulunmuştur. Sonuç olarak; akut ve kronik egzersizin prefrontal korteks, striatum ve hipokampusta oksidan strese neden olmadığı, kronik egzersizin hipokampusta muhtemelen süperoksit radikali oluşumunu azaltarak olumlu etki gösterdiği ileri sürülebilir.

Anahtar sözcükler: egzersiz, oksidan stres, prefrontal korteks, striatum, hipokampus, koşu bandı egzersizi.

ABSTRACT

The Effects Of Exercise On The Oxidant-Antioxidant Balance In Rat Brain.

İlkay Aksu

It is known that exercise has a positive effect on many systems. Acute exercise causes oxidant stress by creating an unbalanced status between oxidant and antioxidant levels by acute exercise. It is also known that exercise strengthens antioxidant defense. There is little evidence that exercise causes oxidant stress in brain. In this study, different intensity of acute and chronic exercise were applied and it was intended to reveal the effect of acute and chronic treadmill exercise on the oxidant-antioxidant equilibrium, in the prefrontal cortex and striatum where the dopaminergic neurons end and in the hippocampus, the target region of the glucocorticoids.

In this study, 22-week old Sprague Dawley rats were used. Rats were run on treadmill for 1 hour a day on speeds 10 m/min, 15 m/min, 20 m/min consequently and 25 m/min against 5 degree inclination upwards until exhaustion. In chronic exercise groups, they were run on treadmill for 1 hour a day on speeds 10 m/min, 15 m/min, 20 m/min consequently, 5 days a week for 8 weeks. In acute and chronic exercise experiments, two control groups were used. The first control group was the non-handled group which the rats were not exposed to handling stress. The second control group included the rats which were put on the treadmill without being forced to run. Hippocampus, prefrontal cortex and striatum regions were extracted and the superoxide dismutase, glutathione peroxidase enzyme activity, nitrite-nitrate levels and the levels of the substances that react with thiobarbituric acid were measured. Results were interpreted by Kruskal-Wallis one-way variance analysis using SPSS software.

In none of these three regions of the brain, glutathione peroxidase, substances that react with thiobarbituric acid and nitrite-nitrate levels were found to be effected by acute exercise but superoxide dismutase enzyme activity in striatum was found to be increased in the chronic 20 m/min group. By chronic exercise, levels of substances that react with thiobarbituric acid and nitrite-nitrate were not found to be effected, superoxide dismutase enzyme activity in the hippocampus was found to be decreased in the group of 10-15 m/min running speed and glutathione peroxidase activity in the prefrontal cortex were found to be increased in the handled group –exposed to the handling stress- compared to the control group. In conclusion, neither acute nor chronic exercise were found to cause oxidant stress in prefrontal cortex, striatum and hippocampus, but chronic exercise was found to have a probable positive effect on oxidant stress by decreasing the formation of superoxide radicals.

Key words: exercise, oxidant stress, prefrontal cortex, striatum, hippocampus, treadmill exercise.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diğer tüm hayvanlarda olduğu gibi insanın da en doğal özelliği ve canlılığının göstergesi hareket etmesidir. Günümüz çağdaş insanı otomasyon ve şehir yaşam tarzı sonucu bu doğadan gelen hareketlilik alışkanlığını kaybetmeye başlamıştır. Bugün çoğumuz için günlük yaşam çok az zorlu egzersiz içermekte ya da hiç içermemektedir. Hizmet ekonomimiz ve emekten tasarruf sağlayan sayısız araç, birçok açıdan yaşamımızı kolaylaştırdıysa da sağlık, performans ve belki de iyi bir dış görünüş elde etmemiz için gerekli olan doğal ve düzensiz egzersizleri ortadan kaldırmaktadır. Sedanter yaşam biçimi nedeniyle kardiyovasküler sistem hastalıkları, obesite, kas iskelet sistemi sorunlarından kansere kadar pek çok sağlık problemi için alınan risk her geçen gün daha da artmaktadır. Çözüm olarak sunulan yaşam boyu spor etkinlikleri ile egzersiz reçetelerine her gün bir yenisi eklenmektedir. Sağlıklı bireylerin ve sağlıklı toplumların gelişimi için düzenli egzersiz alışkanlıkları hem medya hem de resmi kurumlarca sürekli desteklenmekte, egzersizin etkilerini ve sonuçlarını yansıtan çalışmalar her geçen gün daha da artmaktadır.

Egzersizin neredeyse vücuttaki bütün sistemleri etkilediği bilinmektedir. Düzenli egzersiz kemik mineral yoğunluğunu artırır, diyabet, kanser, kardiyovasküler hastalık riskini azaltır, duygu durumumda iyilik hali yaratır [1]. Toplum tabanlı epidemiyolojik çalışmalar fiziksel aktivitenin inme riskine ve mortaliteye karşı koruyucu etkisini göstermiştir [2]. Fiziksel egzersizin beyin fonksiyonları üzerine olumlu etkileri pek çok çalışmayla belgelenmiştir. İnsanlarda bilişsel işlevlerin bozulduğu Alzheimer hastalığında, egzersizle hastalığın gelişme riskinin göreceli olarak düştüğü gösterilmiştir [3;4]. Yapılan çalışmalar egzersizin beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF) ve diğer büyüme faktörlerini artırarak beyin hasarına direnci artırdığı, nöron yaşamını uzattığı, beyin damarlanmasını kolaylaştırdığı, nöroenezisi uyardığı, öğrenmeyi güçlendirdiği ve yaşlanma sırasında bilişsel fonksiyonları koruduğunu ortaya koymaktadır [5].

Egzersiz sırasında artan metabolik hız sonucunda iskelet kasında, kalpte ve diğer dokularda oksijen tüketimi belirgin olarak artabilir [6]. Tüketilen oksijenin çoğundan ATP üretimi ve substrat metabolizması için mitokondri yararlanmaktadır. Birçok çalışma fiziksel egzersiz ile, oksijen tüketimi ve serbest radikal üretiminde artış arasındaki ilişkiyi işaret etmiştir. Normal solunum sırasında indirgenen her 25 oksijen molekülü için 1 serbest radikal üretildiği tahmin edilmektedir [7]. Akut egzersiz sırasında tüm vücutta oksijen tüketimi 10-15 kat artabilir ve aktif kaslarda oksijen akımı nedeniyle artış 100 kat kadar olabilir [8]. Egzersiz hücre içinde serbest oksijen radikalleri oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu artırmaktadır. Serbest radikal konsantrasyonundaki böylesi bir artış hücrenin antioksidan savunma sistemlerinin koruyucu kapasitelerinin üstüne çıkabilir [9]. Egzersiz oksidan ve antioksidan düzeyleri arasında dengesizlik yaratabilir. Bu durum oksidan stres olarak tanımlanmaktadır. Akut egzersizin oluşturduğu oksidan stres, lipid zarlarda, protein reseptörlerde, enzimlerde ve DNA'da hasar oluşturmaktadır [10;11]. Tek seferlik tüketici koşu bandı egzersizi sonrası sıçan iskelet kası ve kalp kası doku homejenatlarında serbest radikal üretimini arttırdığı gösterilmiştir [12]. Bejma ve Ji de tüketici egzersizin yaşlı ve genç sıçan vastus lateralis kas homejenatlarında reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşum oranını anlamlı şekilde arttırdığını belirtmişlerdir [13]. Akut egzersiz tüm vücutta oksijen alımı ve tüketimini artırarak oksidan strese neden olurken kronik egzersizin antioksidan savunmayı güçlendirdiği bilinmektedir [14].

Egzersiz beyinde oksidan-antioksidan denge üzerine etkileri yeterince bilinmemektedir. Egzersiz sırasında salgılanan glukokortikoidlere ve dopamin metabolizmasına bağlı reaktif oksijen türleri oluşabilir. Fiziksel ve psikolojik strese yanıt olarak salgılanan glukokortikoidlerin hipokampusta oksijen radikallerinin nörotoksisitesini artırdıkları, nöronal hasarı ve hastalıkları kötüleştirdikleri ve hipokampal atrofiye neden olabildikleri gösterilmiştir [15;16]. Egzersizin beyinde dopamin düzeylerini artırdığı [17] ve striatumda dopaminin yıkımını artırdığı [18] bilinmektedir. Dopaminin gerek oksijenle gerekse monoamino oksidaz (MAO) ile yıkılması sırasında ROS oluşmaktadır [19]. Egzersizin beyinde oksidan strese neden olup olmadığı ve antioksidan savunmaya etkileri çok az çalışmada incelenmiş ve ortaya çıkan sonuçlar konunun anlaşılmasını sağlamaktan çok karmaşıklaşmasına neden olmuştur. Bazı araştırmacılar 6,5 haftalık [20] ya da 8 haftalık [21] koşu bandı

egzersizi sonrası beyinde lipit peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehitin (MDA) anlamlı olarak düştüğünü; bazıları [22;23] ise anlamlı bir değişikliğin olmadığını göstermişlerdir. Diğer bir çalışma düzenli egzersizin kognitif fonksiyonları iyileştirdiğini ve sıçan beyinde oksidan hasarı azalttığını söylemektedir [24]. Sonuçlar egzersizin şiddetine, süresine, akut ya da kronik olmasına beynin farklı bölgelerinin ya da tümünün incelenmesine bağlı olarak oldukça değişkendir.

Egzersizin değişik beyin bölgelerinde oksidan-antioksidan denge üzerine etkilerinin açıkça ortaya konması beyin sağlığı bakımından en uygun egzersiz programlarını seçmede yardımcı olabilir. Oksidan stres, Alzheimer hastalığı, Parkinson sendromu, inme gibi nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol almaktadır. Eğer egzersizin beyinde oksidan-antioksidan denge üzerine olumlu etkileri varsa; bu gibi hastalıkların tedavisinde ya da önlenmesinde yeni bir bakış açısı ortaya konulabilir.

Bu çalışmada farklı şiddetlerde yapılan akut ve kronik koşu bandı egzersizinin, glukokortikoidlerin etkilerinin yoğun olarak gözlendiği hipokampus ile dopaminerjik nöronların sonlanma bölgeleri olan prefrontal korteks ve striatumda oksidan-antioksidan denge üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. EGZERSİZ

Pek çok hayvan için hareketlilik yaşamın temelidir. İnsanlar için ise egzersiz; bir süredir yaşamın anlamı, bir yaşam biçimi, bazen eğlence, bazen de tedavi anlamına gelmektedir [14].

Hareketli olmanın ve egzersiz yapmanın tüm vücut fonksiyonlarını ve sağlığı koruyucu etkileri vardır. Düzenli fiziksel egzersizin kardiyovasküler hastalık, kanser, osteoporoz ve diyabet riskini azalttığı iyi bilinen bir gerçektir [25]. Karmaşık mekanizmalara eşlik eden etkiler; yağ dokusunda azalma, lipit ve hormon profilinde değişme, reseptör ve transport proteinlerinde adaptasyon ve antioksidan savunmadaki değişiklikleri içermektedir.

Bu bölümde egzersizin yalnızca beyin üzerine etkileri konusuna değinilecektir.

2.1.1. Egzersizin Beyin Üzerine Etkileri

Fiziksel egzersizin beyin fonksiyonları üzerine olumlu etkileri pek çok çalışmayla gösterilmiştir. Son yirmi yılda hem hayvan hem de insanlar üzerinde yapılan araştırmalar egzersiz kapasitesinin bilişsel işlevler için yararlı olabileceğini ortaya koymaktadır. Egzersiz bellek ve kavrama işlevlerini güçlendirmektedir [26;27]. Fiziksel aktif yetişkinlerin sedanterlere göre daha kısa reaksiyon zamanına sahip oldukları gösterilmiştir [28]. Fitnes programlarına katılım yaşlılarda zihinsel yeteneği geliştirmektedir [27]. Egzersizin yaşlanmayla ortaya çıkan zihinsel bozulmaya karşı direnç sağladığı gösterilmiştir [4]. Lokomotor aktivitenin, gerbillerde ön beyin iskemisinin yol açtığı beyin hasarını ve mortaliteyi azalttığı bildirilmiştir [29]. Egzersiz beyin hasarlanması sonrasında fonksiyonel iyileşmeyi kolaylaştırmaktadır [30]. İnsanlarda bilişsel işlev bozuklukları ile kendini gösteren Alzheimer hastalığında; egzersiz yapan ve fiziksel aktif hayat süren bireylerin ileriki yaşlarında hastalığa yakalanma riskinin sedanterlere göre daha düşük olduğu gösterilmiştir [3;4]. Koşan farelerde dentat gyrusta nörogenesis, hipokampal spasyal öğrenme ve uzun dönem potansiyelizasyonun koşmayanlara göre daha iyi olduğu gösterilmiştir [31]. Beyinde egzersizle ortaya çıkan yapısal ve biyolojik değişiklikler; striatumda D₂ dopamin

reseptör seviyelerinde artışı, yaşa bağlı dopamin metabolizma değişikliklerini önleme yeteneğini, hipokampustaki nöropeptitlerin immunoreaktivitesinde ve muskarinik reseptör dansitesinde artışı içermektedir [32].

Eritrositlerin yaşam süreleri 120 gün olmasına rağmen beyindeki milyonlarca nöron 80 yıldan fazla yaşamaktadır. Yaşa bağlı nöron fonksiyonlarında bozulma ve dejenerasyonlar, bilişsel işlevlerde gerileme ve kişilik değişimleri gözlenebilmektedir. Beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF) ve diğer büyüme faktörleri egzersizin beyin üzerine yararlı etkilerine aracılık etmektedir [1]. BDNF, nörotrofin-3 (NT-3) ve sinir büyüme faktörü (NGF); nörotrofin ailesinin üyeleridir ve beynin pek çok bölgesinde ve omurilikte bulunurlar [33;34]. Nörotrofinler nöronal aktiviteyi düzenler. Fiziksel aktivite santral sinir sisteminde nörotrofinleri de içeren pek çok genin ekspresyonunu aktiflemektedir [35]. BDNF'nin beyin plastisitesinde etkin bir rol aldığı ve egzersizin beyin üzerine yararlı etkilerine aracılık ettiği pek çok çalışma ile desteklenmiştir [1;36;37]. Öğrenme ve bellekle ilişkili alan olan hipokampusta egzersizle BDNF artışı karakteristik bulgudur [36]. Sinaptik plastisite ve öğrenme bellek için BDNF'nin önemi, egzersizin bilişsel işlevleri güçlendirme yeteneğini ortaya koymaktadır [37]. BDNF nöron büyümesine, gelişimine ve yaşam süresine olumlu etki etmektedir [38]. BDNF erişkin beyinde aksonal ve dendritik dallanma, sinaptogenezis ve eksitatör, inhibitör sinapsların fonksiyonel maturasyonunu düzenleyerek, sinaptik transmisyonun etkinliğini artırarak, sinaptik plastisite modulasyonunda rol almaktadır [39]. BDNF'nin iskemik beyin hasarına karşı nöroprotektif etkisi olduğu da gösterilmiştir [1].

BDNF ve sinir büyüme faktörü (NGF) serbest radikal yok edicilerinin aktivitelerini artırmaktadır [40;41]. Böylece serbest radikal hasarına karşı korunma artmaktadır. Nöroprotektif ajanların kalsiyum homeostazisini ve serbest radikal oluşumunu düzeltme etkisi klinik olarak denenmeye başlamıştır ve bu parankim hasarını sınırlandırmada yeni bir ümit olarak görülmektedir [42].

Birçok çalışma egzersizin beyin fonksiyonlarını ve davranışı iyileştirdiğini göstermektedir. Egzersiz beyin plastisitesini koruyan ve destekleyen moleküler ve hücrel basamakları aktive eden temel ve oldukça uygulanabilir bir davranıştır [1].

2.2. SERBEST RADİKALLER VE HÜCRE HASARI

Serbest radikaller aerobik hücrede metabolik süreçlerde üretilirler. Lipit, protein, karbonhidrat ve DNA gibi hücre içi biyomoleküllerin fonksiyonlarında istenmeyen etkilere neden olurlar. Biyomoleküllere sadece serbest radikaller değil, radikal olmayan reaktif oksijen türleri ve nitrojen türleri de etki etmektedir [43].

2.2.1. Serbest Radikal Kavramı

Atom pozitif yüklü proton ile yüksüz nötron parçacıklarını içeren çekirdek ve çekirdeğin çevresinde bulunan başka atomlarla kimyasal bağ yapma özelliğine sahip negatif yüklü elektronlardan oluşur. Çekirdek etrafında bulunan elektronun pozisyonu belli bir zamanda kesin olarak lokalize olmayabilir, ancak uzaydaki konumu yaklaşık olarak bellidir. İşte bu elektronun çekirdek çevresinde bulunduğu enerji düzeylerine yörünge denmektedir. Her bir yörüngenin enerji değerine kuantum düzeyi denir ve k, l, m, n, şeklinde gösterilir. Çekirdeğe en yakın düzey olan k düzeyi en düşük enerji değerine sahiptir. Atomun en dış kısmında bulunan elektronlar ise en yüksek enerjili elektronlardır. Atomda en aktif olan ve kimyasal tepkimelerinin çoğunun olduğu yer de bu en dış kısımdır. En dışta bulunan elektronların atomdan uzaklaşması veya yörüngeye bir elektron eklenmesi sonucunda iyonlar oluşur. Atom elektron kaybederse pozitif, kazanırsa negatif yüklü iyon olur. Her bir yörüngede en çok 2 elektron bulunur. Eğer bir yörüngede tek elektron bulunur ise o elektron eşleşmemiş olarak adlandırılır.

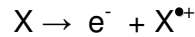
Bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektronu bağımsız bulundurma yeteneği olan herhangi bir molekül, iyon ya da bileşik serbest radikal olarak adlandırılır [44]. Serbest radikaller kimyasal sembollerinin üst tarafına konulan nokta ile gösterilirler. Örneğin O_2^{\bullet} : süperoksit radikali, hidroksil radikali: OH^{\bullet} [45]. En basit serbest radikal sadece bir eşleşmemiş elektron içermesi nedeni ile hidrojen atomudur. Biyolojik moleküllerin çoğu eşleşmiş elektron içerdiğinden radikal değildir.

Atomlar son elektron yörüngeleri doluyken ya da boşken kararlı yapılardır. En dış yörüngelerini tamamen doldurmak ya da boşaltmak amacıyla elektron alışverişi, paylaşımı yaparlar. Bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron varlığı nedeniyle genelde serbest radikaller oldukça reaktiftirler. Radikallerin kimyasal reaktiviteleri

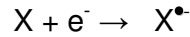
oldukça geniş bir spektrumda değişkenlik gösterir. Genellikle radikal olmayan maddelere göre daha reaktif olduklarından eşleşmemiş elektronlarını paylaşmak için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerek bu moleküllerden elektron alır ya da verirler [43;46]. Bu şekilde kendi aralarında da etkileşime girebilirler. İki serbest radikalın birleşmesi sırasında eşleşmemiş elektronları da birleşerek bir çift oluşturur. Böylece her iki radikal ortadan kalkar. Ancak organizmada bulunan moleküllerin çoğu eşleşmemiş elektron içermediğinden serbest radikaller çoğu zaman radikal olmayan maddelerle tepkimeye girerek yeni serbest radikaller oluşturur. Bu olaylar zincir tepkimeler olarak sürme eğilimindedir.

Serbest radikaller şu şekillerde oluşabilirler:

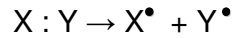
- 1) Radikal olmayan bir molekülden tek bir elektron kaybıyla



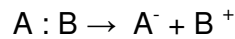
- 2) Radikal olmayan bir molekülün tek bir elektron kazanmasıyla



- 3) Homolitik yarıma olarak bilinen, kovalent bağın her elektronun her bir ayrılmış parçada kalmasıyla birlikte ayrılmasıyla [47]



Kovalent bağın ayrılması için gerekli enerji sıcaklıkla, elektromanyetik radyasyonla ya da diğer durumlarla sağlanabilir. Örnek olarak su molekülündeki O-H bağının homolitik yarımasıyla hidrojen radikali H^{\bullet} ve hidroksil radikali OH^{\bullet} oluşacaktır. Homolitik yarımanın tersi ise heterolitik yarımadır. Burada kovalent bağ kırılırken bir atom her iki elektronu da almaktadır.



Suyun heterolitik yarıması ile hidrojen iyonu H^+ ve hidroksil iyonu OH^- oluşur [44]. Hidroksil iyonu ve hidroksil radikali biyomedikal literatürde çoğu zaman birbirine karıştırılmaktadır.

2.2.2. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen molekülü iki adet eşleşmemiş elektron içermesi nedeniyle serbest radikal tanımının içinde yer almamaktadır. Oksijen molekülünün eşleşmemiş elektronlarından her biri farklı yörüngelerde bulunur ve bunlar birbirleriyle aynı yönde dönerler. Aynı yönde dönüş oksijenin zayıf reaktivitesinin nedenini açıklamaktadır. Dönüş kısıtlaması oksijenin radikal olmayan moleküllerle tepkimeye girmesini yavaşlatır [44].

Serbest radikaller ve diğer oksijen türleri aşağıda özetlenmiştir [44;48].

Oksijen merkezli serbest radikaller:

- Süperoksit radikali (O_2^{\bullet})
- Hidroksil radikali (OH^{\bullet})
- Alkoksil radikali (RO^{\bullet})
- Peroksil radikali (RO_2^{\bullet})
- Hidroperoksil radikali (HO_2^{\bullet})

Oksijen merkezli olmayan serbest radikaller:

- Karbon merkezli (Lipid radikalleri)
- Alkoksi radikalleri
- Sülfür merkezli (Sülfür radikali)
- Hidrojen merkezli (Hidrojen radikali)
- Demir merkezli (Perferil radikali)
- Azot merkezli (Nitrik oksit, Nitrojen dioksit)

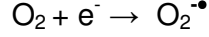
Radikal olmayan reaktif oksijen türleri:

- Ozon (O_3)
- Hidrojen peroksit (H_2O_2)
- Hipoklorik asid ($HOCl$)
- Singlet oksijen (1O_2)
- Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)

Bu türler arasında biyolojik olarak en fazla öneme sahip olanları şunlardır:

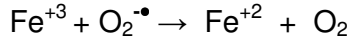
2.2.2.1. Süperoksit Radikali (O₂^{•-})

Moleküler oksijene tek elektron eklenmesi ile ortaya çıkan serbest radikale süperoksit radikali denir.



Organizmada sürekli olarak büyük miktarlarda süperoksit radikali oluşmaktadır (~10 kg / yıl). Süperoksit radikalının sulu çözeltilerdeki reaktivitesi hidroksil radikaline göre çok daha azdır. Demir-sülfür içeren enzimler, tirozin aminoasidinin hidroksil grubundan hidrojen çıkmasıyla oluşan fenoksil radikalleri ve nitrik oksit radikali gibi bazı radikallerle hızla reaksiyona girer [44].

Süperoksit radikalının reaktivitesi çözündüğü ortamın sulu çözelti ya da organik çözücü olmasına ve ortamın pH'ına göre değişmektedir. Sıvı ortamlarda süperoksit radikali daha çok indirgen olarak etki etmektedir. Örneğin Fe⁺³, Fe⁺² ye indirger.



