

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (TIP) DOKTORA PROGRAMI

**EGZERSİZ YAPTIRILAN RATLARDA MELATONİN VE
NİASİN DESTEĞİNİN LİPİT PEROKSİDASYONU VE
ANTİOKSİDAN SİSTEMLERE ETKİSİ**

ADEM KESKİN
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof.Dr. Aslıhan BÜYÜKÖZTÜRK KARUL

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF 19011 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Tıp) Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Adem KESKİN tarafından hazırlanan “Egzersiz Yaptırılan Ratlarda Melatonin ve Niasin Desteginin Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Sisteme Etkisi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 22 /09/2020

Üye (T.D.)	: Prof. Dr. Aslıhan KARUL	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Çiğdem YENİSEY	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Sezer UYSAL	Dokuz Eylül Üniversitesi
Üye	: Doç. Dr. Murat ÖRMEN	Dokuz Eylül Üniversitesi
Üye	: Dr. Öğr.Ü. Ayça TUZCU	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda; öncelikle her türlü desteğiyle her zaman yanımda olan çok değerli Hocam, danışmanım Prof. Dr. Aslıhan Büyüköztürk Karul'a teşekkür ederim.

Bilgi birikimimde ve yetişmemde değerli katkıları olan Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Çiğdem Yenisey, Doç. Dr. Özge Çevik, Doç. Dr. Yusuf Kurtulmuş, Dr. Öğretim Üyesi Mustafa Yılmaz, Dr. Öğretim Üyesi Ayça Tuzcu'ya teşekkür ederim.

Deney Hayvanları laboratuvarında yaptığım çalışmada destek olan Prof. Dr. Turhan Dost, Doç. Dr. İbrahim Tuğrul, Vet. Hek. Dr. Serdar Aktaş'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın deney aşamalarının kurulumu ve uygulanmasında Merkez Araştırma laboratuvarı ve Fen Edebiyat Fakültesi Biyokimya laboratuvarında yaptığım çalışmalarda her zaman destek olan Prof. Dr. Kubilay Metin, Doç. Dr. Özge Çevik, Araş. Gör. Fatih Birtekocak, Araş. Gör. Ömer Erdoğan, Araş. Gör. Burçin İrem Abas ve Dr. Murat Arı'ya teşekkür ederim.

Tez İzleme Komitesinde bulunan Prof. Dr. Çiğdem Yenisey, Prof. Dr. Berna Korkmazgil'e teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için gerekli maddi desteği Bilimsel Araştırmalar Projesi aracılığıyla sağlayan Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğüne, Sağlık Bilimleri Enstitüsü personeline teşekkür ediyorum.

Son olarak tez çalışmam boyunca her zaman maddi manevi her türlü desteği olan Eşim Kader Aktürk Keskin, çocuklarım Eren, Taha ve Beren'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Egzersiz	3
2.1.1. Egzersizde Ölçü ve Yoğunluk	3
2.1.2. Egzersiz Sırasında Kullanılan Enerji Sistemleri.....	4
2.1.2.1. Hazır enerji (ATP –Fosfokreatin (PCr) Sistemi = Fosfojen sistem)	4
2.1.2.2. Aerobik enerji oluşumu	4
2.1.2.3. Anerobik enerji oluşumu	5
2.1.3. Egzersizde Oksidatif Stres Oluşumu	6
2.2. Serbest Radikaller.....	7
2.2.1. Serbest Radikallerin Tanımı	7
2.2.2. Serbest Radikallerin Oluşumu	7
2.2.3. Serbest Oksijen Radikalleri	8
2.2.3.1. Süper oksit anyon radikali (Süperoksit iyonu) ($O_2^{\cdot-}$)	8
2.2.3.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	9
2.2.3.3. Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)	9
2.2.3.4. Hipokloröz Asit (HOCl)	10
2.2.3.5. Singlet oksijen	10
2.2.4. Reaktif Nitrojen Radikalleri	10
2.2.4.1. Nitrik oksit (NO)	10
2.2.4.2. Peroksinitrit ($ONOO^-$).....	11
2.2.4.3. Nitrotirozin (3-NT).....	11

2.3. Lipit Peroksidasyonu	12
2.4. Antioksidan Sistem.....	13
2.4.1 Antioksidan Sistemde Bulunan Enzimler.....	14
2.4.1.1 Süper oksit dismutaz (SOD).....	14
2.4.1.2. Katalaz	14
2.4.1.3 Glutasyon Peroksidaz ve Glutasyon Redüktaz.....	15
2.4.1.4 Glutasyon S-Transferaz	15
2.5. Enzim Olmayan Antioksidanlar	16
2.5.1. Vitamin A	16
2.5.2. Vitamin C	16
2.5.3. Vitamin E.....	17
2.5.4. Eritropoietin (EPO).....	17
2.6. Melatonin.....	18
2.6.1. Melatonin Sentezi	18
2.6.1. Melatoninin Antioksidan Etkisi.....	20
2.6.2. Egzersizde Melatoninin Antioksidan Etkisi	22
2.7. Niasin.....	23
2.7.1. Niasin Sentezi	23
2.7.2. Niasin Vitamininin Özellikleri ve Önemi.....	24
2.7.3. Niasin Takviyesi ve Eksikliği.....	25
2.7.3. Niasinin Oksidan-Antioksidan Sistemde Olan Rolü	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Gereç.....	27
3.1.1. Cihazlar.....	27
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	28
3.1.3. Hayvan Materyali	29
3.2. Yöntem	30
3.2.1. Araştırmanın Tipi	30
3.2.2. Hayvanlar Üzerinde Yapılan İşlemler	30
3.2.2.1. Egzersiz protokolü.....	31
3.2.2.2. Melatonin solüsyonun hazırlanması ve uygulanması	32
3.2.2.3. Niasin solüsyonun hazırlanması ve uygulanması	33
3.2.2.3. Örnek alınması ve saklanması	34

3.2.3. Kan Parametrelerinin Analizi	35
3.2.3.1. Analizi yapılan parametreler	35
3.2.3.2. Katalaz aktivite tayini	35
3.2.3.3. MDA tayini	37
3.2.3.4. SOD aktivite tayini	40
3.2.3.5. GPX aktivite tayini	44
3.2.3.6. GST aktivite tayini	46
3.2.3.7. TOS tayini	48
3.2.3.8. TAS tayini	50
3.2.3.9. Serum melatonin tayini	52
3.2.4. İstatistiksel Analiz	54
4. BULGULAR	56
4.1. Çalışma Boyunca Vücut Ağırlığında Olan Değişime ait Bulgular	56
4.2. Biyokimyasal Bulgular	57
4.2.1. Kontrol ve Deney Gruplarının MDA Sonuçları	58
4.2.2. Kontrol ve Deney Gruplarının SOD Aktivite Sonuçları	61
4.2.3. Kontrol ve Deney Gruplarının Katalaz Aktiviteleri	64
4.2.4. Kontrol ve Deney Gruplarının GPX Aktiviteleri	67
4.2.5. Kontrol ve Deney Gruplarının GST Aktiviteleri	70
4.2.6. Kontrol ve Deney Gruplarının TOS Düzeyleri	73
4.2.7. Kontrol ve Deney Gruplarının TAS Düzeyleri	76
4.2.8. Kontrol ve Deney Gruplarının Serum Melatonin Düzeyleri	79
4.3. Biyokimyasal sonuçların kilo kaybı ile Pearson Korelasyon analizi	82
5. TARTIŞMA	83
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	89
KAYNAKLAR	91
EKLER	103
Ek 1. ADÜ-HADYЕК Kararı	103
ÖZGEÇMİŞ	104

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	: Adenozin trifosfat
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
GPX	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutayon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon S-transferaz
Hb	: Hemoglobin
TBA	: Tiyoarbitürik Asit
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
NBT	: Nitroblue tetrazolium chloride
BSA	: Bowine Serum Albumin
tBH	: tert-butil hidroperoksit
ABTS	: 2,2'-azinobis(3-etilbenzothiazolin-6-sulfonik asit) diamonyum tuzu
HRP	: Horseradish Peroxidase
VKİ	: Vücut kitle indeksi
İP	: İntraperitoneal
LPO	: Lipit peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
NAC	: N-asetilsistein
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	: Nikotinamid adenin nükleotid fosfat
NAT	: N-asetiltransferaz
PCr	: Fosfokreatin
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TAS	: Total Antioksidan Seviye
TOS	: Total Oksidan Seviye