Organik çözücülerde ise daha reaktif ve tehlikelidir. Biyolojik zarların iç bölümünde üretilen süperoksit radikali hasara neden olabilir.

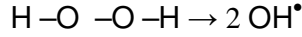
Normal metabolizma sırasında sürekli olarak oluşan süperoksit radikalleri organizmada şu reaksiyonlara girebilir [49;50].

- Süperoksit radikalleri süperoksit dismutaz ile dismutasyona uğrayarak H₂O₂ oluşturabilir. İki süperoksit radikali birbiri ile etkileşerek biri yükseltgenirken diğeri indirgenmekte böylece H₂O₂ ve O₂ meydana gelmektedir.
- Süperoksit radikalleri ortamdaki bir proton alarak perhidroksi radikali (HO₂[•]) oluşturabilir. HO₂[•] süperoksit radikalından çok daha reaktiftir, örneğin membrandaki yağ asitlerinin peroksidasyonunu başlatabilir.
- O₂^{•-} ve H₂O₂ demir iyonu katalizöründe hidroksil radikalini oluşturabilir ve bu tepkime de demir-katalizörlü Haber-Weiss reaksiyonu adını alır. Bu reaksiyonlar metal şelatörü ajanlarla inhibe edilebilir.
- Süperoksit radikalleri enzimatik olmayan dismutasyon veya Haber-Weiss reaksiyonu sırasında singlet oksijen (¹O₂) yapımına neden olabilir. Singlet oksijen süperoksit toksisitesine aracılık edebilmektedir.
- Süperoksit radikali nitrik oksit radikaliyle (NO[•]) reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturabilir. Peroksinitrit çok daha reaktif ve sitotoksik bir türdür.

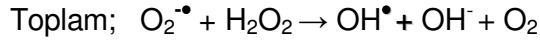
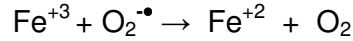
- Süperoksit radikalleri, fenoksil radikalleri ile reaksiyona girebilir ve protein yapısında modifikasyona neden olabilir. Fenoksil radikali, fenollerin oksidasyonu sonucu oluşur, organizmadaki başlıca fenol kaynakları tirozin ve E vitamindir.

2.2.2.2. Hidroksil Radikali (OH[•])

Bilinen en reaktif oksijen radikali hidroksil radikalidir. Biyolojik hasar yapma potansiyeli çok büyüktür. Hücre içindeki tüm moleküller ile reaksiyona girebilir ve serbest radikal zincir tepkimelerini başlatabilir. Hidroksil radikali organizmada çeşitli reaksiyonlar sonucu oluşabilmektedir. Birinci yol; Fenton reaksiyonu ile, hidrojen peroksitlerin oksijen bağlarının ultraviyole etkisiyle homolitik yarılmaları sonucu hidroksil radikali oluşmasıdır [44;51].



İkinci yol; Haber-Weiss reaksiyonu ile, süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ile reaksiyona girmesi sonucu oluşmasıdır. Haber-Weiss reaksiyonu özellikle demir iyonu gibi geçiş metalleri ile katalize edilmektedir.



Hidroksil radikalleri ayrıca suyun yüksek enerjili iyonizasyonu (iyonizan radyasyon) sonucu da oluşabilmektedir. Bu yolla oluşan hidroksil radikalleri minimal hasar oluşturmaktadır.

Organizmada süperoksit ve hidrojen peroksidin zarar verme potansiyelinin büyük bir kısmı demir katalizörlüğünde hidroksil, ferril ve perferril radikallerinin oluşumu ile ortaya çıkmaktadır. Ayrıca nitrik oksit radikalinin oluşturduğu bir reaksiyonla geçiş metali iyonlarından bağımsız olarak da hidroksil radikali oluşabilir (44, 52). Hidroksil radikali membran yapısında yer alan doymamış yağ asitlerini peroksidasyona uğratarak lipid radikallerinin oluşmasına neden olmaktadır. Hidroksil radikali üç tür reaksiyona katılabilir [44;46;49].

- Hidrojen ayrılması: Hidroksil radikali alkollerle reaksiyona girerek hidrojen çıkarma tepkimeleriyle bir karbon radikali ve su açığa çıkarır.

- Eklenme: Hidroksil radikali, aromatik bileşiklerdeki çift bağlara eklenebilir, örneğin DNA'daki guanin bazına eklenerek hidroksilasyonuna ve DNA zincir kırıklarına neden olur.
- Elektron transferi: Hidroksil radikali, organik ve inorganik bileşiklerde elektron transferi tepkimelerine neden olur.

2.2.2.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit eşleşmemiş elektron içermediğinden radikal değildir. Oksijenin neden olduğu doku hasarında rol alan metabolitlerinden biridir. Biyolojik olarak önemli bir yükseltgendir. H_2O_2 iki şekilde oluşabilir. Birinci yol; doğal oksijene iki elektron katılması sonucudur. İkinci yol; süperoksit radikalinin bir elektron alması ile peroksit iyonu oluşmasıdır. Peroksit iyonu ortamdaki hidrojen iyonları ile birleşerek hidrojen peroksidi oluşturur [44;52;53]. Hidrojen peroksit, çok az reaktif özelliktedir ve yüksek konsantrasyonları dışında yalnız başına hücreler için toksik olmayan zayıf bir oksidandır. Biyolojik önemi hidroksil radikali için kaynak oluşturmasıdır. $O_2^{\cdot-}$ doğrudan Fe^{+3} ile reaksiyona girer ve oluşan Fe^{+2} ile hidrojen peroksit ile tekrar reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur (Fenton reaksiyonu).

Normalde mitokondri ve peroksizomlarda belirli miktarlarda üretilen hidrojen peroksit hücrelerden katalaz, glutatyon peroksidaz ve diğer bazı peroksidazlar aracılığıyla uzaklaştırılır [49;50;52]

2.2.2.4. Singlet Oksijen (1O_2)

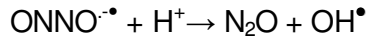
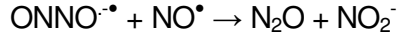
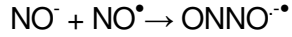
Singlet oksijen eşleşmemiş elektronu olmaması nedeniyle bir radikal değildir. Ancak çok reaktif olması ve üretimi sırasında bazı radikal tepkimeleri oluşturması nedeniyle serbest radikal sayılmaktadır [44]. Biyolojik moleküllerdeki oksijenin yeniden elektriksel düzenlenmesi ile oluşur. Enerji girdisi ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronlarının spinleri değişebilmektedir. Oksijenin bu uyarılmış şeklinde dış iki elektronu ayrı veya aynı yörüngeyi işgal edebilmektedir. Oksijenin uyarılmış bu iki formuna singlet oksijen denilmektedir [54]. Oksitleme özelliği büyük oranda artmış oksijenin daha reaktif bir formudur. Bu radikalın DNA hasarı oluşturduğu ve mutajenik etkilerinin bulunduğu gösterilmiştir [44]. Singlet oksijeni oluşturan reaksiyonlar şunlardır [46;48]

- Süperoksidin enzimatik olmayan dismutasyonu sonucu oluşabilir.

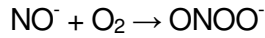
- Haber-Weiss reaksiyonu ile oluşabilir.
- Süperoksid radikalinin diaçil peroksidlerle reaksiyonu sonucu oluşabilir.
- Süperoksid ve hidroksil radikalinin reaksiyonu sonucu oluşabilir.
- Fagositoz sırasında myeloperoksidazın hidrojen peroksida etki etmesi sonucu oluşabilir.

2.2.2.5. Nitrojen Oksitler

Nitrik oksit (NO^\bullet), kimyadaki adı ile nitrojen monoksit, renksiz bir gazdır. Suda ve organik çözücülerde çözünebilmesi nedeniyle hücre zarlarından kolaylıkla geçebilmektedir. Dış yörüngesinde eşlenmemiş elektron taşıdığı için bir serbest radikaldir. Oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarına girerek çeşitli nitrojen türevleri ve hidroksil radikali oluşturabilir [44;50]. Eğer eşlenmemiş elektronu bir elektron oksidasyonu aracılığı ile kalkarsa nitrosonyum katyonu (NO^+) oluşur. Bir elektron indirgenirse nitroksil anyonu (NO^-) oluşur. Nitroksil kısa ömürlü bir reaktiftir ve NO ile reaksiyona girerek nitroz oksit (N_2O) ve hidroksil radikali oluşturabilir.



Nitroksil, oksijen ile reaksiyona girerek peroksinitriti oluşturabilir.



Havadaki moleküler oksijenle reaksiyona girerek kendisinden çok daha reaktif kahverengi bir gaz olan nitrojen dioksit (NO_2^\bullet) oluşturabilir [44;50].

Her yerde bulunabilen nitrik oksitin pek çok fizyolojik olaya katıldığı, ancak aynı zamanda çok reaktif olmasına bağlı olarak zararlı hale dönerek fizyopatolojik süreçlerin içinde de yer aldığı gösterilmiştir [55]. NO geçiş metal iyonlarına kolayca bağlanır. Fizyolojik etkilerinin pek çoğu guanilat siklaz enzimindeki hem grubu Fe^{+2} ile başlangıçta bağlanmasının bir sonucudur. Örneğin; vasküler endotel hücrelerden sentezlenen nitrik oksit kan damarlarının içine her yöne doğru difüze olur. Bazen düz kasa ulaşarak guanilat siklaza bağlanır ve onu aktifler. Sonuç olarak daha fazla siklik GMP oluşur. Kas gevşer, damarlar dilate olur ve kan basıncı düşer [44].

Nitrik oksit biyolojik sıvılarda çeşitli reaksiyonlara girerek nitrit, nitrat ve peroksinitritlerin oluşmasına neden olur. Nitrat oluşması sırasında ara ürün olarak oluşan nitrit radikali (NO_2^\bullet) ve hidroksil radikali oldukça reaktiftir [55;56].

Nitrik oksit stabil son ürünü olan nitrite dönüşmektedir ve araştırmalarda nitrit-nitrat değerleri nitrik oksit sonuçları olarak yansıtılmaktadır.

Vasküler sisteme, bağışıklık sistemine ve glial hücrelere olan fizyolojik etkilerinin dışında nöromodulasyona, nöral transmisyona sinaptik plastisite ve nöranal gelişime etkileri bilinmektedir. Örneğin; hipokampus, striatum, hipotalamus gibi beyin bölgelerinde nöronal nitrik oksit sentaz enzimi aktivasyonu ile NMDA reseptörleri tetiklenmektedir [55].

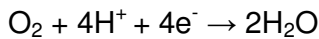
2.2.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

Reaktif oksijen türleri fizyopatolojik durumlar gibi normal metabolik fonksiyonlar sırasında da meydana gelmektedir. Organizmada serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin oluşmasına yol açan endojen ve eksojen kaynaklar bulunmaktadır.

2.2.3.1. Endojen Kaynaklar

2.2.3.1.1. Mitokondrial ve Endoplazmik Retikulum Elektron Transport Zinciri

İnsan vücudu tarafından alınan oksijenin yaklaşık %85-90'ı mitokondrial elektron transport zincirinde kullanılmaktadır. Mitokondriler adenozin trifosfat (ATP) üretimi için esas kaynağı oluşturan organellerdir. Oksidatif fosforilasyonda ATP üretilirken oksijen 4 elektron ve 4 H^+ alarak suya indirgenmektedir.



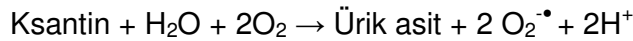
Sitokrom oksidaz demir ve bakır iyonları içerir. Bu metaller oksijenin indirgenmesinde ve aralarda kısmen indirgenmiş oksijenin güvenle bağlanmasında anahtar rol oynarlar [44;48;57]. Memelilerde bulunan sitokrom oksidazın oksijene afinitesi çok yüksektir. Örneğin oksijen konsantrasyonu 1 mmHg' nın altına indiği durumlarda bile hala çalışabilmektedir. Dolayısıyla mitokondride enerji üretimi düşük oksijen konsantrasyonlarında bile devam edebilmektedir.

Elektron transport zincirinin erken basamaklarında birkaç elektron oksijene doğru sızmakta ve bu sızma süperoksit radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır. Normal şartlarda mitokondride indirgenen oksijenin %1-3'ü süperoksit radikali oluşturabilmektedir. Mitokondri hasar gördüğü zaman sızma artmakta ve dolayısıyla süperoksit radikalleri de artmaktadır [52;58].

Pek çok hayvan ve bitki dokularının endoplazmik retikulumunda sitokrom P450 olarak bilinen sitokromlar bulunmaktadır. Çeşitli dokulardan hazırlanan endoplazmik retikulum içeren subselüler parçaların nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) ile inkübe edildiklerinde hızla süper oksit radikali oluşturdukları gösterilmiştir. Endoplazmik retikulumda da NADPH-P450 redüktaz enzimidaki flavinlerden oksijene elektron kaçağı olmakta ve süperoksit radikalleri oluşmaktadır [44].

2.2.3.1.2. Ksantin Oksidaz Sistemi

Aerobik ökaryot organizmaya alınan oksijenin %10-15'i mitokondride kullanılmaz; değişik oksidaz ve oksijenaz sistemleri tarafından ve doğrudan kimyasal (enzimatik olmayan) oksidasyon tepkimeleri yolu ile kullanılır. Ksantin ve hipoksantin ürik asite oksidasyonu ksantin dehidrogenaz enzimi tarafından katalizlenmektedir ve elektronlar oksijene değil NAD⁺ üzerine aktarılmaktadır. Böylece normal koşullarda ROS üretimi olmamaktadır [44;48]. Dokularda bol miktarda ksantin dehidrogenaz enzimi bulunmaktadır. İskemi sırasında sitozolik kalsiyum artması sonucu hücre içi proteazlar aktive olarak ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza dönüştürür. İskeminin başlamasıyla ATP katabolizması sonucu oluşan adenosin, inozine dönüştürülür. İnozin de hipoksantine dönüşür. Böylece dokularda biriken hipoksantin ve ksantin, reperfüzyonla gelen O₂ ile ksantin oksidaz enzimi aracılığıyla birleşerek O₂[•] oluşturur [59].



2.2.3.1.3. Nötrofil Fagositoz Sistemi

Polimorf nüveli hücreler ve makrofajlarda yangı sırasında oluşan solunumsal patlama serbest radikallerin olduğu bir diğer kaynaktır. Bakteriyel enfeksiyon gibi durumlarda, fagositik aktivite sırasında nötrofil ve makrofajların plazma membranında bağlı bulunan NADPH oksidaz enzim sistemi aktifleşir. Sonuç olarak oksijenden

süperoksit radikali ve hidrojen peroksit oluşabilir. Mikroorganizmalara karşı savaşmada temel mekanizma olan bu olay solunumsal patlama olarak adlandırılır [14;44]. Aktive olmuş fagositik hücrelerin bol miktarlarda hidrojen peroksit ürettiği bilinmektedir. Hidrojen peroksit yerel doku yangısında görülen sitotoksik potansiyelden sorumludur. Fagositoz sırasında Fenton ve Haber-Weiss tepkimeleri aracılığı ile hidrojen peroksitten hidroksil radikali de üretilmektedir [51].

Nötrofil ve monositlerden salgılanan bir hem proteini olan myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile hidrojen peroksit, klor ile birleşerek hipokloröz asiti (HOCl) oluşturmaktadır [44;60]. Hipokloröz asit güçlü bakterisidal etkiye sahip olan yangısal bir aracıdır. Ortamda nitrit varlığında oldukça güçlü okside edici ve klorlayıcı bir bileşik olan nitril klorit gibi diğer reaktif metabolitlere dönüşür. İnsan nötrofilleri myeloperoksidazı kullanarak, hidrojen peroksit ile nitriti çok zararlı bir bileşik olan nitrojen dioksite çevirebilir [14;61]. Makrofajlarda myeloperoksidaz enzimi bulunmamaktadır.

2.2.3.1.4. Araşidonik Asit Metabolizması

Organizmada prostaglandin sentezi sırasında da serbest radikaller oluşmaktadır. Sentezde ilk basamak, yağ asiti substratının elde edilmesi için fosfolipaz A₂ enziminin Ca⁺²'a bağımlı aktivasyonu sonucu membran lipitlerinden araşidonik asit ayırmaktadır. Araşidonik asitin eikozonoidlere (prostaglandin, lökotrien ve tromboksan) lipoksijenaz ve siklooksijenaz enzimleri ile oksidasyonu sırasında süperoksit radikali oluşumu görülmektedir [44].

2.2.3.1.5. Diğer Endojen Kaynaklar

Biyolojik olarak öneme sahip birçok molekül demir ve bakır gibi geçiş metallerinin katalizörlüğünde moleküler oksijen tarafından otooksidasyona uğramakta ve süperoksit radikali oluşturmaktadır. Bu moleküller gliseraldehit, adrenalın, noradrenalın gibi hormonlar ve dopamin gibi nörotransmitterleri kapsamaktadır [50;58].

Dopaminin MAO ile oksidasyonu ya da otooksidasyonu sonucu H₂O₂ oluşmaktadır [62;63]. H₂O₂ normalde zararsız bir hücrel metabolittir, fakat demir iyonu varlığında Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikale dönüşebilmektedir. Hidroksil

radikali veya süperoksit gibi serbest radikallerin nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde rol aldığı düşünülmektedir [44;64].

2.2.3.2. Eksojen Kaynaklar

Canlı organizmada serbest radikal oluşturan eksojen kaynaklar şunlardır [44]:

- iyonizan radyasyon,
- ultraviyole ışınları,
- hepatotoksinler (karbon tetraklorür),
- ksenobiyotikler,
- redoks siklusu yapan maddeler(paraquat, nitrofurantoin),
- kemoterapötikler (adriamisin),
- hava kirliliği,
- sigara, marihuana, alkol.
- aşırı kalsiyum ve demir alımı,
- çok yanmış gıdaların tüketimi.

2.2.4. Serbest Radikaller ile Oluşan Hücresel Hasarlar

Nükleik asitler, lipitler, proteinler, serbest amino asitler ve karbonhidratlar gibi hücresel bileşinlerle serbest radikaller reaksiyona girerek hasar oluşturabilirler. Bu reaksiyonların oluşturduğu ana etkiler başlıca şunlardır:

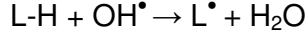
2.2.4.1. Lipit Peroksidasyonu

Serbest radikal hasarının esas süreci lipit peroksidasyonu olarak kabul edilmektedir. ROS, özellikle hidroksil radikali pek çok organik bileşiğin doymamış bağlarına saldırarak etkisini göstermektedir.

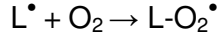
Biyolojik zarlar hücreleri ve hücre organellerini çevreleyen, lipit ve proteinlerden oluşan yapılardır. Çift tabaka fosfolipit arasına gömülü halde bulunan proteinler enzim, reseptör, taşıyıcı molekül olarak pek çok hücresel işlevde yer almaktadır. Biyolojik zarlar büyük miktarlarda yan bağlı çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) içerirler ve serbest radikal hasarına karşı çok hassastırlar. Hücre zarının

işlevlerini gerçekleştirebilmesi akışkanlığına bağlıdır. Akışkanlık ise büyük ölçüde PUFA varlığıyla sağlanmaktadır. PUFA'ların hasarında zarın akışkanlığının da azaldığı gösterilmiştir [44].

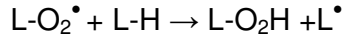
Zara yapışık poliansatüre yağ asitleri özellikle hidroksil radikali tarafından saldırıya uğrar ve yağ asiti yan zincirinden (L-H) bir hidrojen atomunun uzaklaşması ile lipit peroksidasyonu başlar.



Böylece bir yağ asiti zinciri radikal (L[•]) özellik kazanır. Lipit radikallerinin moleküler oksijenle reaksiyona girmesi sonucu lipit peroksid radikali (L-O₂[•]) meydana gelir.



Lipit peroksid radikali çok reaktiftir, zar proteinleri ve zardaki komşu yağ asidi zincirleri ile reaksiyona girerek lipit peroksidlerini ve lipit radikalini oluşturur.



Oluşan serbest radikaller zincir reaksiyonu şeklinde yeni serbest radikaller oluştururlar [44].

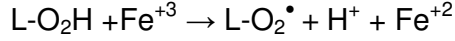
Lipit peroksidasyonunun başlaması ile olaylar; çoğu yağ molekülünün zarda oldukça hareketli bir planda bulunması ve zincirleme reaksiyonların başlangıç yönünde oluşan önemli değişiklikler nedeniyle geniş bir hal alabilir. Lipit peroksidasyonu zarın yapısında ve barındırdığı enzimlerde aşağıdaki hasarları oluşturur:

- Zarın akışkanlığını değiştirerek iyon pompalarını ve reseptörlerin bağlanmasını etkileyebilir [65].
- Zar lipitlerinin hidrolizi fosfolipaz A₂'i uyarabilir, bu da reseptör fonksiyonlarını etkiler [65].
- Artan zar geçirgenliği nedeniyle kalsiyum homeostazisi değişebilir ve ATPazların kalsiyumu tutması azalabilir [65].

Sonunda plazma membranının bütünlüğünün kaybıyla hücre ölümü ve doku nekrozu gerçekleşebilmektedir.

Zincirleme serbest radikal reaksiyonları sırasında ortamda demir ve bakır gibi metal iyonları bulunmadığında ortaya çıkan lipit hidroperoksit ve ürünleri oldukça

kararlı bileşiklerdir. Metal iyonları ve onların kompleksleri lipit hidroperoksitleri parçalayarak lipit peroksidasyonu oluşturmaktadır [44].



Lipit peroksidasyonu, lipit peroksitlerinin malondialdehit (MDA) ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona erer [44]. MDA ölçümü lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu bileşiğin miktarının saptanmasında tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddelerin (TBARS) ölçümü yapılmaktadır. Bu oldukça nonspesifik olmasına rağmen MDA tespitinde sıklıkla kullanılmaktadır [66].

2.2.4.2. Proteinler ve Serbest Radikal Hasarı

Proteinler ve proteinlerin yapıtaşı olan aminoasitler de serbest radikallerin hedeflerindedir. Proteinlerde direk hasar reaktif nitrojen ve oksijen türlerinin etkisi ile ya da ikincil hasar malondialdehit gibi lipit peroksidasyonu son ürünleri ile meydana gelebilmektedir. Örneğin; serbest ya da proteinin içinde bulunan tirozine reaktif nitrojen türlerinin saldırısı 3-nitrotirozin'in oluşmasına neden olmaktadır. Yine hidroksil radikalının ve singlet oksijenin proteinlere etkisi ile çeşitli son ürünler meydana gelmektedir. Sistein ve metioninde bulunan tiyol grupları reaktif oksijen ve nitrojen türleri ile geçiş metal iyonları varlığında kolayca okside olabilmekte ve tiyol radikalleri oluşmaktadır [44].

Transport proteinleri, reseptörler ve enzimler oksidan hasarın erken hedefleri olarak özellikle önemlidirler. Proteinlerde meydana gelen hasar ekstraselüler sıvı ve hücre içi arasında temel iyon gradiyentinin sağlanmasını etkileyebilir. Birçok hücre sel sürecin önemli bir uyarıcısı olan Ca^{+2} iyonları, hücre içinde çok düşük düzeylerde bulunmaktadır. Ca^{+2} -ATP az ve Ca^{+2} / Na^+ değiştiricisi hücre içi Ca^{+2} 'u bu fizyolojik sınırlarda tutmayı sağlar. Serbest radikaller ile bu yapılar hasarlandığında Ca^{+2} düzeylerindeki artış önemli metabolik olaylara neden olacaktır. Hücre sel iyon dengesindeki değişimler çoğu hücre sel fonksiyonu etkileyen hücre hacminin değişmesine de neden olabilir [67].

Proteinlerdeki karbonil grupları oksidatif hasarın göstergesi olarak kabul edilmektedir. Serbest radikal hasarının bir göstergesi olarak protein oksidasyon

ürünleri, spektrofotometrik yöntemle doku veya plazma örneklerinde ölçülebilmektedir [58].

2.2.4.3. DNA ve Serbest Radikal Hasarı

Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin kanser gelişimine neden olduğuna ve bunu sadece DNA'yı direkt etkileyerek değil, aynı zamanda sinyal iletimini, hücre proliferasyonunu, hücre ölümünü ve hücre içi iletişimi etkileyerek yaptığına dair kanıtlar bulunmaktadır. ROS pürin ve pirimidin bazlarında kimyasal modifikasyonlara neden olabilir ve oksidatif baz modifikasyonları mutasyonla sonuçlanabilir [68]. Hidroksil radikali DNA'nın bütün bazlarında modifikasyon oluştururken, singlet oksijen öncelikle 8-hidroksilasyon yoluyla guanin bazını modifiye etmektedir.

Serbest radikaller baz lezyonları, şeker lezyonları, tek zincir kırılması, DNA-protein çapraz bağları oluşturma gibi çok değişik yollarla DNA ve nükleoproteilerde lezyonlara neden olmaktadır. DNA hasarı deoksinukleotidleri ve bazıları serbestleştirilen endonukleaz ve glikozilaz enzimleriyle onarılmaktadır. Bazlar direk olarak idrara atılır, deoksinukleotidler ise idrara atılmadan önce mononukleotidlere metabolize edilir. Oksidasyona uğrayan nükleotidlerin idrarda bulunmaları bu sürecin patolojik olmayan koşullarda da oluştuğunu göstermektedir. Oksidatif DNA hasarını belirlemek için çoğunlukla idrarda 8-hidroksiguanin ve 8-hidroksi-2-deoksiguanosin ölçümü kullanılmaktadır [69].

2.2.4.4. Karbonhidratlar ve Serbest Radikal Hasarı

Serbest radikaller glukoz ve diğer monosakkaritleri de hasara uğratabilirler. Hidroksil radikallerinin glukozu etki etmesi sonucu peroksit radikalleri oluşmaktadır. Ayrıca glukoz, aldehit grubu içermesi nedeniyle toksik etki yapabilmektedir. Aldehitler reaktif maddelerdir ve proteinler ile DNA'ya bağlanarak enzimatik olmayan glikasyonlara yol açarlar. Glikasyon reaksiyonu glikoz seviyeleri yükseldiğinde daha kolay oluşur ve diabetli hastaların bazı proteinlerinde saptanabilir [44;58]. Glikasyon ürünlerinin serbest radikallerle oksidasyonu sonucu ileri glikasyon son ürünleri oluşur. Glikasyon son ürünleri birikimi doku hasarına neden olur. Kollajen dokuda birikmesi elastikiyet kaybına ve böbrekte bazal membran hasarına neden olabilir [44].

2.3. ANTIOKSIDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Hücreler metabolik süreçlerin bir parçası olarak sürekli reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller üretirler. Bu serbest radikaller süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi enzimler ve A, C, E vitaminleri, ubikinon, glutatyon, ve flavonoidler gibi enzim dışı antioksidanları içeren antioksidan savunma sistemlerince nötrale edilirler [66]. Okside olabilen bir maddenin oksidasyonunu geciktiren ya da önleyebilen maddeler antioksidan olarak tanımlanmaktadır [70]. Belirli bir düzeye kadar olan oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir seviyede bulunan doğal endojen antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Böylece organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli bir düzeyin üzerinde oluşur veya antioksidanlar yetersiz kalırsa, oksidan moleküller organizmanın yapı taşları olan protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asit ve yararlı enzimleri hasara uğratırlar [71].

Antioksidan savunma sistemi aşağıdaki komponentlerden oluşur [44;70]

- Serbest radikaller ve diğer reaktif türleri ortadan kaldıran enzimler: Superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx).
- Demir ve bakır iyonları gibi prooksidanların etkilerini en aza indiren proteinler. Örneğin: transferrin, haptoglobulin, hemopeksin, metallothionin, seruloplazmin.
- Düşük molekül ağırlıklı ajanlar. Örneğin: glutatyon, α - tokoferol. Askorbik asit ve α - tokoferol gibi bazı düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar diyetle alınırlar. Beslenme ve antioksidan savunma arasında özel bir ilişki bulunmaktadır.
- Biyomolekülleri hasarlanmaya karşı koruyan diğer moleküller. Örneğin; ısı şok proteinleri.
- İlaçlar. Örneğin; sitokinler (tümör nekroz faktör ve interlökin), demir şelatörleri (desferroksamin, dimetil tioüre, seruloplasmin), ksantin

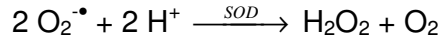
oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipurinol), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlar), mannitol, barbitüratlar, flavonoidler, trimetazidin, indepamid, histamin reseptör blokerleri.

Antioksidan savunmanın kompozisyonu dokudan dokuya, hücreden hücreye farklılıklar göstermektedir. Hücre dışı sıvılar hücre içi çevreden daha farklı koruyucu mekanizmaları içermektedir. Örneğin; insan vücudundaki sıvılar toksik ozon veya nitrojen dioksit gazına maruz kaldığında koruyucu antioksidan olarak ürik asit ortaya çıkmaktadır. Öte yandan, hipokloröz asidin kan plazması elemanlarına verdiği zarara karşı urat oldukça zayıf bir koruyucudur.

2.3.1. Antioksidan Savunma Enzimleri

2.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunan ve süperoksitin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir. Bu enzim sadece süperoksit radikali için spesifiktir. Enzimatik olmayan koşullarda çok yavaş olan dismutasyon tepkimesini 10^4 kat hızlandırarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluşturmaktadır.



SOD aktivitesi dokulara göre değişiklik göstermektedir. Örneğin; karaciğerde kalbe göre dört kat daha fazladır. Memeli dokularında SOD enzimi temelde hücre içi yerleşimlidir, %10 kadarı hücre dışında bulunmaktadır [44]. SOD'ın üç farklı formu bulunmaktadır [44]:

A. Bakır ve çinko içeren (Cu-Zn SOD) dismutazlar (Sitozolik SOD): Aktif bölgesinde bakır ve çinko içerir. Bu enzim hücrelerin sitoplazmasında yerleşmiştir. Çinkonun stabiliteyi sağladığı, bakırın ise aktiviteden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Çinkonun ayrılması geri dönüşümsüz iken bakır geri dönüşümlü olarak ayrılıp tekrar bağlanabilir. Isıtmaya, proteazlara ve üre gibi ajanlarla denatürasyona karşı dirençlidir. Cu-Zn SOD karaciğer, beyin ve testiste en yüksek, akciğer ve pankreasta ise en düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır.

B. Manganez içeren (Mn-SOD) dismutazlar (Mitokondrial SOD): Mitokondri matriksinde bulunan Mn-SOD birbirinin aynı olan iki alt birimden oluşur ve her alt

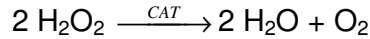
birim başına birer atom mangan bağlıdır. Mitokondri elektron taşıma zincirindeki sızma sonucu ve mitokondrial enzimler tarafından oluşturulan süperoksit radikalini uzaklaştırır. Aktif bölgeden manganın uzaklaştırılması katalitik aktiviteyi ortadan kaldırır. Isı veya kimyasallarla denaturasyona karşı Cu-Zn SOD'a göre daha dayanıksızdır.

C. Demir içeren dismutazlar (Fe-SOD): Aktif bölgesinde demir iyonu taşımaktadır. Hücre matriksinde yerleşmiştir ve iki protein alt ünitesi vardır Yapısal olarak Mn-SOD'a büyük benzerlik göstermesine rağmen her iki enzim de aktif bölgelerinde kendi metal iyonları olduğu zaman çalışabilmektedir. Mn-SOD enziminin endojen süperoksit radikallerine karşı, Fe-SOD enziminin ise eksojen radikallere karşı koruyucu etki gösterdiği kabul edilmektedir. Fe-SOD bitkilerde ve bazı bakteri türlerinde bulunmaktadır. İnsanlarda bulunmaz.

SOD aktivitesi doku oksijenlenmesine duyarlı olan biyosentezi aracılığı ile düzenlenmektedir. Artmış pO₂ veya hücre içi oksijen konsantrasyonunda artış SOD biyosentezini hızlandırmaktadır [72]. SOD içermeyen bakteri ve mantar mutantlarının sebest radikal hasarına duyarlı olduğu gösterilmiştir [73].

2.3.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi peroksidazlar grubunun bir üyesidir. Aktif bölgesinde hem grubu içermektedir. Hidrojen peroksidin ortadan kaldırılmasını katalizlemektedir.



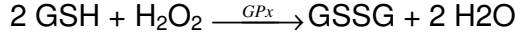
Katalaz; düşük hızlarda H₂O₂'nin olduğu durumlarda peroksidatif tepkimeyle, H₂O₂ oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle H₂O₂'i suya dönüştürerek ortamdaki uzaklaştırır.

Aerobik hücrelerin çoğu, bazı bakteriler, parazitik helmintler, mavi-yeşil algler katalaz aktivitesi içermektedir. Hayvanlarda tüm majör organlarda, özellikle karaciğerde yoğun olarak bulunmaktadır. Beyin, kalp ve iskelet kasındaki seviyeleri daha düşüktür [44;74].

2.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Her biri aktif bölgesinde selenyum atomu taşıyan dört adet protein alt ünitesinden oluşmaktadır. Selenyum bölgesi enzimin aktif kısmıdır. GPx, hidrojen

peroksit ve organik peroksitlerin temizlenmesinde görevlidir. Hidrojen peroksiti indirgenmiş glutatyonla bağlayarak suya indirgenmesini sağlamaktadır. Bu reaksiyon sırasında indirgenmiş glutatyonu (GSH) yükseltgenmiş glutatyona çevirir (GSSG).



GSH düşük molekül ağırlıklı ve tiyol (-SH) içeren bir tripeptiddir. Reaksiyona giren glutatyonlar disülfid bağları ile bağlanarak indirgeyici özelliklerini yitirirler, bu sebeple GSSG'nin tekrar GSH'a döndürülmesi gerekmektedir. Bu reaksiyon NADPH bağımlı bir enzim olan glutatyon redüktaz tarafından katalizlenir. Reaksiyonda kullanılan NADPH ise pentoz fosfat yolundan sağlanır [75].

GPx iki tip enzim içermektedir. Birincisi, klasik tip GPx'dir. Plazmada düşük seviyelerde bulunmaktadır, plazmada GSH seviyesi de çok düşük olduğu için GPx enzimi olarak fonksiyon görüp görmediği tam olarak bilinmemektedir. İkincisi, fosfolipit hidroperoksit glutatyon peroksidazdır (PHGPx). Bu enzim yağ asidi ve kolesterol hidroperoksidleri azaltmakla görevlidir (44). GPx DNA'daki timine serbest radikallerin saldırısı sonucu oluşan timin hidroperoksiti ortadan kaldırır. Selenyum yoksunluğu olan sıçanlarda PHGPx düzeyleri GPx düzeylerinden çok daha düşüktür. Bu da temel olarak PHGPx aktivitesinin daha önemli olduğunu vurgulamaktadır [76;77].

2.3.2. Diğer Antioksidan Moleküller

2.3.2.1. Glutatyon (GSH)

Glutatyon organizmada birçok metabolik süreçte rol oynamaktadır. Bunlardan başlıcası, glutatyon peroksidaz enzimi için kofaktör oluşturmasıdır. Ayrıca, askorbik asit metabolizmasında, hücreler arası haberleşmede [78], proteinlerin sülfidril gruplarının oksidasyonunu engellemede ve hücre içi bakır transportunda görev almaktadır. GSH bakır iyonları ile şelat yaparak serbest radikal oluşma yeteneğini veya en azından radikallerin sıvı içine salınımını azaltır. GSH farklı metabolik yollarda pek çok enzim için kofaktördür. Hemen hemen tüm memeli dokularında yüksek konsantrasyonlarda GSH bulunmaktadır. Glutatyon, hidrojen peroksitin suya dönüştürülmesindeki görevinin yanısıra hidroksil radikali, peroksil radikali ve

peroksinitrit gibi serbest radikallerle reaksiyona girerek serbest radikal hasarını önlemektedir [44;51;75].

GSH hücre içinde bazı toksinlerle birleşerek onları zararsız hale getirir. Bu reaksiyon memeli hücrelerinde yaygın bir şekilde bulunan glutatyon transferaz enzimi tarafından katalizlenir [45].

2.3.2.2. Transferrin, Ferritin ve Serüloplazmin

Demir ve bakır, insan vücudunda bulunan çok büyük sayıda enzimin ve solunumda yer alan diğer proteinlerin sentezi, oksijenin taşınması, nitrik oksit radikalının oluşumu ve diğer redoks tepkimeleri için temeldir. Bu metaller bir elektron çekebilme yetenekleri ile otooksidasyon (adrenalin, dopamin ve askorbatın oksidasyonu) reaksiyonlarının güçlü bir katalizörü olarak, hidrojen peroksitin hidroksil radikaline dönüşmesinde ve lipit peroksitlerin reaktif peroksil ve alkoksil radikallerine ayrışmasında rol alarak oldukça yüksek zarar verme potansiyeline sahiptirler. Sadece serbest metal iyonları olarak değil aynı zamanda hem ve hem proteinleri içinde katalizördürler. Oksijen ve nitrik oksit gibi demir ve bakır da hem gerekli hem de tehlikeli olabilir [44].

Transferrin başlıca karaciğerde sentezlenen, plazmada bulunan demiri bağlayan bir glikoproteindir. Yapısını oluşturan N ve C terminallerinin her birine sıkıca birer demir atomu bağlama kapasitesi bulunmaktadır. Sağlıklı bir kişide transferrinin % 20-30 kadarı demirle yüklüdür. Asit ortamlar demirin transferinden salınmasına neden olmaktadır. Başlıca hücre içi demir ferritinin içinde depolanmaktadır. Her molekül ferritin çevresinde 4500 adet demir atomu tutma kapasitesine sahiptir [44]. Transferrin serbest demiri bağlayarak demirin lipit peroksidasyon tepkimelerini başlatmasını önlemektedir. Transferrin demirle tam bağlı olmadığı sürece antioksidan etki gösterir iken; tam doyurulduğunda plazmaya demir salarak prooksidan olabilmektedir [51].

Seruloplazmin bakır bağlayan bir glikoproteindir. 6 tane sıkı bağlı ve sıklıkla 7. si gevşek bağlanmış bakır iyonları içermektedir. Seruloplazmin kateşolaminleri içeren polifenol bileşiklerinin ve poliaminlerin oksidasyonunu katalizleyebilir, ancak bu reaksiyonlar asidik ortamda gerçekleştiği için biyolojik önemi belirsizdir. Sahip olduğu ferroksidaz aktivitesi ile Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e yükseltgenmesini katalizleyerek demirin

transferine bağlanmasını kolaylaştırır. Prooksidan bir metal olan bakırı da bağlayarak antioksidan etki göstermektedir [73].

2.3.2.3. Besinsel Antioksidanlar

Besinler ve sağlık arasında çok yakın bir bağ olduğu düşüncesi Hipokrat'a kadar dayanmaktadır [79]. Diyet kaynaklı antioksidanların insanlarda hastalıkları önlemede rol aldığı, örneğin E vitamininin kardiyovasküler hastalıklara karşı güçlü bir koruyucu olduğu gösterilmiştir [80;81]. Besinsel antioksidanların oksidan hasarı nasıl modifiye ettiği pek çok araştırmayla açıklanmaya çalışılmıştır.

Bir peroksil radikal tüketicisi olarak E vitamini hayvanlarda lipit peroksidasyonu sırasında serbest radikal zincir reaksiyonlarında önemli bir inhibitördür. Hem bitkilerde hem de hayvanlarda yaygın olarak bulunmaktadır. d- α , d- β , d- δ , d- γ tokoferoller ve d- α , d- β , d- δ , d- γ tokotrienoller olmak üzere sekiz adet E vitamini aktivitesine sahip madde bulunmaktadır. d- α tokoferol hayvanlarda bulunan en aktif formudur. Tokofenoller ve tokotrienoller lipit peroksidasyonu sırasında oluşan radikallerle birleşerek, onların yağ asidi yan zincirlerine ve membran proteinlerine bağlanmasını engelleyerek antioksidan etkinlik göstermektedirler. Singlet oksijenle reaksiyona girip etkisini söndürerek bu türlere karşı membran koruyucu etki göstermektedir [44].

C vitamini (askorbik asit) hidrofilik yapısıyla sıvı ortamlarda E vitamininden daha iyi işlev görmektedir. Kollajen biyosentezinde yer alan pirolin hidroksilaz ve lizin hidroksilaz enzimleri için kofaktördür. Süperoksit radikali, hidroksil radikali ve çeşitli lipit hidroperoksitlerle doğrudan reaksiyona girerek antioksidan etkinlik gösterebilir. Vücut sıvılarındaki ozon ve nitrojen dioksit radikallerine karşı yok edici rolüyle havada bulunan zehirli gazlara karşı akciğeri korumaktadır. α -tokoferol radikalini α -tokoferole çevirerek ona antioksidan özellik katmaktadır. Yüksek konsantrasyonları prooksidan eki gösterebilmektedir. Bu etki Fe^{+3} 'ü, Fe^{+2} 'e indirgemesinden kaynaklanmaktadır.

A vitamini büyüme, üreme, görme ve immun sistem için gereklidir; ayrıca karsinogenez üzerine inhibitör etkisi gösterilmiştir [68]. İnsanlarda A vitamininin kaynağı diyetle alınan karotenlerdir. Karotenler bitkilerde fotosentez sırasında reaktif oksijen türlerinin oluşmasını engelleyerek antioksidan görev yaparlar. Porfiri hastalarında ışığa bağlı oluşan deri hasarına karşı koruyucu olarak beta karoten

verilmektedir [82]. Beta karoten güçlü bir singlet oksijen yok edicisidir. Ksantin oksidaz aracılığı ile oluşan lipid peroksidasyonunu önlemektedir. C vitamini gibi hem antioksidan hem de prooksidan özeliğe sahiptir.

2.4. OKSİDAN STRES

Sağlıklı aerobik organizmada ROS ve RNS oluşması ile antioksidan sistemlerin buna karşı savunması yaklaşık olarak dengededir. Bu denge; bazı ROS/RNS'nin aracılık ettiği hasarlanmanın ve hasarlı moleküllerin tamir edilmesi (DNA) ya da yerine konması (okside proteinler) işlemlerinin sürekli olması nedeniyle mükemmel değildir [44]. Oksidan stres; hücresel antioksidan savunmanın reaktif oksijen türlerinin seviyesini toksik eşiğin altında tutmakta yetersiz kalması olarak tanımlanabilir [75]. ROS/RNS üretimi ve antioksidan savunma arasındaki dengesizlik durumunu anlatmaktadır. İnsan vücudunda meydana gelen oksidan hasarın pek çok kanıtı bulunmaktadır. Örneğin, kronik yangısal hastalıklarda ve sigara içenlerde görülen ılımlı DNA oksidatif baz hasarı romatoid artritli hastalarda ve sigara tiryakilerinde idrar örneklerinde yüksek miktarlarda 8-hidroksideoksiguanozin tespitiyle gösterilmiştir [44].

Oksidan stres, aşırı ROS üretimi, antioksidan savunmanın yetersizliği ya da her iki durumun birlikte bulunması ile oluşur [75]. Jamaika'da yapılan bir araştırmada protein eksikliği hastalığı olan kwashiorkor'lu çocuklarda oksidatif hasara bağlı pek çok problemin olduğu ve buna düşük glutatyon seviyeleri ve aşırı demir birikiminin eşlik ettiği belgelenmiştir [83]. Yüksek konsantrasyonlarda oksijene maruz kalmanın yarattığı ROS/ RNS üretiminde aşırı artış ise bir diğer örnektir [44].

İnsan vücudunda normal fizyolojik şartlar altında serbest radikaller ve hidrojen peroksit sabit bir hızla üretilir. Serbest radikallerin zararlı etkileri antioksidan savunma sistemleri tarafından azaltılır. Normal hızda üretilen serbest radikallere karşı yeterli etkinlikte antioksidan savunma sistemleri bulunur. Ancak antioksidan savunma sistemlerinin büyük bir yedeği yoktur. Hafif oksidan stres sonrası hasarlı moleküller tanınır, uzaklaştırılır ve yerine yenileri yapılırken şiddetli oksidan streste hücre hasarlanması olur. Sonuç olarak oksidan stresle adaptasyon ya da hücre ölümü gerçekleşebilir [45].

2.5. BEYİN VE OKSİDAN STRES

Beyin ve sinir dokusu oksidan strese yatkınlık göstermektedir. Bu yatkınlığın başlıca nedenleri şunlardır:

- Nöronal membranlar arasında kalsiyum (Ca^{+2}) trafiğinin hızlı olması. Normalde hücre içinde serbest kalsiyum seviyesi çok azdır, kalsiyum mitokondri içinde, endoplazmik retikulumda veya kalmoduline bağlı olarak bulunmaktadır. Organizmada ROS oranı artarsa mitokondri hasar görebilir ve kalsiyum açığa çıkarak serbest hale geçer. Serbest kalsiyum oranının artması hücrede iki yönde etki yapar. Birincisi; membran yapısını bozulabilir, ikincisi; kendisine bağımlı enzimler olan nitrik oksit sentaz ve fosfolipaz A₂ enzimlerinin aktiviteleri artar. Sonuç olarak NO radikali oluşumu artar ve hücre hasar görür [44].

- Oksijen tüketiminin yüksek olması: Diğer dokularda olduğu gibi beyinde de mitokondri O_2^{\bullet} oluşturabilir ve mitokondrial DNA'da yaşla beraber mutasyon ve delesyonlar artabilir [44].