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Egzersizde zamana bağlı enerjinin kullanımı.....	6
Şekil 2.	Hidroksil radikalının oluşumu.....	9
Şekil 3.	Nitrik oksit oluşumu.....	11
Şekil 4.	MDA oluşumu.....	13
Şekil 5.	SOD'un etki ettiği kimyasal reaksiyon.....	14
Şekil 6.	Katalazın etki ettiği kimyasal reaksiyon.....	14
Şekil 7.	Glutasyon Peroksidaz ve Glutasyon Redüktaz katalitik döngüsü.....	15
Şekil 8.	GST'nin etki ettiği kimyasal reaksiyon.....	16
Şekil 9.	Vitamin A molekül yapısı.....	16
Şekil 10.	Vitamin C molekül yapısı.....	17
Şekil 11.	Vitamin E molekül yapısı.....	17
Şekil 12.	EPO'nun hipoksi durumunda olan etkisi.....	18
Şekil 13.	Melatonin molekül yapısı.....	18
Şekil 14.	Melatonin sentezi.....	19
Şekil 15.	Melatoninin sirkadyen salınımı	20
Şekil 16.	Triptofandan Niasin biyosentezi.....	24
Şekil 17.	NADPH tarafından süper oksit anyon radikali oluşması.....	26
Şekil 18.	Katalaz aktivite tayini prensibi	35
Şekil 19.	MDA tayini testinin prensibi	38
Şekil 20.	MDA Standart solüsyon eğim grafiği ve denklemi	40
Şekil 21.	SOD aktivite tayini testinin prensibi.....	41
Şekil 22.	SOD Standart solüsyon eğim grafiği ve denklemi.....	43
Şekil 23.	GPX aktivite tayini testinin prensibi.....	44
Şekil 24.	GST aktivite tayini prensibi.....	46
Şekil 25.	TOS tayini testinin prensibi.....	49
Şekil 26.	TAS tayini testinin prensibi.....	51
Şekil 27.	Serum Melatonin deney yöntemi.....	53
Şekil 28.	Serum Melatonin standart eğim grafiği ve denklemi.....	54
Şekil 29.	Çalışma gruplarında ağırlık değişimi.....	56
Şekil 30.	MDA ortalama değerleri.....	58

Şekil 31.	MDA konsantrasyon düzeylerinin grup içi dağılımı.....	58
Şekil 32.	SOD ortalama değerleri.....	61
Şekil 33.	SOD aktivitesinin grup içi dağılımı.....	61
Şekil 34.	Katalaz ortalama değerleri.....	64
Şekil 35.	Katalaz aktivitesinin grup içi dağılımı.....	64
Şekil 36.	GPX ortalama değerleri.....	67
Şekil 37.	GPX aktivitesinin grup içi dağılımı.....	67
Şekil 38.	GST ortalama değerleri.....	70
Şekil 39.	GST aktivitesinin grup içi dağılımı.....	70
Şekil 40.	TOS ortalama değerleri.....	73
Şekil 41.	TOS aktivitesinin grup içi dağılımı.....	73
Şekil 42.	TAS ortalama değerleri.....	76
Şekil 43.	TAS aktivitesinin grup içi dağılımı.....	76
Şekil 44.	Serum melatonin ortalama değerleri.....	79
Şekil 45.	Serum melatonin sonuçlarının grup içi dağılımı.....	79

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Egzersiz protokolü uygulaması	31
Resim 2.	Egzersiz protokolü yaptırılan ratlar	32
Resim 3.	Ratlara intraperitoneal melatonin uygulanması.....	33
Resim 4.	Ratlara oral yoldan niasin uygulanması.....	34