- Eksitotoksik aminoasitler; glutamat ve aspartatın varlığı [84]. Oksidan stres nöronlardan eksitator aminoasitlerin salıverilmesini artırarak bir kısır döngüye yol açabilir. Diğer bir olasılık da ROS'ların glial hücreler aracılığı ile glutamat geri alınımını azaltması ve glutamin sentaz enzimini inaktive etmesi olabilir [44].

- Bazı nörotransmitterler otookside olabilen moleküllerdir. Dopamin, L-DOPA ve noradrenalin O_2 ile reaksiyona girerek O_2^{\bullet} , H_2O_2 ve reaktif kinonlar/semikinonlar oluşturabilir [44]. Striatum dopaminden zengin bir beyin bölgesidir.

- Beyin omurilik sıvısının (BOS) demir bağlama kapasitesinin plazmadan farklı olmaması. BOS'ta total demir ve ferritin değerleri birbirine çok yakındır, dolayısıyla BOS'taki ferritin yaklaşık olarak demir saturasyonuna eşittir. Beyin dokusunun hasarı serbest radikal reaksiyonlarını katalizleyecek şekilde demir iyonları salıverilmesine neden olur [44].

- Nöron zarlarında bulunan lipitlerin, yüksek oranda kolayca okside olabilen çoklu doymamış yağ asidi içermesi [44]. İzole beyin dokusundan yapılan homojenizasyonda antioksidan zincirlerin kırılmasıyla ya da desferroksamin gibi demir şelatörlerinin inhibisyonuyla lipit peroksidasyon hızında artış gözlenmiştir [44].

- Beyin metabolizmasının H_2O_2 oluşturması: Örneğin, dopaminin MAO ile oksidasyonu sırasında H_2O_2 oluşur [44].
- Antioksidan enzimlerin düşük seviyede olması: Özellikle CAT çoğu beyin bölgesinde düşük seviyededir [44].
- Glial hücrelerin bir kısmının mikroglıadan oluşması. Mikroglıalar sinir sisteminin makrofajlarıdır ve diğer makrofajlar gibi aktive olduklarında H_2O_2 ve $O_2^{\bullet-}$ oluşturabilir, sitokinleri (IL1, IL6, $TNF\alpha$) salgılayabilirler. $TNF\alpha$ aktivasyonu ile ROS oluşumu artabilir ve hücre hasarıyla sonuçlanabilir [44].
- Sitokrom P450 enziminin bazı beyin bölgelerinde bulunması.

2.6. EGZERSİZ VE OKSİDAN STRES

Egzersiz sırasında metabolik hızda meydana gelen artış sonucunda iskelet kasında, kalpte ve diğer dokularda oksijen tüketimi belirgin olarak artar. Tüm vücutta egzersiz sırasında oksijen tüketim hızının 10-15 kat artabileceği, aktif kaslarda artan kan akımı nedeniyle artışın 100 kat olabileceği bildirilmiştir [8]. Bir kısım oksijen, süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerine dönüşebilir. Egzersiz sırasında meydana gelen bir takım fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklerin altta yatan mekanizmasının reaktif oksijen radikallerinin oluşumu olduğuna inanılmaktadır ve bunlar oksidan stresin belirleyicileridirler [85].

Egzersiz sırasında reaktif oksijen türlerinin üretimi için alternatif yollar olsa da; birincil olan mitokondrial elektron taşıma zinciridir. Kas mitokondrieleri hidroksil radikali, hidrojen peroksit, süperoksiti içeren bir kaynaktır [86]. Egzersiz sırasındaki mitokondrial fonksiyona ve oksidan üretimine bağlı olarak mitokondride nitrik oksit oluşmaktadır [87]. İlımlı miktarlarda nitrik oksit mitokondriyal solunumu düzenleyebilir, ancak süperoksit radikali gibi radikallerle reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturabilir [88].

Egzersiz sırasında artan oksijen tüketimi serbest radikal oluşumunu açıklayan tek mekanizma değildir. Ağırlık kaldırma ya da yüksek yoğunlukta aerobik çalışmanın yarattığı geçici doku hipoksisi hidrojen iyonlarının artmasına yol açabilir, hidrojen süperoksit anyonları ile reaksiyona girerek ilave reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olabilir [85]. Doku hipoksisi demir ve bakır gibi geçiş metallerinin serbest

kalmasına yol açarak bu metallerin katalizlediği serbest radikal reaksiyonlarını olaya ilave etmektedir [89].

Fagositik beyaz kan hücreleri de güçlü oksidanlar üretirler. Yorucu ya da akut tüketici egzersizi takiben hücre hasarlanması nedeni ile nötrofiller hasarlı iskelet kasına infiltre olabilirler. Aktif hale geçen nötrofiller membrana bağımlı NADPH oksidaz enzimini kullanarak süperoksit radikalini oluştururlar. Süperoksit hedef bileşiklerle direk olarak reaksiyona girebilir ya da dismutasyonla hidrojen peroksite dönüşür. Hidrojen peroksit, monosit ve nötrofillerden salgılanan bir hem proteini olan myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile, hipokloröz asite dönüşür. Hipokloröz asit yangısal olaylarda yer alan bir aracıdır ve nitrit varlığında oldukça güçlü okside edici ve klorlayıcı bir bileşik olan nitril klorid gibi diğer metabolitlere dönüşür [61].

Dolaşımdaki kateşolamin seviyeleri uzun süren egzersizle artmaktadır. Kateşolaminler myokard ve iskelet kasında beta adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu aracılığı ile oksidatif metabolizmayı artırmaktadır. Bu durum mitokondride reaktif oksijen türlerinin artımı için bir potansiyeldir. Epinefrinin otooksidasyonu sırasında süperoksit oluşur. Yine de egzersiz sırasında üretilen reaktif oksijen türlerine nicel olarak kateşolamin katkısı gösterilememiştir [14].

Hücre organellerinden olan peroksizomlar, hücrede D-amino asitlerin ve yağ asitlerinin mitokondrial olmayan oksidasyonunu içermektedirler. Normal fizyolojik koşullarda, kararlı haldeki hidrojen peroksidin oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar. Uzun süreli egzersiz sırasında myokard ve iskelet kası için birincil enerji kaynağının yağ asitleri olması nedeni ile peroksizomlar da reaktif oksijen türlerinin üretimi için bir yerdir. Tek seferlik akut egzersiz sonrasında kasta katalaz aktivitesinin artışı bulgusu bu hipotezi destekler görünümündedir [90;91]. Ancak egzersizin peroksizomal ROS üretimini artırdığına dair kanıtlar henüz yeterli değildir [14].

Fiziksel egzersiz sırasında meydana gelen oksidan hasarın büyüklüğü sadece serbest radikal oluşumuna değil aynı zamanda antioksidan savunma sistemlerinin kapasitesine de bağlıdır. Tek seferlik akut egzersizin iskelet kası, kalp ve karaciğerde SOD, GPx ve katalazı içeren antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı bilinmektedir [92]. Aktivasyonun başlangıcı ve büyüklüğü çeşitli enzim ve dokularda farklılıklar göstermektedir. Değişen egzersiz sürelerinde hangi antioksidan enzimin aktive olacağına mekanizması bilinmemektedir. Yüksek konsantrasyonlardaki oksidan

maddelerin kısmen enzim moleküllerince işgali diğer katalitik aktiviteleri de artırmaktadır [92].

Sonuç olarak akut egzersiz antrene olmayan hayvanlarda oksidan seviyelerini ve oksidan stresi artırmıştır [10;13]. Ancak uzun dönem egzersiz; azalan oksidan seviyeleri ve artan antioksidan enzim aktiviteleri ile buna karşı koymaktadır [10]. Bu savunma egzersiz sırasında ve sonrası dinlenmede kronik oksidan hasara karşı kasları korumada kritik önem taşıyor olabilir [93].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Yapılan tüm deneyler için; Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu'ndan 18/11/2003 tarihinde 03/20/04 nolu toplantıda 101 protokol numarasıyla, yapılması etik açıdan uygundur onayı alınmıştır.

3.1. DENEY HAYVANLARI

Bu çalışmada erişkin (22 haftalık) $348,3 \pm 4,9$ g (Ortalama \pm Standart Hata) ağırlığında erkek Spague Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Deneyler için gerekli 80 adet deney hayvanı Başkent Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanı Üretim ve Araştırma Merkezi'nden sağlanmıştır. Sıçanların uygun taşınma koşullarında özel taşıma kafesleri ile fizyoloji anabilim dalına ulaştırılmasının ardından yeni ortama uyum sağlamları için iki hafta standart koşullarda barındırılmıştır. Tüm sıçanlar her kafeste üç ya da dört hayvan olacak şekilde, standart pellet yemlerine ve suya serbestçe erişebilecekleri konumda bulundurulmuştur. Her deney grubunda sekizer hayvan olacak şekilde, 10 deney grubu oluşturulmuştur. Gruplar için hayvan seçimi rasgele yapılmıştır.

Deney grupları aşağıdaki gibidir:

1. Kontrol grubu (C): Ellenmemiş sıçanlardan oluşmuştur.
2. Akut egzersiz kontrol grubu (CA): Bir saat süre ile küçük hayvan koşu bandında duran sıçanlardan oluşmuştur.
3. Akut egzersiz grubu 1 (A1): 10 m/dak hızda küçük hayvan koşu bandında bir saat egzersiz yapan sıçanlardan oluşmuştur.
4. Akut egzersiz grubu 2 (A2): 15 m/dak hızda küçük hayvan koşu bandında bir saat egzersiz yapan sıçanlardan oluşmuştur.
5. Akut egzersiz grubu 3 (A3): 20 m/dak hızda küçük hayvan koşu bandında bir saat egzersiz yapan sıçanlardan oluşmuştur.
6. Akut egzersiz grubu T (AT): Akut tüketici egzersiz yapan sıçanlardan oluşmuştur.
7. Kronik egzersiz kontrol grubu (CK): Günde bir saat, haftada beş gün, sekiz hafta süreyle küçük hayvan koşu bandında duran sıçanlardan oluşmuştur.

8. Kronik egzersiz grubu 1 (K1): 10 m/dak hızda günde bir saat, haftada beş gün, sekiz hafta süreyle küçük hayvan koşu bandında egzersiz yapan sıçanlardan oluşmuştur.

9. Kronik egzersiz grubu 2 (K2): 15 m/dak hızda günde bir saat, haftada beş gün, sekiz hafta süreyle küçük hayvan koşu bandında egzersiz yapan sıçanlardan oluşmuştur.

10. Kronik egzersiz grubu 3 (K3): 20 m/dak hızda günde bir saat, haftada beş gün, sekiz hafta süreyle küçük hayvan koşu bandında egzersiz yapan sıçanlardan oluşmuştur.

3.2. EGZERSİZ DÜZENEGİ

Uygulanan tüm egzersiz programlarında May TME 0804 Treadmill Exerciser marka dört kulvarlı küçük deney hayvanı koşu bandı kullanılmıştır. Koşu bandı 0,1 km/saat adımlarla ayarlanabilir hız göstergesine, 1-6 kademe arası devamlı ya da istenildiğinde kullanılabilen elektrik şoku anahtarına ve -10° - $+20^{\circ}$ açılardırma sağlayacak mekanizmaya sahiptir. Tüm egzersiz programları sırasında havalandırma için koşu bandının fanı açık tutulmuştur. Her bir koşu sonrasında, koşu kayışı idrar ve dışkı artıklarından temizlenmiştir.

3.3. EGZERSİZ PROGRAMLARI

A1, A2, A3, AT, K1, K2, K3 grubu sıçanlara koşu bandında 10 m/dak. hızda, 10 dakika, haftada 5 gün, 1 hafta süresince koşmaya alıştırmaya egzersizleri yaptırılmıştır [91;94]. Alıştırma egzersizinin etkilerinin deney protokolüne yansımaması amacı ile tüketici ve akut egzersiz protokolleri son alıştırmaya egzersizinden 3 gün sonra uygulanmıştır. Özellikle alışma sürecinde ve sonra da gerekli olduğunda sıçanları koşmaya teşvik etmek için düşük şiddette elektrik şoku kullanılmıştır. A1 grubuna 10 m/dak., A2 grubuna 15 m/dak., A3 grubuna 20 m/dak. hızda 1 saatlik koşma egzersizi yaptırılmıştır [95]. CA grubu koşuturulmaksızın 1 saat süre ile koşu bandında tutulmuştur.

AT grubuna tüketici koşma egzersizi protokolü uygulanmıştır. Sıçanlara 25 m/dak. hızda, 5 derece eğimde, tükeninceye dek koşma egzersizi yaptırılmıştır [96]. Sıçanın manuel teşviğe rağmen elektrikli ızgaradan bant üzerine dönememesi tükenme kriteri olarak kullanılmıştır [94;97]. Tükenme süreleri ortalama $53,6 \pm 11,5$ dakikadır.

K1 grubuna 10 m/dak, K2 grubuna 15 m/dak, K3 grubuna 20m/dak hızda günde 1 saat, haftada 5 gün, 8 hafta süresince koşma egzersizi yaptırılmıştır [94]. CK grubu diğer kronik koşma gruplarıyla aynı sürede koşturulmaksızın koşu bandı üzerinde tutulmuştur.

Deneyler süresince CK grubundan 1 adet, K1 grubundan 1 adet, K2 grubundan 1 adet, K3 grubundan 2 adet, CA grubundan 1 adet ve AT grubundan 1 adet sıçan koşamayacak derecede yaralanma, genel durum bozukluğu gibi nedenlerle deneyden çıkarılmıştır.

Tüm egzersizler 09:00, 12:00 saatleri arasında yapılmıştır.

3.4. DOKU ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI

Akut egzersiz programı uygulanan sıçanların egzersizi biter bitmez, kronik egzersiz programı uygulanan sıçanların ise egzersizin akut etkilerinin ortadan kalkması için son egzersizden 3 gün sonra hafif eter anestezisi sonrası servikal dislokasyonla yaşamlarına son verilmiştir. 1- 2 dakika içinde soğuk zemin üzerinde önce beyin ardından da hipokampus, striatum ve prefrontal korteks dokuları çıkarılmıştır.

Homojenizasyon sıvısı olan soğuk distile su ile tüm dokular hemen yıkanıp, homojenize edilmiştir. Homojenatlar Carrillo ve arkadaşlarının yöntemine göre hazırlanmıştır [98]. Beyin örnekleri ultrasonik homojenizatörde 2 mL soğuk distile su içinde homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işlemleri buzla soğutulmuş ortamda yapılmıştır. Homojenize edilmemiş büyük parçacıkları ayırmak için +4°C'de 600 g'de 10 dakika süreyle homojenat santrifüj edilmiştir.

TBARS, nitrit-nitrat ve homojenat proteinlerinin ölçümü için ependorf tüplerine tam homojenat alınarak, geri kalan homojenat +4°C'de 10000 g'de 10 dakika süreyle

santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatant enzim ve protein ölçümleri için ayrılmış, ölçülene dek -85 °C' de saklanmıştır.

3.5. ENZİM AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI

3.5.1. SOD Aktivitesinin Ölçümü;

SOD aktivitesi Randox'un RANSOD (Kat. No. SD 125) kiti ile ölçülmüştür. SOD'un rolü, oksidatif enerji süreçleri sırasında oluşan toksik süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu sağlamaktır. Kitin çalışma yöntemi süperoksit radikalleri oluşturmak üzere ksantin ve ksantin oksidazı kullanır. Oluşan süperoksit radikalleri 2-(4-iodophenil)-3-(4-nitrophenol) -5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.) ile tepkimeye girerek kırmızı renk oluşturur. Yöntemin temeli, bu tepkimenin SOD tarafından inhibisyon derecesine dayanır.

Ölçümler 505 nm dalga boyunda, 37°C'de, Shimadzu UV-1201V spektrofotometrede yapılmıştır. 25 µL süpernatana 850 µL miyar eklenip iyice karıştırılmış; daha sonra bu karışıma 125 µL ksantin oksidaz eklenmiş ve aynı anda süre başlatılmıştır. 30 saniye sonra başlangıç absorbansı (A₁) okunmuştur. Bundan 3 dakika sonra son absorbans (A₂) okunmuştur. Standart ve kör için de aynı işlemler uygulanmıştır.

Kör, standart ve örnekler için ΔA hesaplanmıştır.

$$\Delta A = \frac{A_2 - A_1}{3}$$

Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standartların ve örneklerin % inhibisyon değerleri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - [(\Delta A \text{ std. /dak.} \times 100) / (\Delta A \text{ kör / dak.)}]$$

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - [(\Delta A \text{ örn. /dak.} \times 100) / (\Delta A \text{ kör / dak.)}]$$

Standartlardan yapılan ölçümler sonucunda yatay eksene Ünite/mL (Ü/mL) SOD, düşey eksene % inhibisyon değerleri gelecek şekilde standart eğrisi hazırlanmıştır. Örneklerin SOD ölçüm değerleri standart eğriden Ü/ml süpernatant olarak çıkarılmıştır. Enzim aktivitesi o dokudan ölçülen protein miktarına göre aşağıdaki formülle hesaplanarak Ü/mg protein olarak gösterilmiştir.

$$\text{SOD Ü/mg protein} = (\text{SOD Ü/mL süpernatant}) / (\text{mg protein/mL süpernatant})$$

3.5.2. GPx Aktivitesinin Ölçümü

GPx aktivitesi Randox'un RANSEL (Kat. No. RS 504) kiti ile saptanmıştır. Bu kit Paglia ve Valentine'in tanımladığı yöntemle göre hazırlanmıştır [99]. GPx, kümen hidroperoksit ile glutatyonun (GSH) oksidasyonunu katalizler. Glutatyon redüktaz ve NADPH varlığında, okside glutatyon (GSSG) indirgenmiş formuna (GSH) çevrilir, bu sırada NADPH okside olarak NADP' ye dönüşür. Spektrofotometrede 340 nm'de, 37 °C 'de absorbansdaki azalma ölçülür

20 µL süpernatana 1000 µL miyar eklenip karıştırılmış; daha sonra karışıma 40 µL kümen hidroperoksit eklenmiştir. 1 dakika sonra örneğin başlangıç absorbansı (A₁), bundan 2 dakika sonra son absorbansı (A₂) okunmuştur. Shimadzu UV-1201V spektrofotometre kullanılmıştır. Kör için de aynı işlemler yapılmıştır.

Örnek ve kör için ΔA değerleri aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

$$\Delta A = \frac{A_1 - A_2}{2}$$

Süpernatanın GPx konsantrasyonu ise;

Ü/ L süpernatana = 8412 x (Δ örnek- Δ kör) 340 nm/dak., formülü ile hesaplanır.

Ölçülen protein miktarına göre enzim aktivitesi aşağıdaki formülle hesaplanarak Ü/mg protein olarak gösterilmiştir.

$$\text{GPx } \ddot{U}/\text{mg protein} = (\text{GPx } \ddot{U}/\text{mL süpernatana}) / (\text{mg protein}/\text{mL süpernatana})$$

3.6. TBARS DEĞERLERİNİN SAPTANMASI

TBARS değerleri Rehncrona ve ark. yöntemine göre ölçülmüştür [100]. 500 µL homojenat, 500 µL %20 triklor asetik asitle karıştırılarak 10 dakika (3000 devir/dak.) santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra 900 µL süpernatana alınarak üzerine 1000 µL % 0.67'lik tiyobarbitürik asit eklenmiştir. Örnekler kaynar su banyosunda 10 dakika bekletilmiş, soğuduktan sonra 532 nm'de absorbanslar ölçülmüştür.

MDA standardından (1, 1, 3, 3 tetraethoksiopropan) yapılan ölçümlerle yatay eksen standart konsantrasyonunu, düşey eksen absorbans değerlerini gösterecek şekilde standart eğri grafiği hazırlanmıştır. Örneklerin TBARS miktarları grafikten

bulunup sonuçlar nmol/mL olarak hesaplanmıştır. Bu değer homojenatta bulunan protein miktarına bölünerek nmol/ mg protein olarak gösterilmiştir.

3.7. PROTEİN ÖLÇÜMÜ

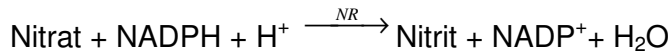
Protein ölçümü için Randox'un Total Protein (Kat. No. UP 1570) kiti kullanılmıştır. Kırmızı pirogallol bileşikleri ile proteinlerin asit ortamda molibdat iyonları oluşturması esasına dayanmaktadır. Sonuçta oluşan mavi renkli karışımın absorbansı maksimum olarak 600 nm'de ölçülmektedir.

Semi mikro metot uygulanmıştır. 1000 µL renk miyarı ile 20 µL örnek, standart ya da distile su iyice karıştırılıp 5 dakika 37 °C bekletilip ardından 600 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Doku protein konsantrasyonları aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\text{Protein (g/L)} = (A_{\text{örnek}} / A_{\text{standart}}) \times \text{Std. Konsantrasyonu}$$

3.8. NİTRİT- NİTRAT DEĞERLERİNİN SAPTANMASI

Nitrit-nitrat değerlerinin saptanmasında Roche'un Nitrite/Nitrate kolorimetrik metot (Kat. No. 1 746 081) kiti kullanılmıştır. Nitrat ortamda nitrat redüktaz enzimi varlığında indirgenmiş NADPH aracılığı ile nitrite dönüşür.



Nitrit; sülfanilamid ve N-(-1-naftil)-etilen-diamin dihidroklorid ile reaksiyona girerek kırmızı- menekşe rengini verir.



Bu rengin absorbansının ölçülebilir sınırları 540 nm'dir. Ölçümler için Shimadzu UV-1201V spektrofotometre kullanılmıştır.

Ölçüm sonuçlarını etkileyebilecek enzimatik reaksiyonu durdurmak için örnekler öncelikle 80°C su banyosunda 15 dakika tutulmuştur. Ardından 20000 g de 10 dakika santrifüj edilmiştir. 0,5 mL örneğe, 0,25 mL NADPH içeren karışım ve 0,02 mL nitrat redüktaz solüsyonları eklenmiş ve iyice karışması sağlanmıştır. 30 dakika 15-25 °C oda sıcaklığında tutulup 540 nm'de başlangıç absorbansı (A₁) okunmuştur. Renk

miyarları eklenen örnek, oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 15 dakika tutulup; son absorbands (A_2) değerleri okunmuştur. K r ve standartların ölçmeleri de aynı Şekilde yapılmıştır.

AŞağıdaki formülle ΔA_{nitrit} değerleri hesaplanır.

$$\Delta A_{\text{nitrit}} = (A_2 - A_1)_{\text{nitrit}} - (A_2 - A_1)_{\text{k r}}$$

Sodyum nitrit standardından yapılan ölçmelerle yatay eksen standart konsantrasyonunu (mg/l), düşey eksen absorbands değerlerini gösterecek Şekilde standart eğri grafiği hazırlanmıştır. Örneklerdeki nitrit miktarları grafikten bulunup sonuçlar mg/L olarak hesaplanmıştır. Bu değer homojenatta bulunan protein miktarına bölünerek nitrit-nitrat sonuçları mg nitrit-nitrat/mg protein olarak gösterilmiştir.

3.9. İSTATİSTİKSEL DEğERLENDİRME

Grupların ortalamaları arasındaki fark SPSS programında non parametrik Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. $p < 0,05$ anlamlılık düzeyi esas alınmıştır. Kruskal-Wallis testi anlamlı bulunduğunda hangi gruplar arasında fark olduğunu belirleyebilmek için Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Çok sayıda grup olduğundan, gruplar arası karŐılaŐtırmalarda Mann-Whitney U testi uygulandığında ortaya çıkabilecek tip 1 hatadan kaçınmak için p anlamlılık değeri; akut egzersiz gruplarının karŐılaŐtırılmasında $p < 0,003$, kronik egzersiz gruplarının karŐılaŐtırılmasında $p < 0,005$ olarak alınmıştır [101].

4. BULGULAR

Çalışmanın içinde yer alan akut koşu bandı egzersiz grupları ve kronik koşu bandı egzersiz gruplarına ait tüm sonuçlar akut egzersiz sonuçları ve kronik egzersiz sonuçları olarak ayrı sunulup tartışılacaktır. Her iki grup için aynı kontrol grubu (C) kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm Standart hata (Ort \pm SH) olarak verilmiştir.

4.1. AKUT EGZERSİZ SONUÇLARI

4.1.1. Deney Hayvanı Ağırlıkları

Akut egzersiz gruplarına ait deney hayvanı ağırlıkları tablo 1'de gösterilmektedir. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 1: Akut egzersiz grupları deney hayvanı ağırlıkları

Grup adı	Hayvan sayısı	Hayvan ağırlıkları(g) (Ort \pm SH)
C	8	345,9 \pm 15,7
CA	7	337,9 \pm 12,9
A1	8	340,5 \pm 11,8
A2	8	354,8 \pm 10,4
A3	8	326,4 \pm 14,5
AT	7	334,9 \pm 17,9

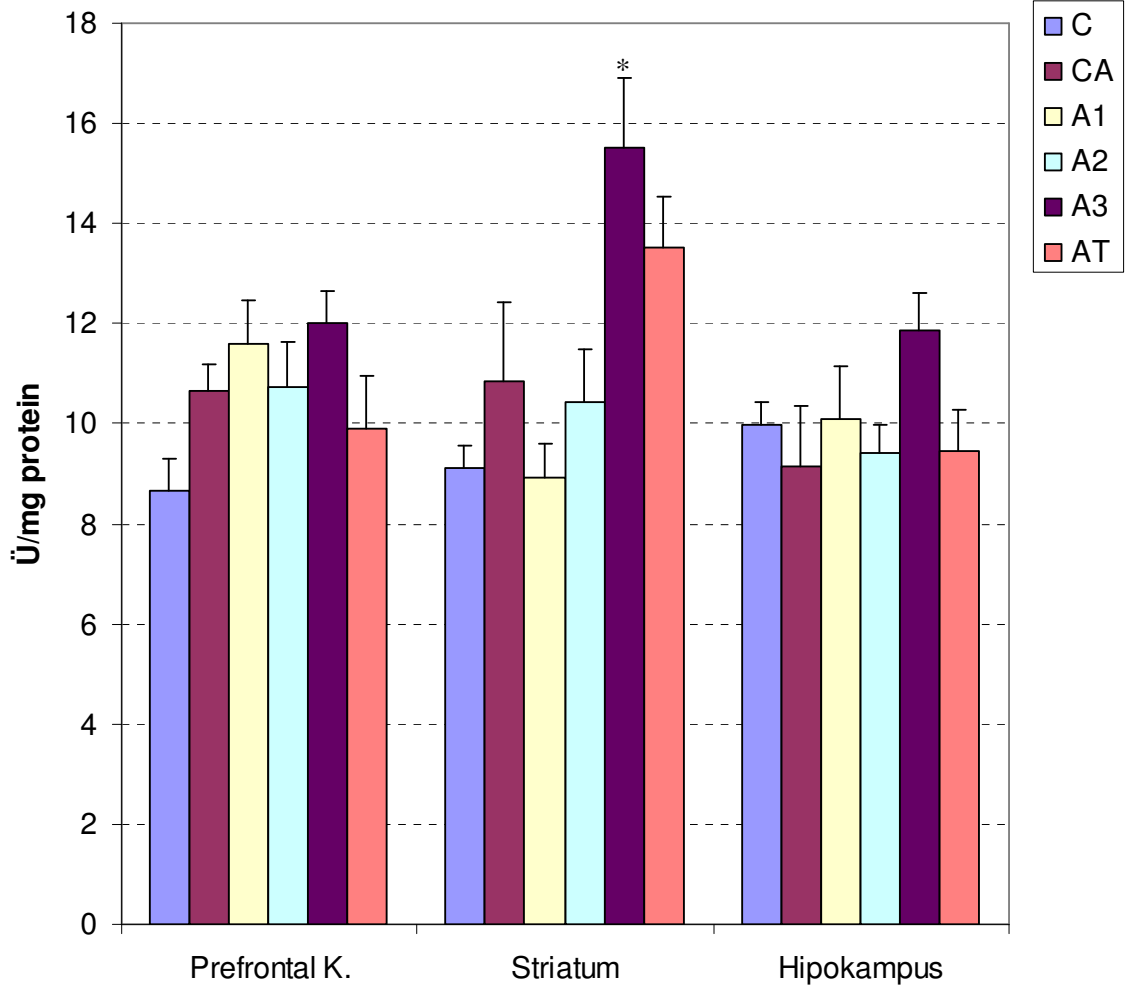
4.1.2. SOD Enzim Aktivitesi Sonuçları

Tüm akut egzersiz gruplarının ortalama SOD aktivitesi sonuçları şekil 1'de gösterilmektedir.

Prefrontal korteksde SOD aktivitesi C grubunda $8,676 \pm 0,636$, CA grubunda $10,667 \pm 0,516$, A1 grubunda $11,569 \pm 0,893$, A2 grubunda $10,747 \pm 0,873$, A3 grubunda $12,007 \pm 0,647$, AT grubunda ise $9,916 \pm 1,040$ Ü/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Striatumda SOD aktivitesi C grubunda $9,110 \pm 0,470$, CA grubunda $10,842 \pm 1,579$ A1 grubunda $8,933 \pm 0,679$, A2 grubunda $10,439 \pm 1,048$, A3 grubunda $15,533 \pm 1,380$, AT grubunda ise $13,516 \pm 1,027$ Ü/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında anlamlı farklılık vardır ($p=0,001$). Mann-Witney U testi uygulandığında A3 grubunun SOD enzim aktivitesi, C grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,003$).

Hipokampusta SOD aktivitesi C grubunda $9,982 \pm 0,455$, CA grubunda $9,141 \pm 1,233$, A1 grubunda $10,088 \pm 1,071$, A2 grubunda $9,396 \pm 0,584$, A3 grubunda $11,872 \pm 0,729$, AT grubunda ise $9,458 \pm 0,819$ Ü/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 1: Akut egzersiz SOD aktivitesi ölçüm değerleri.

Sonuçlar Ort ± SH olarak gösterilmiştir.

* Kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklıdır (p<0,003)

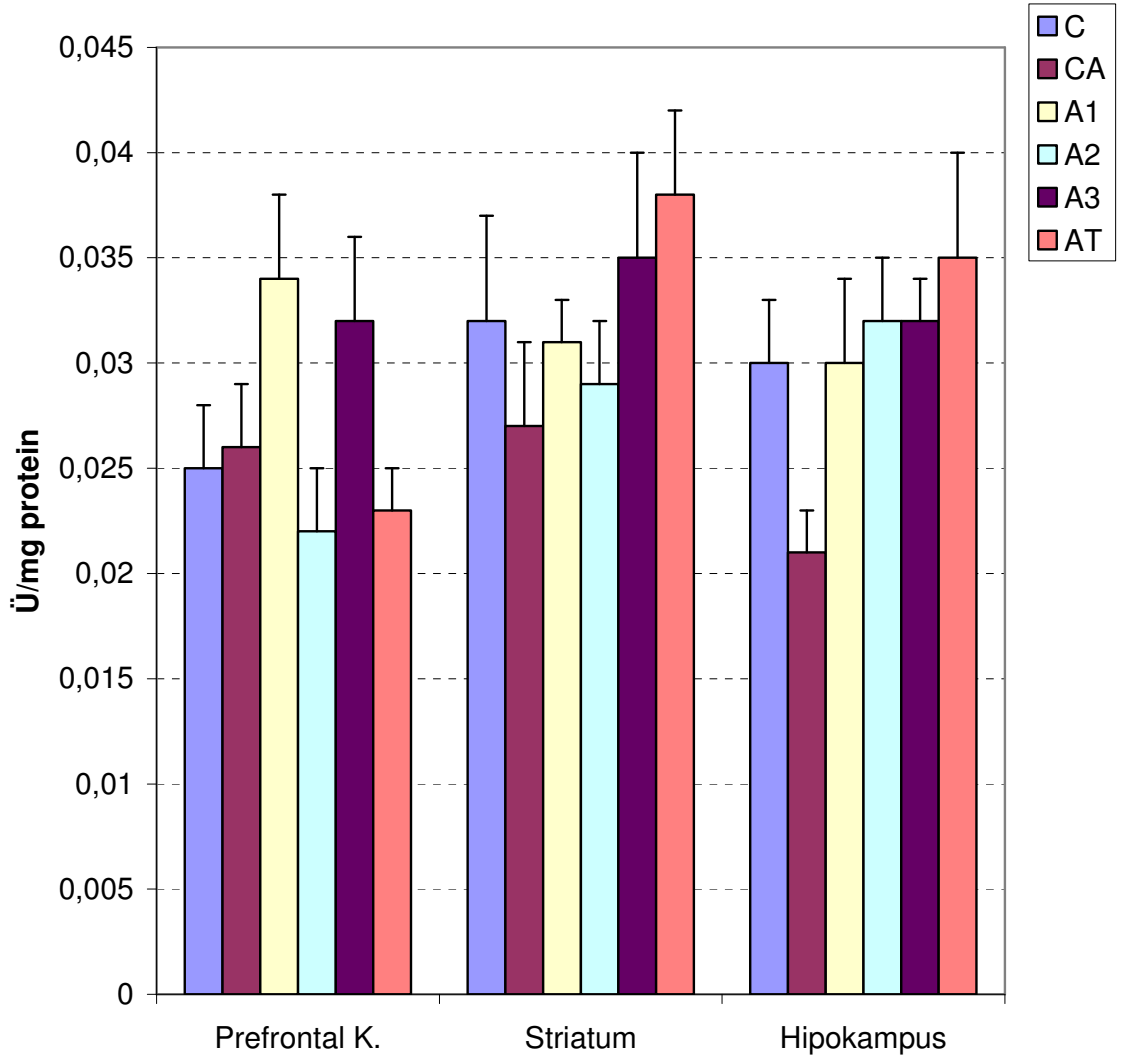
4.1.3. Gpx Enzim Aktivitesi Sonuçları

Tüm akut egzersiz gruplarının ortalama GPx aktivitesi sonuçları şekil 2'de gösterilmektedir.

Prefrontal korteksde GPx aktivitesi C grubunda $0,025 \pm 0,003$, CA grubunda $0,026 \pm 0,003$, A1 grubunda $0,034 \pm 0,004$, A2 grubunda $0,022 \pm 0,003$, A3 grubunda $0,032 \pm 0,004$, AT grubunda ise $0,023 \pm 0,002$ Ü/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Striatumda GPx aktivitesi C grubunda $0,032 \pm 0,005$, CA grubunda $0,027 \pm 0,004$, A1 grubunda $0,031 \pm 0,002$, A2 grubunda $0,029 \pm 0,003$, A3 grubunda $0,035 \pm 0,005$, AT grubunda ise $0,038 \pm 0,004$ Ü/mg protein bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hipokampusta GPx aktivitesi C grubunda $0,030 \pm 0,003$, CA grubunda $0,021 \pm 0,002$, A1 grubunda $0,030 \pm 0,004$, A2 grubunda $0,032 \pm 0,003$, A3 grubunda $0,032 \pm 0,002$, AT grubunda ise $0,035 \pm 0,006$ Ü/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 2: Akut egzersiz GPx aktivitesi ölçüm değerleri

Sonuçlar Ort \pm SH olarak gösterilmiştir.

Gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

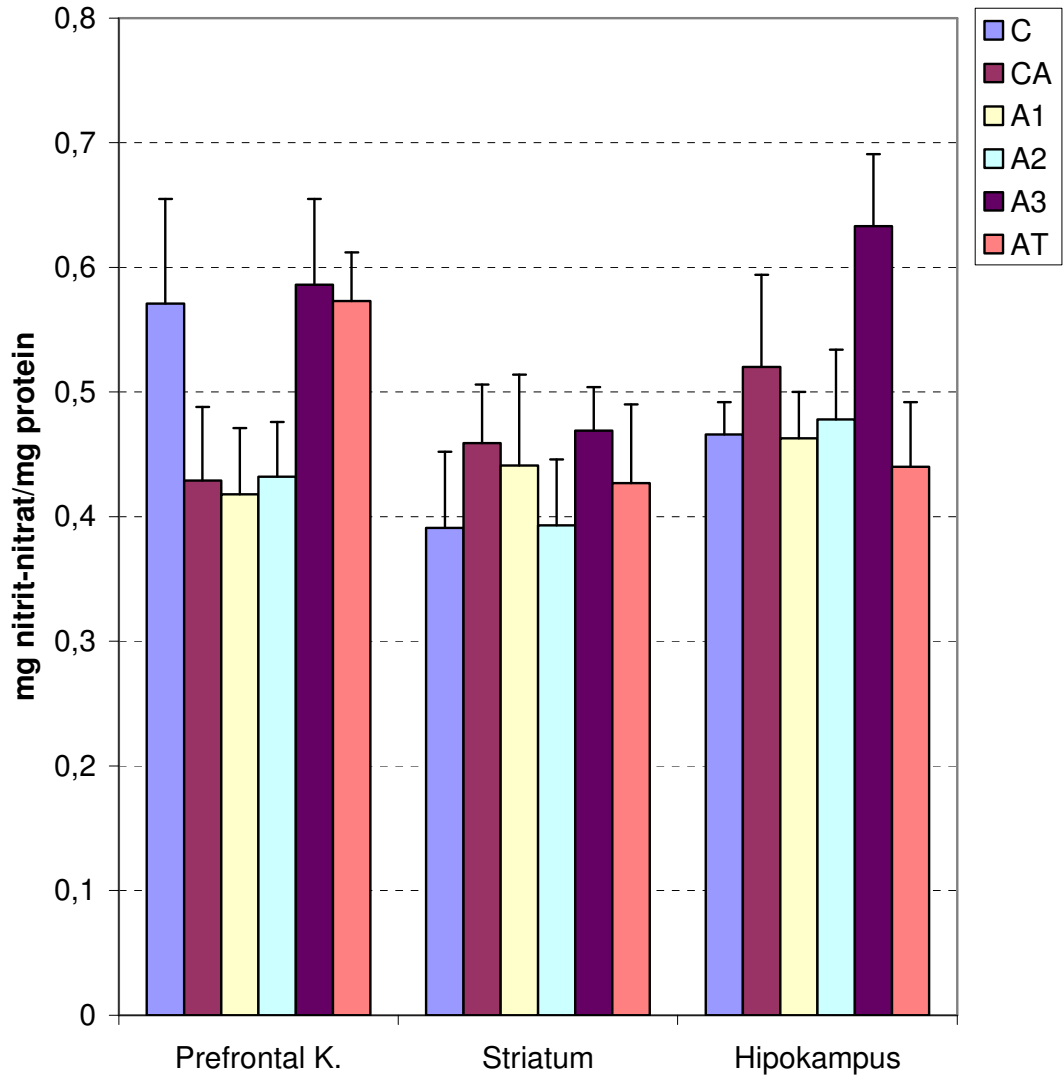
4.1.4. Nitrit-Nitrat Sonuçları

Tüm akut egzersiz gruplarının ortalama nitrit-nitrat sonuçları Şekil 3'te gösterilmektedir.

Prefrontal korteksde nitrit-nitrat değerleri C grubunda $0,571 \pm 0,084$, CA grubunda $0,429 \pm 0,039$, A1 grubunda $0,418 \pm 0,053$, A2 grubunda $0,432 \pm 0,044$, A3 grubunda $0,586 \pm 0,069$, AT grubunda ise $0,573 \pm 0,039$ mg nitrit-nitrat/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Striatumda nitrit-nitrat değerleri C grubunda $0,391 \pm 0,061$, CA grubunda $0,459 \pm 0,047$, A1 grubunda $0,441 \pm 0,073$, A2 grubunda $0,393 \pm 0,053$, A3 grubunda $0,469 \pm 0,035$, AT grubunda ise $0,427 \pm 0,063$ mg nitrit-nitrat/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hipokampusta nitrit-nitrat değerleri C grubunda $0,466 \pm 0,026$, CA grubunda $0,520 \pm 0,074$, A1 grubunda $0,463 \pm 0,037$, A2 grubunda $0,478 \pm 0,056$, A3 grubunda $0,633 \pm 0,058$, AT grubunda ise $0,440 \pm 0,052$ mg nitrit-nitrat/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 3: Akut egzersiz nitrit-nirat değerleri.

Sonuçlar Ort \pm SH olarak gösterilmiştir.

Gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$).

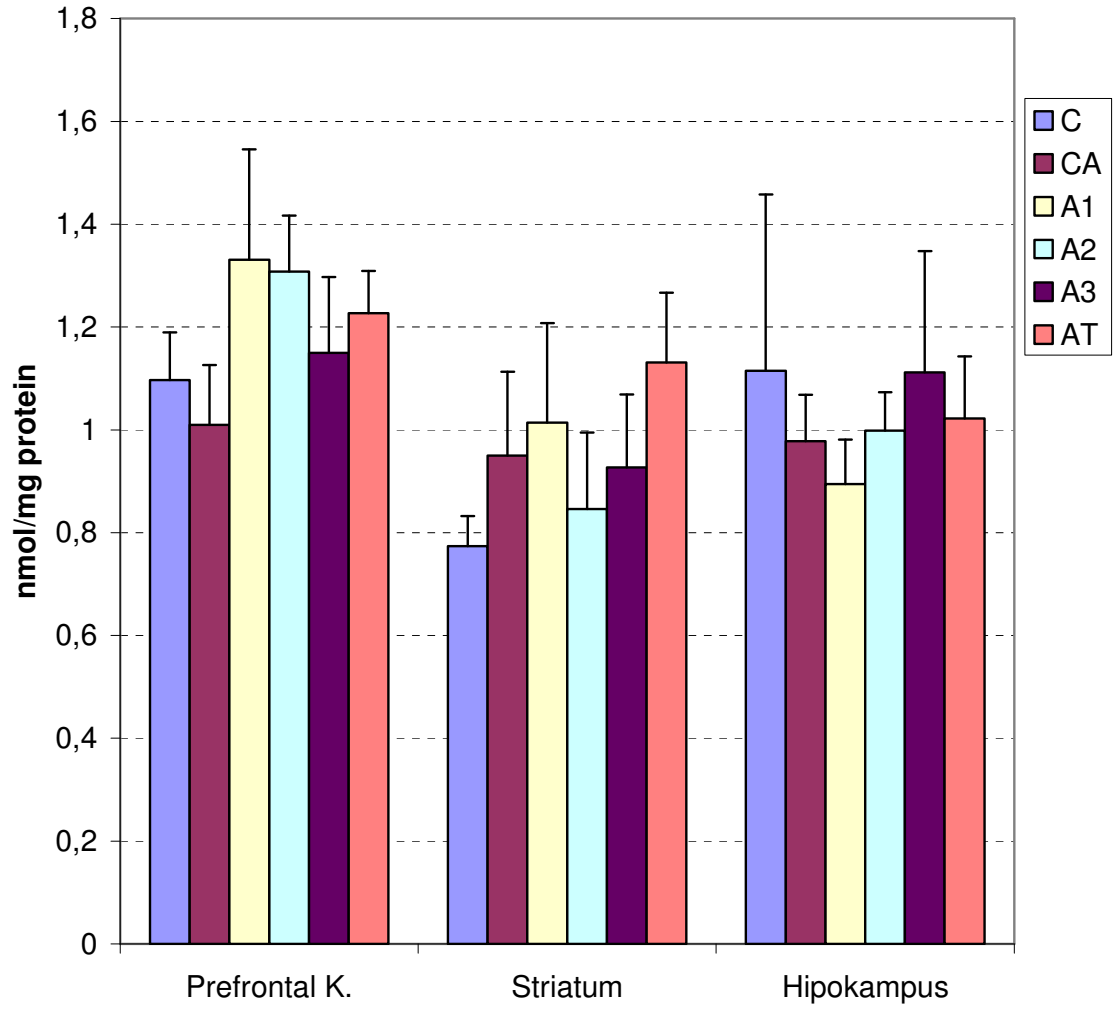
4.1.5. TBARS Sonuçları

Tüm akut egzersiz gruplarının ortalama TBARS sonuçları Şekil 3'te gösterilmektedir.

Prefrontal korteksde TBARS değerleri C grubunda $1,097 \pm 0,093$, CA grubunda $1,010 \pm 0,116$, A1 grubunda $1,331 \pm 0,611$, A2 grubunda $1,308 \pm 0,109$, A3 grubunda $1,150 \pm 0,147$, AT grubunda ise $1,227 \pm 0,082$ nmol/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Striatumda TBARS değerleri C grubunda $0,774 \pm 0,058$, CA grubunda $0,950 \pm 0,163$, A1 grubunda $1,014 \pm 0,194$, A2 grubunda $0,846 \pm 0,149$, A3 grubunda $0,927 \pm 0,142$, AT grubunda ise $1,131 \pm 0,136$ nmol/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hipokampusta TBARS değerleri C grubunda $1,157 \pm 0,343$, CA grubunda $0,978 \pm 0,090$, A1 grubunda $0,895 \pm 0,086$, A2 grubunda $0,999 \pm 0,074$, A3 grubunda $1,112 \pm 0,236$, AT grubunda $1,022 \pm 0,121$ nmol/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4: Akut egzersiz TBARS değerleri

Sonuçlar Ort \pm SH olarak gösterilmiştir.

Gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

4.2. KRONİK EGZERSİZ SONUÇLARI

4.2.1. Deney Hayvanı Ağırlıkları

Kronik egzersiz gruplarına ait deney hayvanı ağırlıkları tablo 2'de gösterilmektedir. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 2: Kronik egzersiz grupları deney hayvanı ağırlıkları

Grup adı	Hayvan sayısı	Hayvan ağırlıkları(g) (Ort \pm SH)
C	8	345,9 \pm 15,7
CK	7	374,3 \pm 22,8
K1	7	350,0 \pm 16,8
K2	7	370,0 \pm 14,5
K3	6	353,3 \pm 17,1

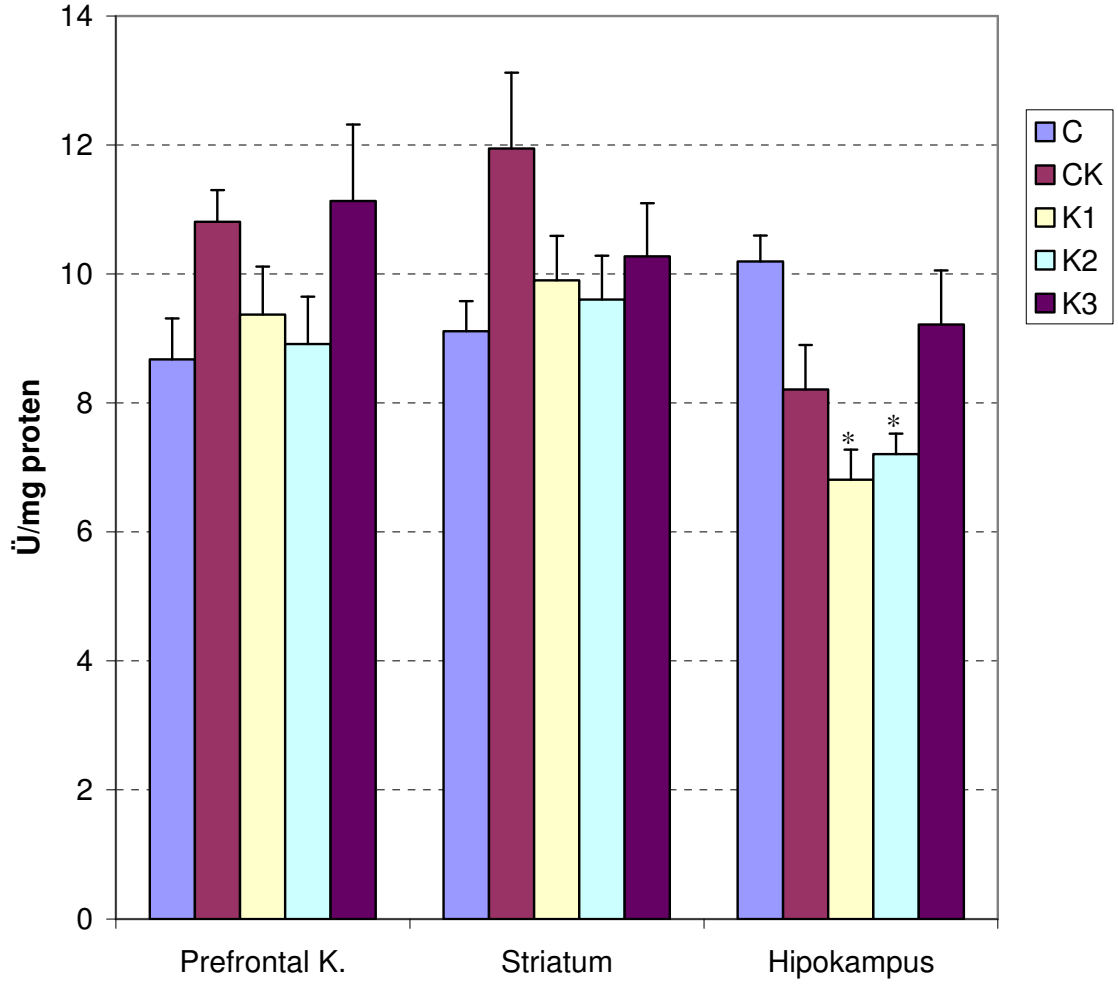
4.2.2. SOD Enzim Aktivitesi Sonuçları

Tüm kronik egzersiz gruplarının ortalama SOD aktivitesi sonuçları şekil 5'de gösterilmektedir.

Prefrontal korteksde SOD aktivitesi C grubunda $8,676 \pm 0,636$, CK grubunda $10,807 \pm 0,491$, K1 grubunda $9,3701 \pm 0,742$, K2 grubunda $8,913 \pm 0,735$, K3 grubunda ise $11,132 \pm 1,185$ Ü/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Striatumda SOD aktivitesi C grubunda $9,110 \pm 0,470$, CK grubunda $11,942 \pm 1,180$, K1 grubunda $9,901 \pm 0,692$, K2 grubunda $9,604 \pm 0,675$, K3 grubunda ise $10,270 \pm 0,826$ Ü/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hipokampusta SOD aktivitesi C grubunda $10,195 \pm 0,402$, CK grubunda $8,210 \pm 0,687$, K1 grubunda $6,808 \pm 0,469$, K2 grubunda $7,208 \pm 0,314$, K3 grubunda ise $9,216 \pm 0,837$ Ü/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p=0,003$). Mann-Whitney U testi uygulandığında C grubuna göre hem K1 hem de K2 grubunda hipokampus SOD aktivitesi anlamlı olarak düşüktür ($p<0,005$).



Şekil 5: Kronik egzersiz SOD aktivitesi ölçüm değerleri.

Sonuçlar Ort \pm SH olarak gösterilmiştir.

* Kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı ($p<0,005$)

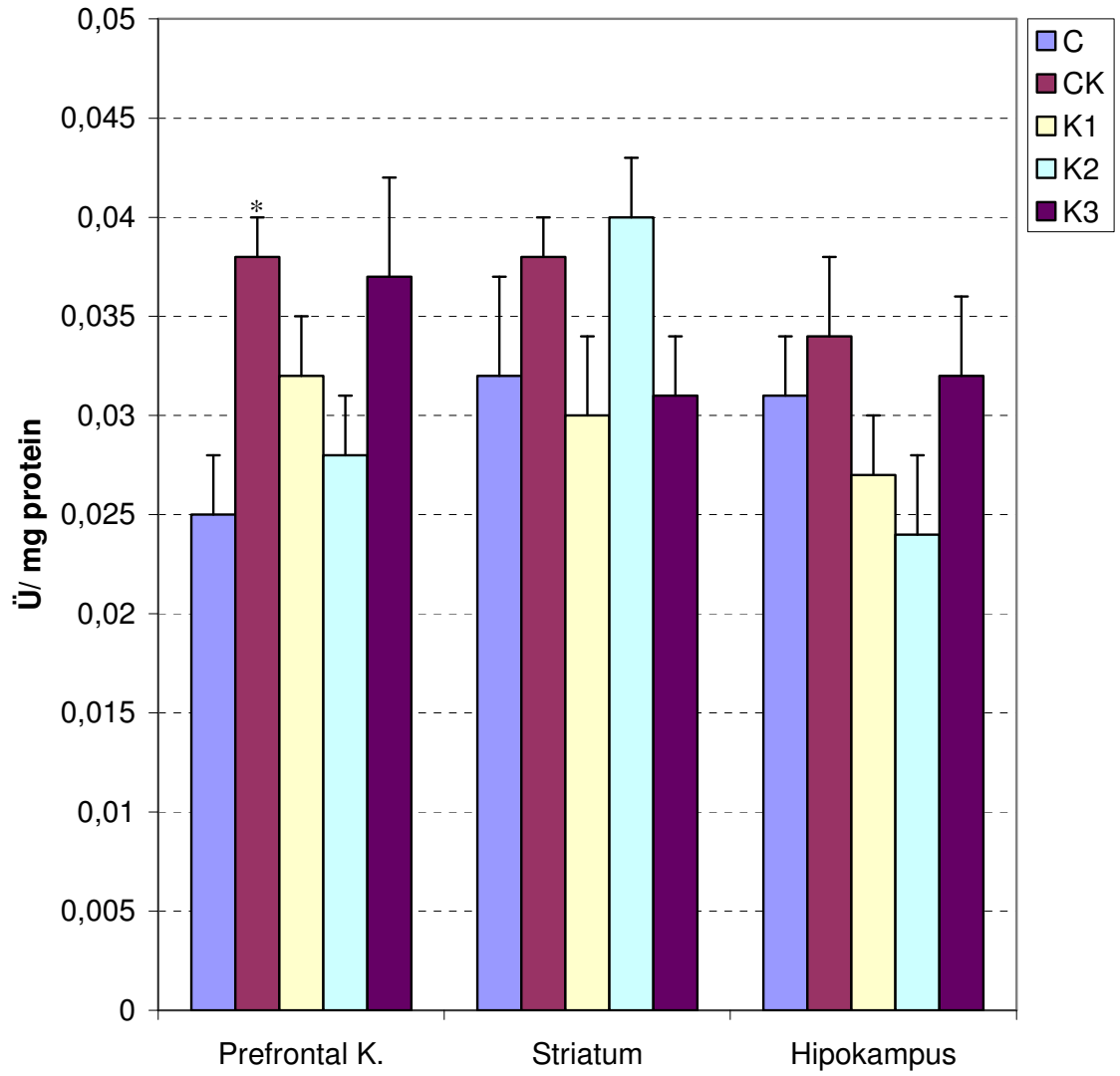
4.2.3. Gpx Enzim Aktivitesi Sonuçları

Tüm kronik egzersiz gruplarının ortalama GPx aktivitesi sonuçları şekil 6'da gösterilmektedir.

Prefrontal korteksde GPx aktivitesi C grubunda $0,025 \pm 0,003$, CK grubunda $0,038 \pm 0,002$, K1 grubunda $0,032 \pm 0,003$, K2 grubunda $0,028 \pm 0,003$, K3 grubunda ise $0,037 \pm 0,005$ Ü/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p=0,021$). Mann-Whitney U testi uygulandığında CK grubu prefrontal korteks GPx aktivitesi C grubuna göre anlamlı olarak yüksektir ($p<0,005$).

Striatumda GPx aktivitesi $0,032 \pm 0,005$, CK grubunda $0,038 \pm 0,002$, K1 grubunda $0,030 \pm 0,004$, K2 grubunda $0,040 \pm 0,003$, K3 grubunda $0,31 \pm 0,003$ Ü/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hipokampusta GPx aktivitesi C grubunda $0,031 \pm 0,003$, CK grubunda $0,034 \pm 0,004$, K1 grubunda $0,027 \pm 0,003$, K2 grubunda $0,024 \pm 0,004$, K3 grubunda ise $0,032 \pm 0,004$ Ü/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 6: Kronik egzersiz ortalama GPx aktivitesi değerleri

Sonuçlar Ort \pm SH olarak gösterilmiştir.

* Kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklıdır ($p < 0,005$).

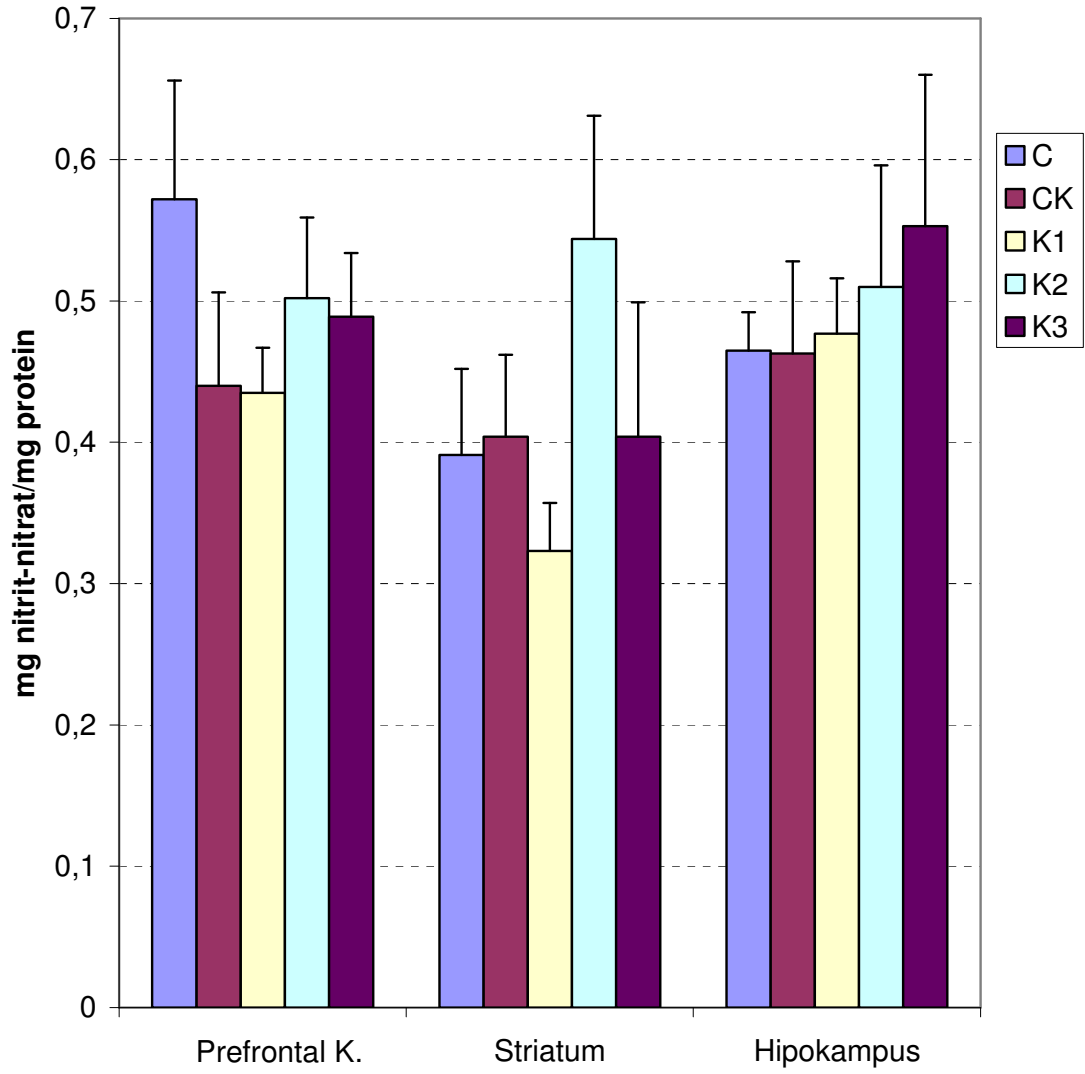
4.2.4. Nitrit-Nitrat Sonuçları

Tüm kronik egzersiz gruplarının ortalama nitrit–nitrat sonuçları Şekil 7’de gösterilmektedir.

Prefrontal korteksde nitrit-nitrat değerleri C grubunda $0,572 \pm 0,084$, CK grubunda $0,440 \pm 0,066$, K1 grubunda $0,435 \pm 0,032$, K2 grubunda $0,502 \pm 0,057$, K3 grubunda ise $0,489 \pm 0,045$ mg nitrit-nitrat/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Striatumda nitrit-nitrat değerleri C grubunda $0,391 \pm 0,061$, CK grubunda $0,404 \pm 0,058$, K1 grubunda $0,323 \pm 0,034$, K2 grubunda $0,544 \pm 0,087$, K3 grubunda $0,404 \pm 0,095$ mg nitrit-nitrat/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hipokampusta nitrit-nitrat değerleri C grubunda $0,465 \pm 0,027$, CK grubunda $0,463 \pm 0,065$, K1 grubunda $0,477 \pm 0,040$, K2 grubunda $0,510 \pm 0,086$, K3 grubunda $0,553 \pm 0,011$ mg nitrit-nitrat/mg protein olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 7: Kronik egzersiz nitrit-nitrat ölçüm değerleri

Sonuçlar Ort \pm SH olarak gösterilmiştir.

Gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$).

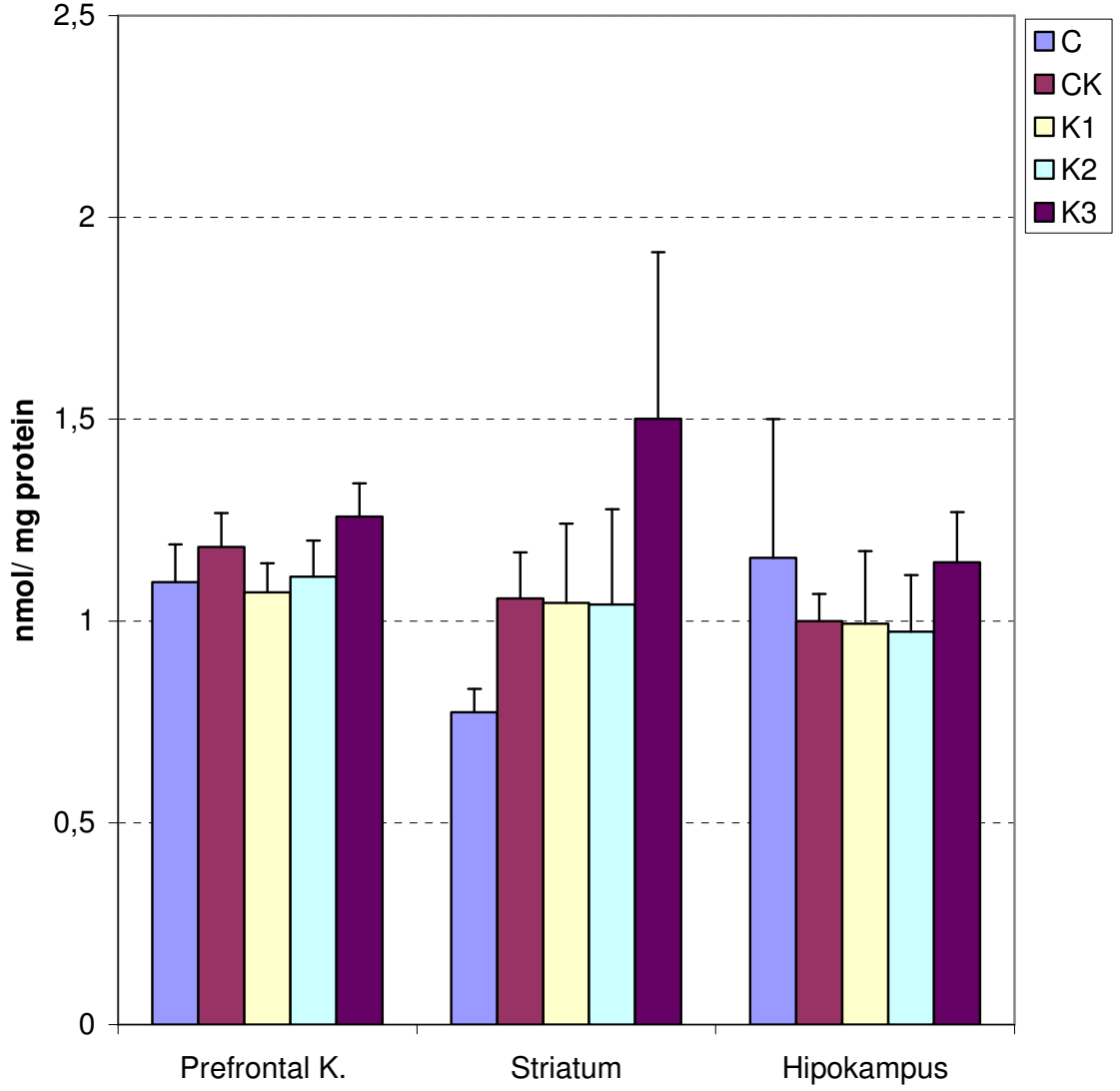
4.2.5. TBARS Sonuçları

Tüm kronik egzersiz gruplarının ortalama TBARS sonuçları şekil 8'de gösterilmektedir.

Prefrontal korteksde TBARS değerleri C grubunda $1,097 \pm 0,093$, CK grubunda $1,184 \pm 0,084$, K1 grubunda $1,071 \pm 0,072$, K2 grubunda $1,110 \pm 0,089$, K3 grubunda ise $1,259 \pm 0,282$ nmol/mg proteindir. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Striatumda TBARS değerleri C grubunda $0,774 \pm 0,058$, CK grubunda $1,056 \pm 0,114$, K1 grubunda $1,045 \pm 0,197$, K2 grubunda $1,041 \pm 0,236$, K3 grubunda ise $1,501 \pm 0,413$ nmol/mg proteindir. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hipokampusta TBARS değerleri C grubunda $1,157 \pm 0,343$, CK grubunda $1,000 \pm 0,067$, K1 grubunda $0,993 \pm 0,180$, K2 grubunda $0,974 \pm 0,140$, K3 grubunda ise $1,146 \pm 0,124$ nmol/mg proteindir. Kruskal-Wallis testi uygulandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 8: Kronik egzersiz TBARS değerleri

Sonuçlar Ort \pm SH olarak gösterilmiştir.

Gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

Egzersiz beyin üzerine etkileri hakkında bir paradoks bulunmaktadır. Kanser, diyabet, yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıkları azaltması, depresyonu da içeren bazı hastalıkların insidansında etkileri [102] ile sağlık ve iyilik bir tarafta; artmış oksijen tüketimi sonucunda serbest radikal oluşumuna neden olması ve hücrel işlevler için zararlı olabilmesi bir taraftadır.

Egzersiz iskelet kasında ve diğer birçok organda oksijen ve serbest radikal oluşumunu ve hücre içinde lipid peroksidasyonunu artırır. Fiziksel egzersiz sırasında aerobik metabolik hız 10 kat, vücut oksijen tüketimi ise 20 kat artmaktadır. Buna bağlı olarak ROS üretimi de artmaktadır [12;103]. Akut egzersiz tüm vücutta oksijen alımı ve tüketimini artırarak oksidan strese neden olurken kronik egzersizin antioksidan savunmayı güçlendirdiği bilinmektedir [14].

Normal şartlar altında beyin oksidan hasara karşı oldukça duyarlıdır. Bunun nedeni; yüksek miktarlarda çoklu doymamış yağ asidi içermesi ve artmış oksijen tüketim hızına sahip olması, ama buna karşıt olarak serbest radikal toksisitesine karşı varolan savunma sistemlerinin düşük düzeylerde kalmasıdır. Beyin normalde vücuda alınan oksijenin % 20'sini tüketmektedir [44].

5.1. AKUT EGZERSİZİN ETKİLERİ

5.1.1. SOD Enzim Aktivitesi

Farklı hızlarda, 60 dakika süreyle tek sefer koşma ve tüketici koşma egzersizi olarak yapılan akut egzersiz programları sonrasında prefrontal korteks, striatum ve hipokampus bölgelerinde SOD enzim aktivitesi incelenmiştir. Prefrontal korteks ve hipokampusta gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir. Striatumda 20 m/dakika koşu grubu (A3) kontrole göre anlamlı olarak artmış SOD aktivitesine sahip bulunmuştur. SOD enzimi süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizlemektedir [44]. SOD süperoksit radikali için spesifik olduğundan, artan süperoksit radikallerini temizlemek için enzimin aktivitesi de artmış olabilir. Akut tüketici egzersiz grubunun SOD aktivitesi diğer koşu grupları ve

kontrole göre yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,007$). Striatum SOD aktivitesinde görülen yüksekliğin nedeni yüksek koşu hızı ve süresine bağlı olabilir. Tüketici egzersiz yapan grup 25 m/dakika hızda ve 5 derece eğimde koşmuştur. Bu grubun ortalama tükenme süresi 53,6 dakika bulunmuştur. 20 m/dakika hızda koşan A3 grubu ise bir saat koşmuştur. A3 grubundaki anlamlı farklılık tüketici grubuna göre koşu süresinin yüksekliğinden kaynaklanabilir.

Striatum motor aktivitenin kontrolünde görevli bir bölgedir ve egzersizle aktivitesinde artış oluşmaktadır [103]. Ayrıca striatum bölgesi yüksek dopamin içeriğine sahiptir [104]. 20 dakikalık ılımlı koşma egzersizi dopamin, noradrenalin ve glutamatı sıçan striatumunda anlamlı olarak artırmıştır [105]. Egzersizle artan kateşolaminlerin ootoksidasyonu süperoksit radikali oluşumuna neden olabilir. Waters ve arkadaşları tükenme süresinin yarısında striatumda dopamin düzeylerini yüksek bulmuş, tükenme sonunda ise dopamin düzeylerinin normale döndüğünü bulmuştur [106]. Tüketici egzersiz grubunda SOD aktivitesinin artmaması, tüketici egzersiz sonunda dopamin düzeylerinin normale dönmesinden kaynaklanabilir. SOD aktivitesi doku oksijenasyonuna karşı duyarlıdır. Sıçanlarda yüksek oksijen konsantrasyonlarında biyosentezinin arttığı rapor edilmiştir [72]. Egzersiz sırasında artan oksijen kullanımı striatumda SOD aktivitesindeki artıştan sorumlu olabilir [20].

Literatürde akut egzersizin beyinde SOD aktivitesine etkisini inceleyen sadece bir makale bulunmaktadır. Somani ve arkadaşları 40 dakikalık artan hızlarla devam eden koşu egzersizi sonrasında serebral korteks, serebellum, medulla, korpus striatum ve hipotalamusta SOD aktivitesinin ellenmiş kontrole göre anlamlı değişmediğini göstermişlerdir. Bu sonuç araştırmada kullanılan deney hayvanı türünün (Fisher 344) ya da egzersizin süresinin (40 dakika) farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

5.1.2. Gpx Enzim Aktivitesi

Bu çalışmada GPx aktivitesinin üç beyin bölgesinde de akut egzersizle anlamlı olarak değişmediği bulunmuştur. GPx, hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin temizlenmesinde görevli nonspesifik bir enzimdir. GPx aktivitesinde değişikliğin olmaması peroksidasyonun meydana gelmesinde artışın olmadığını bir göstergesidir [103].

40 dakikalık artan şiddetlerle devam eden koşma egzersizi sonrasında farklı beyin bölgelerinin incelendiği bir çalışmada; GPx aktivitesi striatum, serebellum, hipotalamus ve medullada ellenmiş kontrole göre değişmemiş, serebral kortekste ise artmış bulunmuştur [20]. Striatum GPx sonuçları bu çalışmanın bulguları ile aynı doğrultudadır. Serebral kortekste görülen GPx enzim aktivitesi artışı, farklı beyin bölgelerinin farklı oksidan duyarlılığına ve antioksidan kapasiteye sahip olmasından, uygulanan egzersizin farklı süreli olmasından kaynaklanıyor olabilir.

5.1.3. Nitrit-Nitrat Değerleri

Farklı hızlarda yapılan akut koşu bandı egzersizi sonrasında beynin prefrontal korteks, striatum ve hipokampus bölgelerinde nitrit-nitrat ölçüm değerleri arasında istatistiksel anlamlı bir sonuç bulunmamaktadır. Nitrik oksit önemli bir biyomodülatördür. Akut egzersiz iskelet kasında nitrik oksit sentaz ve nitrik oksit aktivitesini artırmaktadır [7;8]. Nitrik oksit stabil son ürünü olan nitrite dönüşmektedir ve araştırmalarda nitrit-nitrat değerleri nitrik oksit sonuçları olarak yansıtılmaktadır.

Paula ve arkadaşları bir saatlik elektrikle uyarılmış hızlı tibialis anterior kası aktivasyonu ile oluşturulan akut egzersiz sonrasında sıçan beyinde nitrit değerlerinin kontrole göre yükselmiş olduğunu göstermişlerdir [107]. NO, süperoksit radikali gibi reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girerek peroksinitrit gibi oldukça yüksek reaktiviteye sahip reaktif nitrojen türlerini oluşturur. Literatürde bu konuda yapılmış başka çalışmanın olmaması nedeniyle sonuçları karşılaştırma olanağı bulunamamıştır.

5.1.4. TBARS Değerleri

Bu çalışmada farklı hızlarda tek sefer bir saatlik ve tüketici koşu bandı egzersizi sonrası TBARS değerlerinin beynin prefrontal korteks, striatum ve hipokampus bölgelerinde anlamlı olarak değişmediği gösterilmiştir. Radak ve arkadaşları; tek sefer iki saatlik yüzme sonrasında TBARS değerlerinde ve oksidan hasarın belirleyicilerinden reaktif karbonil bileşiklerinde değişme olmadığını göstermişlerdir [24]. Akut tüketici egzersiz protokolünün uygulandığı bir başka çalışmada beyinde TBARS düzeyleri değişmemiş ve protein karbonil seviyelerinin artmadığı bulunmuştur [21]. TBARS değerlerinde değişiklik olmadığını gösteren son iki çalışma bu

çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir. Ancak bu iki çalışmada tüm beyin dokusundan yapılan homojenatlardan TBARS değerleri ölçülmüştür; beyin bölgeleri incelenmemiştir.

Somani ve arkadaşları; 40 dakika süreli artan hızlarda devam eden koşu bandı egzersizi sonrasında farklı beyin bölgelerinin incelendiği çalışmasında, striatumda TBARS değerlerinin ellenmiş kontrol grubuna göre yükselmiş olduğunu göstermiş ve bunu striatumun motor hareket merkezi olması nedeniyle artmış aktivitesine bağlamıştır [103]. Aynı çalışmada serebral korteks, serebellum, medulla ve hipotalamusta TBARS değerleri anlamlı bir değişiklik göstermemektedir. Husain ve arkadaşları, yüksek bir hızda uyguladığı akut koşu egzersizi sonrası striatum, medulla, ve serebral kortekste MDA'yı artmış bulurken serebellum ve hipotalamusta değişiklik saptamamıştır. Bu sonuç lipid peroksidasyonunun akut egzersizle bölgesel seçicilik göstermesine ve en çok etkilenen striatumun motor aktivite kontrolünde yer almasına bağlanmıştır [108]. Ortaya çıkan farklı sonuçlar ve striatal MDA artışı; uygulanan egzersizin şiddetine bağlı olabilir.

5.2. KRONİK EGZERSİZİN ETKİLERİ

5.2.1. SOD Enzim Aktivitesi

Farklı şiddetlerde yapılan düzenli egzersiz sonrasında SOD aktivitesi prefrontal korteks ve striatumda değişmezken hipokampusta K1 ve K2 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış bulunmuştur. K1 grubu 10 m/dakika, K2 grubu ise 15 m/dakika hızlarda koşu yapmıştır. Bu hızlar ılımlı egzersiz şiddetleri olarak belirtilmektedir [94].

Hipokampusta SOD aktivitesinin düzenli ılımlı egzersizle kontrol seviyelerinin altına inmiş olması egzersizin olumlu bir etkisi olarak yorumlanabilir. Coutinho ve arkadaşları 31 günlük volanter egzersiz programı sonrasında bazal plazma kortikosteron düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşmüş bulmuştur [109]. Glukokortikoid reseptörleri beyinde çoğunlukla hipokampusta bulunmaktadır. Glukokortikoidlerin hipokampusta nöronal hasarı ve hastalıkları kötüleştirdikleri, hipokampal atrofiye neden oldukları, oksijen radikallerinin nörotoksitesini artırdıkları gösterilmiştir [15;16]. Glukokortikoidler glutamatın salıverilmesini artırır [110]. Glutamat reseptörlerinin aktivasyonu süperoksit radikalinin üretimine neden olur

[111]. İlimli şiddetteki düzenli egzersizin bazal kortikosteron düzeylerini düşürmesine bağlı olarak glutamat da hipokampusta azalmış olabilir. Bunun sonucu olarak hipokampusta glutamata bağlı süperoksit radikalleri oluşumu azalmış olabilir. Süperoksit radikalinin azalmış olması SOD aktivitesindeki azalmayı açıklayabilir.

Devi ve arkadaşları dört aylık yüzme egzersizi sonrasında hipokampus ve serebral kortekste SOD aktivitesini kontrole göre anlamlı olarak artmış bulmuştur [112]. Somani ve arkadaşları ise 7,5 haftalık artan şiddetlerle devam eden koşu egzersizi sonrasında SOD aktivitesini hipokampusta değişmemiş bulmuştur [103].

Bu çalışmada bulunan hipokampusta K1 ve K2 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış SOD aktivitesi bulgusu, Somani ve arkadaşlarının 7,5 haftalık egzersiz sonrasında hipokampusta SOD aktivitesini değişmemiş bulması ve Devi ve arkadaşlarının dört aylık yüzme sonrasında hipokampusta SOD aktivitesini artmış bulması ile uyumsuzdur. Ancak bu üç çalışmada farklı egzersiz türleri, süreleri ve şiddeti uygulanmıştır. Bu çalışmada K1 ve K2 gruplarının hızları 10 m/dakika, 15 m/dakika iken diğer çalışmanın koşu hızı 8,2 m/dakika- 54,4 m/dakika arasında artar şeklindedir. SOD artışı yüksek egzersiz şiddetinden kaynaklanmış olabilir. Uygulanan egzersiz şiddetinin, süresinin ya da türünün değişik olması hipokampus SOD aktivitesini farklı olarak etkiliyor olabilir.

Somani ve arkadaşları 6,5 hafta yükselen hızlarla devam eden koşu egzersizinin SOD aktivitesine etkisini; ellenmiş kontrole göre kortekste değişmemiş, serebellum, medulla ve hipotalamusta azalmış, striatumda ise yükselmiş bulmuştur [20]. Striatumda egzersizle artmış SOD aktivitesi; bu bölgenin en fakir enzim aktivitesine sahip ve motor fonksiyonu kontrol ediyor olmasına bağlanmıştır. Egzersiz çalışması sırasında motor aktiviteyi sürdürmek ve striatumu süperoksitlerden kurtarmak için SOD aktivitesi artmış olabilir. SOD aktivitesi doku oksijenasyonuna karşı duyarlıdır. Sıçanlarda yüksek oksijen geriliminde enzim biyosentezinin arttığı rapor edilmiştir [72]. Egzersiz sırasında artan oksijen kullanımı striatumda SOD aktivitesini artırabilir.

Navarro ve arkadaşları farelerde 30 dakikalık 24 hafta süren ılımlı koşu egzersizi sonrası tüm beyin Mn-SOD ve Cu-SOD aktivitesinin egzersizle artmış olduğunu göstermişlerdir. Bu etki ılımlı egzersizin antioksidan enzim aktivitesi artışına ve azalmış oksidan stres belirleyicilerine bağlanmıştır [113].

Prefrontal kortekste SOD enzimi aktivitesinin egzersizle değişiminin incelendiği bir yayına literatürde rastlanmamıştır.

5.2.2. GPx Enzim Aktivitesi

Farklı şiddetlerde yapılan düzenli egzersiz üç farklı beyin bölgesinde GPx aktivitesinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Somani ve arkadaşları korteks, beyin sapı, striatum ve hipokampus bölgelerinde GPx enzim aktivitesinin 7,5 haftalık koşu bandı egzersizi ile değişmediğini gösterirken, Liu ve arkadaşları kronik egzersizin beyinde GSH'yi ve GSSG'yi değiştirmedini göstermektedir [20;21]. Coşkun ve arkadaşları da 6,5 haftalık koşu bandı egzersizi sonrasında beyin GSH seviyelerinin kontrole göre değişmediğini bulmuşlardır [114]. Özkaya ve arkadaşları 8 haftalık artan şiddetlerle devam eden koşu egzersizi sonrası tüm beyinde GPx aktivitesinin değişmediğini göstermiştir [22]. Tüm bu sonuçlar, GPx aktivitesinde kronik düzenli egzersizle değişiklik olmaması; peroksidasyon oluşumunda anlamlı bir değişikliğin olmaması anlamını taşımaktadır [20].

Devi ve arkadaşları 12 haftalık yüzme sonrasında hipokampus ve serebral kortekste GPx aktivitesini artmış bulmuşlardır [112]. Somani ve arkadaşları 6,5 haftalık koşu bandı egzersizi sonrası GPx aktivitesini; kortekste ve hipotalamusta artmış bulurken, serebellumda azalmış, medulla ve striatumda değişmemiş olduğunu göstermişlerdir [20]. Bu iki çalışmada ortaya koyulan farklı sonuçlar, uygulanan egzersizin türünün, şiddetinin ve süresinin farklı olmasına bağlı olabilir.

Bu çalışmada egzersiz GPx aktivitesinde ellenmemiş kontrole göre değişikliğe neden olmazken, sadece koşu bandına konulup egzersiz yapmayan sıçanlarda (CK) prefrontal kortekste Gpx aktivitesi kontrole göre artmış bulunmuştur.

Deneyisel hayvan modellerinde stresin sınırları nazikçe elle tutmadan, kuyruk sıkıştırma, ayak şoku ya da hareketsiz bırakmaya kadar değişmektedir. Birçok araştırmacı bu tür streslerin mesolimbik ve mezokortikal beyin bölgelerinde dopaminerjik aktiviteyi artırdığını göstermiştir [115]. Mezokortikal dopamin nöronlarındaki aktivite artışı ilk olarak post mortem doku analizleriyle gösterilmiştir [116]. Son dönemlerde artan mikrodializ çalışmaları sırasında ölçülen dopamin değerleri; medial prefrontal kortekste bulunan mezokortikal dopamin nöronlarının farklı tip stresler sırasında güçlü olarak aktive olduklarını doğrulamaktadır [115].

Değişik stres türleri prefrontal kortekste ekstraselüler dopamin miktarını ve dopamin yıkım ürünlerini artırır [117]. Örneğin elleme stresi prefrontal kortekste dopamin düzeylerini artırmaktadır [115]. Ayrıca akut düşük şiddetli ayak stresinin prefrontal kortekste, yüksek şiddetteki ayak şoku stresinin ise hem prefrontal kortekste hem de striatumda GPx düzeylerini artırdığı gösterilmiştir [118]. Araştırmacılar, hafif şiddetteki ayak şoku stresinin dopamin metabolizmasını sadece prefrontal kortekste artırmasına, yüksek şiddette ayak şoku stresinin hem prefrontal korteks hem de striatumda dopamin metabolizmasını artırmasına bağlamıştır. Bu çalışmada CK grubunun K grubuna göre anlamlı GPx aktivite yüksekliği; ılımlı şiddette stresin prefrontal korteksteki dopamin metabolizma artışına bağlanabilir. Bunu destekleyen başka bir bulgu da Fontella ve arkadaşlarının çalışmasından gelmektedir. Fontella ve arkadaşları günde bir saat, haftada beş gün, sekiz hafta kapatılma stresi uyguladıkları çalışmalarında hipokampusta GPx aktivitesini artmış, SOD ve katalaz enzim aktivitelerini ise değişmemiş bulmuştur [119].

5.2.3. TBARS Değerleri

Farklı hızlarda sekiz hafta süren koşu bandı egzersizi sonrasında prefrontal korteks, striatum ve hipokampusta TBARS değerleri hiçbir grupta anlamlı değişiklik göstermemiştir. Coşkun ve arkadaşları 6,5 hafta süren koşu egzersizi sonrasında tüm beyin örneklerinde TBARS değerlerinin kontrole göre değişmediğini bildirmişlerdir [114]. Devi ve arkadaşları 12 haftalık yüzme ile hipokampus ve serebral kortekste TBARS değerlerinde anlamlı bir değişiklik olmadığını göstermiştir [112]. Radak ve arkadaşları dokuz hafta süren düzenli yüzme egzersizi sonrasında TBARS değerlerinde kontrole göre değişiklik saptamamıştır [120]. Ogonovszk ve arkadaşları sıçanlarda ılımlı (günde 1 saat), şiddetli (yüzme sürelerinin 0,5 saatten 4,5 saate kadar artırıldığı) ve aşırı şiddetli (günde 1 saat 6 hafta ve ardından günde 4,5 saat 2 hafta) haftada beş gün, sekiz hafta 8 haftalık yüzme egzersizi sonrasında MDA değerlerinin ve DNA hasarı düzeylerini değişmemiş bulmuşlardır [121].

Egzersiz beyinde TBARS değerlerini değiştirdiğini gösteren çalışmalarda bulunmaktadır. Navarro ve arkadaşları farelerde, 10, 15 ve 20 cm/saniye, her hızda 5'er dakika, her gün ve 24 hafta süren koşu egzersizi sonrasında tüm beyin TBARS değerleri kontrole göre düşmüş bulunmuştur [113]. Liu ve arkadaşları sıçanlarda 2

hafta aralarla artan hızlar ve sürelerde (son olarak 2 saat 26,6 m/dakika hıza ulaşan), 8 haftalık koşu egzersizi sonrasında tüm beyin doku homejenatında ve beyin mitokondrilerinde MDA değerlerinde anlamlı bir azalış olduğunu, beyin DNA hasarı belirleyicilerinin ise değişmediğini göstermişlerdir [21]. MDA değerlerinde azalma kronik egzersizin olumlu bir etkisi olarak yorumlanmıştır [21]. MDA'nın değişmediğini gösteren pek çok çalışmaya göre bu iki çalışmanın sonuçları uygulanan egzersiz programının süresindeki uzunluktan kaynaklanıyor olabilir.

5.2.4. Nitrit-Nitrat Değerleri

Farklı hızlarda yapılan düzenli koşu bandı egzersizi sonrasında beynin prefrontal korteks, striatum ve hipokampus bölgelerinde nitrit-nitrat ölçüm değerleri arasında istatistiksel anlamlı bir sonuç bulunmamaktadır. Literatürde kronik egzersizin beyinde nitrit-nitrat değerlerine etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Egzersiz sırasında artan metabolik hız sonucunda iskelet kası, kalpte ve diğer dokularda oksijen tüketimi belirgin olarak artabilir [6]. Akut egzersiz tüm vücutta oksidan strese neden olurken kronik egzersizin antioksidan savunmayı güçlendirdiği bilinmektedir [14]. Bununla birlikte egzersizin beyinde oksidan strese yol açıp açmadığını inceleyen çalışmalar yetersizdir.

Bu çalışmada farklı şiddetlerde yapılan akut koşu bandı egzersizinin beyinde prefrontal korteks, striatum ve hipokampus bölgelerinde oksidan-antioksidan denge üzerine etkileri incelenmiştir. Farklı şiddetlerde yapılan akut koşu bandı egzersizinin incelenen beyin bölgelerinde oksidan strese neden olmadığı gösterilmiştir. Yüksek şiddette yapılan akut koşma egzersizinin striatum bölgesinde SOD aktivitesinde artışa yol açtığı saptanmıştır. Striatum motor aktivitenin kontrolünde görevli bir bölgedir ve egzersizle aktivitesinde artış oluşmaktadır [20]. Ayrıca striatum bölgesi yüksek dopamin içeriğine sahiptir [104]. Egzersiz sırasında artan kateşolaminlerin otooksidasyonu süperoksit radikali oluşumuna neden olabilir. SOD enzimi aktivitesinde süperoksit radikallerini uzaklaştırmak için ortaya çıkan artış, hidrojen peroksit düzeylerinde artışa yol açmaktadır. Artan hidrojen peroksit lipit peroksidasyonuna neden olarak hücrede hasar yapabilir. Ancak hiçbir egzersiz grubunda lipit peroksidasyonu bulgusu olan TBARS değerlerinde artış saptanmamıştır. Bu da artan hidrojen peroksitin zarar vermeden enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri tarafından ortamdan uzaklaştırıldığına kanıttır.

Bu çalışmada farklı şiddetlerde yapılan düzenli koşu bandı egzersizinin beyinde prefrontal korteks, striatum ve hipokampus bölgelerinde oksidan-antioksidan denge üzerine etkileri incelenmiştir. Düzenli egzersizin incelenen beyin bölgelerinde oksidan strese neden olmadığı gösterilmiştir. İlimli hızlarda yapılan egzersiz sonrasında hipokampusta SOD değerlerinin düşmüş olması egzersizin hipokampus üzerine olumlu bir etkisi olarak yorumlanabilir. Düzenli ilimli egzersiz glukokortikoid düzeylerini bazal seviyenin altına indirmektedir [109]. Kortikosterondaki azalma hipokampusta glutamata da azaltmaktadır [110]. Glutamata bağlı süperoksit oluşumundaki [111] azalma SOD aktivitesinde azalmayı açıklayabilmektedir.

Literatürdeki çalışmalarda çok değişik egzersiz yöntemlerinin kullanıldığı görülmektedir. Bu nedenle çalışmaların birbirleriyle karşılaştırılması güçtür. Özellikle çakışmalardan yüzme egzersizinde ne kadar yüzüldüğünü saptamak mümkün değildir. Değişik türde egzersizler farklı kortikosteron yanıtları oluşturabilir. Farklı egzersiz türlerine ve şiddetlerine organizmanın glukokortikoid yanıtının incelenmesi yararlı olacaktır.

Bu çalışmada bulunan bir diğer ilginç sonuç da; kronik ellenmiş kontrol grubunda GPx aktivitesinin kontrole göre yükselmiş olmasıdır. Hafif şiddetlerde stres prefrontal kortekste dopamin metabolizmasını artırarak GPx enzim aktivitesini artırıyor olabilir. Bazı araştırmacılar egzersiz deneylerinde kontrol grubu olarak ellenmiş kontrol grubu kullanmaktadır [20;103;108]. Bu durum sonuçların yanlış yorumlanmasına neden olabilir.

Egzersiz beyinde oksidan strese neden olup olmadığını inceleyen çalışmaların bir bölümünde tüm beyin kullanılmıştır. Oysa ki beyni, her bölümü aynı bir organ olarak kabul etmek mümkün değildir. Bu nedenle bölgesel çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak; akut ve kronik egzersizin prefrontal korteks, striatum ve hipokampusta oksidan strese neden olmadığı, kronik egzersizin hipokampusta muhtemelen süperoksit radikali oluşumunu azaltarak olumlu etki gösterdiği ileri sürülebilir.

7. KAYNAKLAR

- [1] Cotman,C.W. and Engesser-Cesar,C., Exercise enhances and protects brain function, *Exerc. Sport Sci. Rev.*, 30 (2002) 75-79.
- [2] Sacco,R.L., Gan,R., Boden-Albala,B., Lin,I.F., Kargman,D.E., Hauser,W.A., Shea,S. and Paik,M.C., Leisure-time physical activity and ischemic stroke risk: the Northern Manhattan Stroke Study, *Stroke*, 29 (1998) 380-387.
- [3] Friedland,R.P., Fritsch,T., Smyth,K.A., Koss,E., Lerner,A.J., Chen,C.H., Petot,G.J. and Debanne,S.M., Patients with Alzheimer's disease have reduced activities in midlife compared with healthy control-group members, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 98 (2001) 3440-3445.
- [4] Laurin,D., Verreault,R., Lindsay,J., MacPherson,K. and Rockwood,K., Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons, *Arch. Neurol.*, 58 (2001) 498-504.
- [5] Cotman,C.W. and Berchtold,N.C., Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity, *Trends Neurosci.*, 25 (2002) 295-301.
- [6] Banerjee,A.K., Mandal,A., Chanda,D. and Chakraborti,S., Oxidant, antioxidant and physical exercise, *Mol. Cell Biochem.*, 253 (2003) 307-312.
- [7] Chance,B., Sies,H. and Boveris,A., Hydroperoxide metabolism in mammalian organs, *Physiol Rev.*, 59 (1979) 527-605.
- [8] Sen,C.K., Oxidants and antioxidants in exercise, *J. Appl. Physiol*, 79 (1995) 675-686.
- [9] Duthie,G.G., Robertson,J.D., Maughan,R.J. and Morrice,P.C., Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running, *Arch. Biochem. Biophys.*, 282 (1990) 78-83.

- [10] Leeuwenburgh,C., Hansen,P.A., Holloszy,J.O. and Heinecke,J.W., Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine, *Free Radic. Biol. Med.*, 27 (1999) 186-192.
- [11] Powers,S.K., Ji,L.L. and Leeuwenburgh,C., Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 31 (1999) 987-997.
- [12] Davies,K.J., Quintanilha,A.T., Brooks,G.A. and Packer,L., Free radicals and tissue damage produced by exercise, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 107 (1982) 1198-1205.
- [13] Bejma,J. and Ji,L.L., Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle, *J. Appl. Physiol*, 87 (1999) 465-470.
- [14] Ji,L.L., Antioxidants and oxidative stress in exercise, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 222 (1999) 283-292.
- [15] McIntosh,L.J., Hong,K.E. and Sapolsky,R.M., Glucocorticoids may alter antioxidant enzyme capacity in the brain: baseline studies, *Brain Res.*, 791 (1998) 209-214.
- [16] Sapolsky,R.M., The possibility of neurotoxicity in the hippocampus in major depression: a primer on neuron death, *Biol. Psychiatry*, 48 (2000) 755-765.
- [17] Sutoo,D. and Akiyama,K., Regulation of brain function by exercise, *Neurobiol. Dis.*, 13 (2003) 1-14.
- [18] Hattori,S., Naoi,M. and Nishino,H., Striatal dopamine turnover during treadmill running in the rat: relation to the speed of running, *Brain Res. Bull.*, 35 (1994) 41-49.
- [19] Graham,D.G., Oxidative pathways for catecholamines in the genesis of neuromelanin and cytotoxic quinones, *Mol. Pharmacol.*, 14 (1978) 633-643.

- [20] Somani,S.M. and Husain,K., Interaction of exercise training and chronic ethanol ingestion on antioxidant system of rat brain regions, *J. Appl. Toxicol.*, 17 (1997) 329-336.
- [21] Liu,J., Yeo,H.C., Overvik-Douki,E., Hagen,T., Doniger,S.J., Chyu,D.W., Brooks,G.A. and Ames,B.N., Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants, *J. Appl. Physiol.*, 89 (2000) 21-28.
- [22] Ozkaya,Y.G., Agar,A., Yargicoglu,P., Hacıoglu,G., Bilmen-Sarikcioglu,S., Ozen,I. and Aliciguzel,Y., The effect of exercise on brain antioxidant status of diabetic rats, *Diabetes Metab*, 28 (2002) 377-384.
- [23] Hara,M., Iigo,M., Ohtani-Kaneko,R., Nakamura,N., Suzuki,T., Reiter,R.J. and Hirata,K., Administration of melatonin and related indoles prevents exercise-induced cellular oxidative changes in rats, *Biol. Signals*, 6 (1997) 90-100.
- [24] Radak,Z., Sasvari,M., Nyakas,C., Kaneko,T., Tahara,S., Ohno,H. and Goto,S., Single bout of exercise eliminates the immobilization-induced oxidative stress in rat brain, *Neurochem. Int.*, 39 (2001) 33-38.
- [25] Lee,I.M., Sesso,H.D. and Paffenbarger,R.S., Jr., Physical activity and coronary heart disease risk in men: does the duration of exercise episodes predict risk?, *Circulation*, 102 (2000) 981-986.
- [26] Fordyce,D.E. and Wehner,J.M., Physical activity enhances spatial learning performance with an associated alteration in hippocampal protein kinase C activity in C57BL/6 and DBA/2 mice, *Brain Res.*, 619 (1993) 111-119.
- [27] Kramer,A.F., Hahn,S., Cohen,N.J., Banich,M.T., McAuley,E., Harrison,C.R., Chason,J., Vakil,E., Bardell,L., Boileau,R.A. and Colcombe,A., Ageing, fitness and neurocognitive function, *Nature*, 400 (1999) 418-419.
- [28] Spirduso,W.W., MacRae,H.H., MacRae,P.G., Prewitt,J. and Osborne,L., Exercise effects on aged motor function, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 515 (1988) 363-375.

- [29] Stummer,W., Weber,K., Tranmer,B., Baethmann,A. and Kempfski,O., Reduced mortality and brain damage after locomotor activity in gerbil forebrain ischemia, *Stroke*, 25 (1994) 1862-1869.
- [30] Grealy,M.A., Johnson,D.A. and Rushton,S.K., Improving cognitive function after brain injury: the use of exercise and virtual reality, *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 80 (1999) 661-667.
- [31] van,P.H., Christie,B.R., Sejnowski,T.J. and Gage,F.H., Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 96 (1999) 13427-13431.
- [32] Tong,L., Shen,H., Perreau,V.M., Balazs,R. and Cotman,C.W., Effects of exercise on gene-expression profile in the rat hippocampus, *Neurobiol. Dis.*, 8 (2001) 1046-1056.
- [33] Dreyfus,C.F., Dai,X., Lercher,L.D., Racey,B.R., Friedman,W.J. and Black,I.B., Expression of neurotrophins in the adult spinal cord in vivo, *J. Neurosci. Res.*, 56 (1999) 1-7.
- [34] Friedman,W.J., Black,I.B. and Kaplan,D.R., Distribution of the neurotrophins brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-3, and neurotrophin-4/5 in the postnatal rat brain: an immunocytochemical study, *Neuroscience*, 84 (1998) 101-114.
- [35] Molteni,R., Ying,Z. and Gomez-Pinilla,F., Differential effects of acute and chronic exercise on plasticity-related genes in the rat hippocampus revealed by microarray, *Eur. J. Neurosci.*, 16 (2002) 1107-1116.
- [36] Vaynman,S., Ying,Z. and Gomez-Pinilla,F., Interplay between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity, *Neuroscience*, 122 (2003) 647-657.
- [37] Vaynman,S., Ying,Z. and Gomez-Pinilla,F., Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition, *Eur. J. Neurosci.*, 20 (2004) 2580-2590.

- [38] Barde,Y.A., Neurotrophins: a family of proteins supporting the survival of neurons, *Prog. Clin. Biol. Res.*, 390 (1994) 45-56.
- [39] Lo,D.C., Neurotrophic factors and synaptic plasticity, *Neuron*, 15 (1995) 979-981.
- [40] Nistico,G., Ciriolo,M.R., Fiskin,K., Iannone,M., De,M.A. and Rotilio,G., NGF restores decrease in catalase activity and increases superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in the brain of aged rats, *Free Radic. Biol. Med.*, 12 (1992) 177-181.
- [41] Spina,M.B., Hyman,C., Squinto,S. and Lindsay,R.M., Brain-derived neurotrophic factor protects dopaminergic cells from 6-hydroxydopamine toxicity, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 648 (1992) 348-350.
- [42] Egea,J., Espinet,C., Soler,R.M., Dolcet,X., Yuste,V.J., Encinas,M., Iglesias,M., Rocamora,N. and Comella,J.X., Neuronal survival induced by neurotrophins requires calmodulin, *J. Cell Biol.*, 154 (2001) 585-597.
- [43] Lander,H.M., An essential role for free radicals and derived species in signal transduction, *FASEB J.*, 11 (1997) 118-124.
- [44] Halliwell,B. and Gutteridge,J.M.C., *Free radicals in biology and medicine* , Oxford, Oxford University , 1999.
- [45] Gutteridge,J.M., Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection, *Chem. Biol. Interact.*, 91 (1994) 133-140.
- [46] Reiter,R.J., Antioxidant actions of melatonin, *Adv. Pharmacol.*, 38 (1997) 103-117.
- [47] Halliwell,B., Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease, *Am. J. Med.*, 91 (1991) 14S-22S.
- [48] Tamer,L., Polat,G. and Eskandari,G., Serbest radikaller, *Mersin Üniv. Tıp Fakültesi Dergisi*, 1 (2000) 52-58.

- [49] Halliwell,B. and Gutteridge,J.M., Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts, *Arch. Biochem. Biophys.*, 246 (1986) 501-514.
- [50] Winterbourn,C.C. and Kettle,A.J., Radical-radical reactions of superoxide: a potential route to toxicity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 305 (2003) 729-736.
- [51] Yu,B.P., Cellular defenses against damage from reactive oxygen species, *Physiol Rev.*, 74 (1994) 139-162.
- [52] Schoneich,C., Reactive oxygen species and biological aging: a mechanistic approach, *Exp. Gerontol.*, 34 (1999) 19-34.
- [53] Sohal,R.S., Mitochondria generate superoxide anion radicals and hydrogen peroxide, *FASEB J.*, 11 (1997) 1269-1270.
- [54] Lledias,F., Rangel,P. and Hansberg,W., Oxidation of catalase by singlet oxygen, *J. Biol. Chem.*, 273 (1998) 10630-10637.
- [55] Guix,F.X., Uribesalgo,I., Coma,M. and Munoz,F.J., The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain, *Prog. Neurobiol.*, 76 (2005) 126-152.
- [56] Beckman,J.S. and Koppenol,W.H., Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly, *Am. J. Physiol.*, 271 (1996) C1424-C1437.
- [57] Wickens,A.P., Ageing and the free radical theory, *Respir. Physiol.*, 128 (2001) 379-391.
- [58] Dean,R.T., Fu,S., Stocker,R. and Davies,M.J., Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation, *Biochem. J.*, 324 (Pt 1) (1997) 1-18.
- [59] Chung,H.Y., Song,S.H., Kim,H.J., Ikeno,Y. and Yu,B.P., Modulation of renal xanthine oxidoreductase in aging: gene expression and reactive oxygen species generation, *J. Nutr. Health Aging*, 3 (1999) 19-23.

- [60] Hurst,J.S., Paterson,C.A. and Short,C.S., Oxidant and anti-oxidant effects on arachidonate metabolism by rabbit ocular tissues, *J. Ocul. Pharmacol.*, 5 (1989) 51-64.
- [61] Eiserich,J.P., Hristova,M., Cross,C.E., Jones,A.D., Freeman,B.A., Halliwell,B. and van,d., V, Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils, *Nature*, 391 (1998) 393-397.
- [62] Jenner,P., Altered mitochondrial function, iron metabolism and glutathione levels in Parkinson's disease, *Acta Neurol. Scand. Suppl*, 146 (1993) 6-13.
- [63] Olanow,C.W. and Calne,D., Does selegiline monotherapy in Parkinson's disease act by symptomatic or protective mechanisms?, *Neurology*, 42 (1992) 13-26.
- [64] Naoi,M. and Maruyama,W., Cell death of dopamine neurons in aging and Parkinson's disease, *Mech. Ageing Dev.*, 111 (1999) 175-188.
- [65] van,d., V and Bast,A., Effect of oxidative stress on receptors and signal transmission, *Chem. Biol. Interact.*, 85 (1992) 95-116.
- [66] Urso,M.L. and Clarkson,P.M., Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation, *Toxicology*, 189 (2003) 41-54.
- [67] Haussinger,D., The role of cellular hydration in the regulation of cell function, *Biochem. J.*, 313 (Pt 3) (1996) 697-710.
- [68] Ashok,B.T. and Ali,R., The aging paradox: free radical theory of aging, *Exp. Gerontol.*, 34 (1999) 293-303.
- [69] Cardozo-Pelaez,F., Brooks,P.J., Stedeford,T., Song,S. and Sanchez-Ramos,J., DNA damage, repair, and antioxidant systems in brain regions: a correlative study, *Free Radic. Biol. Med.*, 28 (2000) 779-785.
- [70] Rikans,L.E. and Hornbrook,K.R., Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging, *Biochim. Biophys. Acta*, 1362 (1997) 116-127.

- [71] Yu,B.P., Approaches to anti-aging intervention: the promises and the uncertainties, *Mech. Ageing Dev.*, 111 (1999) 73-87.
- [72] Fridovich,I., Superoxide radical and superoxide dismutases, *Annu. Rev. Biochem.*, 64 (1995) 97-112.
- [73] Harris,E.D., Regulation of antioxidant enzymes, *J. Nutr.*, 122 (1992) 625-626.
- [74] Vatassery,G.T., Vitamin E and other endogenous antioxidants in the central nervous system, *Geriatrics*, 53 Suppl 1 (1998) S25-S27.
- [75] Schulz,J.B., Lindenau,J., Seyfried,J. and Dichgans,J., Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration, *Eur. J. Biochem.*, 267 (2000) 4904-4911.
- [76] Maiorino,M., Aumann,K.D., Brigelius-Flohe,R., Doria,D., van den,H.J., McCarthy,J., Roveri,A., Ursini,F. and Flohe,L., Probing the presumed catalytic triad of selenium-containing peroxidases by mutational analysis of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx), *Biol. Chem. Hoppe Seyler*, 376 (1995) 651-660.
- [77] Jotti,A., Maiorino,M., Paracchini,L., Piccinini,F. and Ursini,F., Protective effect of dietary selenium supplementation on delayed cardiotoxicity of adriamycin in rat: is PHGPX but not GPX involved?, *Free Radic. Biol. Med.*, 16 (1994) 283-288.
- [78] Barhoumi,R., Bowen,J.A., Stein,L.S., Echols,J. and Burghardt,R.C., Concurrent analysis of intracellular glutathione content and gap junctional intercellular communication, *Cytometry*, 14 (1993) 747-756.
- [79] Willett,W.C., Diet and health: what should we eat?, *Science*, 264 (1994) 532-537.
- [80] Buring,J.E. and Hennekens,C.H., Antioxidant vitamins and cardiovascular disease, *Nutr. Rev.*, 55 (1997) S53-S58.

- [81] Frei,B., Natural antioxidant in human health and disease, Academic Press, 1994.
- [82] Mathews-Roth,M.M., Photoprotection by carotenoids, Fed. Proc., 46 (1987) 1890-1893.
- [83] Golden,M.H. and Ramdath,D., Free radicals in the pathogenesis of kwashiorkor, Proc. Nutr. Soc., 46 (1987) 53-68.
- [84] Coyle,J.T. and Puttfarcken,P., Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders, Science, 262 (1993) 689-695.
- [85] Jenkins,R.R., Exercise, oxidative stress, and antioxidants: a review, Int. J. Sport Nutr., 3 (1993) 356-375.
- [86] Barja,G., Mitochondrial oxygen radical generation and leak: sites of production in states 4 and 3, organ specificity, and relation to aging and longevity, J. Bioenerg. Biomembr., 31 (1999) 347-366.
- [87] Giulivi,C., Functional implications of nitric oxide produced by mitochondria in mitochondrial metabolism, Biochem. J., 332 (Pt 3) (1998) 673-679.
- [88] Ischiropoulos,H., Zhu,L., Chen,J., Tsai,M., Martin,J.C., Smith,C.D. and Beckman,J.S., Peroxynitrite-mediated tyrosine nitration catalyzed by superoxide dismutase, Arch. Biochem. Biophys., 298 (1992) 431-437.
- [89] Chakraborti,T., Das,S., Mondal,M., Roychoudhury,S. and Chakraborti,S., Oxidant, mitochondria and calcium: an overview, Cell Signal., 11 (1999) 77-85.
- [90] Alessio,H.M. and Goldfarb,A.H., Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training, J. Appl. Physiol, 64 (1988) 1333-1336.

- [91] Ji,L.L., Wu,E. and Thomas,D.P., Effect of exercise training on antioxidant and metabolic functions in senescent rat skeletal muscle, *Gerontology*, 37 (1991) 317-325.
- [92] Chakraborti,T., Ghosh,S.K., Michael,J.R., Batabyal,S.K. and Chakraborti,S., Targets of oxidative stress in cardiovascular system, *Mol. Cell Biochem.*, 187 (1998) 1-10.
- [93] Leeuwenburgh,C. and Heinecke,J.W., Oxidative stress and antioxidants in exercise, *Curr. Med. Chem.*, 8 (2001) 829-838.
- [94] Kayatekin,B.M. and Şemin,İ., Fare ve sıçanlar için koşu bandı antrenman ve test protokolleri., *Spor Hekimliği Dergisi*, 38 (2003) 19-28.
- [95] Ji,L.L., Stratman,F.W. and Lardy,H.A., Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise, *Arch. Biochem. Biophys.*, 263 (1988) 150-160.
- [96] Bejma,J., Ramires,P. and Ji,L.L., Free radical generation and oxidative stress with ageing and exercise: differential effects in the myocardium and liver, *Acta Physiol Scand.*, 169 (2000) 343-351.
- [97] Davies,K.J., Donovan,C.M., Refino,C.J., Brooks,G.A., Packer,L. and Dallman,P.R., Distinguishing effects of anemia and muscle iron deficiency on exercise bioenergetics in the rat, *Am. J. Physiol*, 246 (1984) E535-E543.
- [98] Carrillo,M.C., Kanai,S., Nokubo,M. and Kitani,K., (-) deprenyl induces activities of both superoxide dismutase and catalase but not of glutathione peroxidase in the striatum of young male rats, *Life Sci.*, 48 (1991) 517-521.
- [99] Paglia,D.E. and Valentine,W.N., Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase, *J. Lab Clin. Med.*, 70 (1967) 158-169.
- [100] Rehncrona,S., Smith,D.S., Akesson,B., Westerberg,E. and Siesjo,B.K., Peroxidative changes in brain cortical fatty acids and phospholipids, as

characterized during Fe²⁺- and ascorbic acid-stimulated lipid peroxidation in vitro, *J. Neurochem.*, 34 (1980) 1630-1638.

- [101] Dawson,B. and Trap,R.G., *Basic & Clinical Biostatistics*. Lange Medical Boks/McGraw-Hill, New-York, 2000.
- [102] Brown,M. and Holloszy,J.O., Effects of walking, jogging and cycling on strength, flexibility, speed and balance in 60- to 72-year olds, *Aging (Milano)*, 5 (1993) 427-434.
- [103] Somani,S.M., Ravi,R. and Rybak,L.P., Effect of exercise training on antioxidant system in brain regions of rat, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 50 (1995) 635-639.
- [104] Matin,M.A. and Hussain,K., Striatal neurochemical changes and motor dysfunction in mipafox-treated animals, *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 7 (1985) 79-81.
- [105] Meeusen,R., Smolders,I., Sarre,S., de,M.K., Keizer,H., Serneels,M., Ebinger,G. and Michotte,Y., Endurance training effects on neurotransmitter release in rat striatum: an in vivo microdialysis study, *Acta Physiol Scand.*, 159 (1997) 335-341.
- [106] Waters,R.P., Emerson,A.J., Watt,M.J., Forster,G.L., Swallow,J.G. and Summers,C.H., Stress induces rapid changes in central catecholaminergic activity in *Anolis carolinensis*: restraint and forced physical activity, *Brain Res. Bull.*, 67 (2005) 210-218.
- [107] Paula,F.B., Gouvea,C.M., Alfredo,P.P. and Salgado,I., Protective action of a hexane crude extract of *Pterodon emarginatus* fruits against oxidative and nitrosative stress induced by acute exercise in rats, *BMC. Complement Altern. Med.*, 5 (2005) 17.
- [108] Husain,K. and Somani,S.M., Influence of exercise and ethanol on cholinesterase activity and lipid peroxidation in blood and brain regions of rat, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 21 (1997) 659-670.

- [109] Coutinho,A.E., Fediuc,S., Campbell,J.E. and Riddell,M.C., Metabolic effects of voluntary wheel running in young and old Syrian golden hamsters, *Physiol Behav.*, (2005).
- [110] Moghaddam,B., Bolinao,M.L., Stein-Behrens,B. and Sapolsky,R., Glucocorticoids mediate the stress-induced extracellular accumulation of glutamate, *Brain Res.*, 655 (1994) 251-254.
- [111] Lafon-Cazal,M., Pietri,S., Culcasi,M. and Bockaert,J., NMDA-dependent superoxide production and neurotoxicity, *Nature*, 364 (1993) 535-537.
- [112] Devi,S.A. and Kiran,T.R., Regional responses in antioxidant system to exercise training and dietary vitamin E in aging rat brain, *Neurobiol. Aging*, 25 (2004) 501-508.
- [113] Navarro,A., Gomez,C., Lopez-Cepero,J.M. and Boveris,A., Beneficial effects of moderate exercise on mice aging: survival, behavior, oxidative stress, and mitochondrial electron transfer, *Am. J. Physiol Regul. Integr. Comp Physiol*, 286 (2004) R505-R511.
- [114] Coskun,S., Gonul,B., Guzel,N.A. and Balabanli,B., The effects of vitamin C supplementation on oxidative stress and antioxidant content in the brains of chronically exercised rats, *Mol. Cell Biochem.*, 280 (2005) 135-138.
- [115] Enrico,P., Bouma,M., de Vries,J.B. and Westerink,B.H., The role of afferents to the ventral tegmental area in the handling stress-induced increase in the release of dopamine in the medial prefrontal cortex: a dual-probe microdialysis study in the rat brain, *Brain Res.*, 779 (1998) 205-213.
- [116] Claustre,Y., Rivy,J.P., Dennis,T. and Scatton,B., Pharmacological studies on stress-induced increase in frontal cortical dopamine metabolism in the rat, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 238 (1986) 693-700.
- [117] Dunn,A.J., Stress-related activation of cerebral dopaminergic systems, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 537 (1988) 188-205.

- [118] Gonenc,S., Acikgoz,O., Kayatekin,B.M., Uysal,N. and Akhisaroglu,M., Effects of footshock stress on superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzyme activities and thiobarbituric acid reactive substances levels in the rat prefrontal cortex and striatum, *Neurosci. Lett.*, 289 (2000) 107-110.
- [119] Fontella,F.U., Siqueira,I.R., Vasconcellos,A.P., Tabajara,A.S., Netto,C.A. and Dalmaz,C., Repeated restraint stress induces oxidative damage in rat hippocampus, *Neurochem. Res.*, 30 (2005) 105-111.
- [120] Radak,Z., Kaneko,T., Tahara,S., Nakamoto,H., Pucsok,J., Sasvari,M., Nyakas,C. and Goto,S., Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain, *Neurochem. Int.*, 38 (2001) 17-23.
- [121] Ogonovszky,H., Berkes,I., Kumagai,S., Kaneko,T., Tahara,S., Goto,S. and Radak,Z., The effects of moderate-, strenuous- and over-training on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in rat brain, *Neurochem. Int.*, 46 (2005) 635-640.