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Çalışmada kullanılan cihazlar.....	27
Tablo 2.	Çalışmada kullanılan kimyasallar	28
Tablo 3.	Deney grupları.....	30
Tablo 4.	MDA deney prosedürü	39
Tablo 5.	SOD standart solüsyon dilüsyonları	42
Tablo 6.	SOD deney prosedürü	43
Tablo 7.	GPX aktivite tayini prosedürü.....	45
Tablo 8.	GST enzimatik reaksiyon prosedürü.....	47
Tablo 9.	GST kromojenik reaksiyon prosedürü.....	48
Tablo 10.	TOS deney reaktifleri.....	49
Tablo 11.	TAS deneyinde kullanılan reaktifler.....	51
Tablo 12.	Çalışmada oluşan kilo kaybının bağımlı örneklem t testi sonuçları.....	56
Tablo 13.	Kilo kaybı anlamlı çıkan grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları.....	57
Tablo 14.	Gruplarda bakılan tüm parametrelerin ortalamaları ve standart sapma değerleri.....	57
Tablo 15.	MDA aktivite ortalama ve standart sapma değerleri	59
Tablo 16.	Tukey testi ile gruplar arasındaki MDA aktivite değerleri ortalama farkları ve P değerleri ve %95 güven aralığı.....	59
Tablo 17.	MDA aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların Bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü.....	60
Tablo 18.	SOD aktivite ortalama ve standart sapma değerleri	62
Tablo 19.	Dunnett T3 testi ile gruplar arasındaki SOD aktivite değerleri ortalama farkları ve P değerleri ve %95 güven aralığı.....	62
Tablo 20.	SOD aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü.....	63
Tablo 21.	Katalaz aktivite ortalama ve standart sapma değerleri.....	65
Tablo 22.	Tukey testi ile gruplar arasındaki Katalaz aktivite değerleri ortalama farkları ve P değerleri ve %95 güven aralığı.....	65
Tablo 23.	Katalaz aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların	

	bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü.....	66
Tablo 24.	GPX aktivite ortalama ve standart sapma değerleri.....	68
Tablo 25.	Dunnett T3 testi ile gruplar arasındaki GPX aktivitesi değerleri ortalama farkları, P değerleri ve %95 güven aralığı.....	68
Tablo 26.	GPX aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü.....	69
Tablo 27.	GST aktivite ortalama ve standart sapma değerleri.....	71
Tablo 28.	Tukey HSD testi ile gruplar arasındaki GST aktivite değerleri ortalama farkları, P değerleri ve %95 güven aralığı.....	71
Tablo 29.	GST aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü.....	72
Tablo 30.	TOS ortalama ve standart sapma değerleri.....	74
Tablo 31.	Tukey HSD testi ile gruplar arasındaki TOS değerleri ortalama farkları, P değerleri ve %95 güven aralığı.....	74
Tablo 32.	TOS aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü.....	75
Tablo 33.	TAS ortalama ve standart sapma değerleri.....	77
Tablo 34.	Tukey HSD testi ile gruplar arasındaki TAS aktivite değerleri ortalama farkları, P değerleri ve %95 güven aralığı.....	77
Tablo 35.	TAS aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü.....	78
Tablo 36.	Serum melatonin ortalama ve standart sapma değerleri.....	80
Tablo 37.	Tukey HSD testi ile gruplar arasındaki serum melatonin değerleri ortalama farkları, P değerleri ve %95 güven aralığı.....	80
Tablo 38.	Serum melatonin değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü.....	81
Tablo 39.	Çalışmada analizi yapılan parametrelerin kilo kaybı ile Pearson Korelasyon analizi.....	82

ÖZET

EGZERSİZ YAPTIRILAN RATLARDA MELATONİN VE NİASİN DESTEĞİNİN LİPİT PEROKSİDASYONU VE ANTİOKSİDAN SİSTEMLERE ETKİSİ

Keskin A. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Tıp) Programı Doktora Tezi, Aydın, 2020.

Bu çalışmada, egzersizle oksidatif stres oluşturulan ratlarda, melatonin ve niasin takviyesinin lipit peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine olan etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Rastgele 4 gruba ayrılan 40 rata, kontrol grubu hariç, 10 gün boyunca melatonin ve niasin verildikten sonra treadmill egzersiz yaptırıldı. Ketamin ve Xylazin'le anestezi sonrasında intrakardiyak kan alındı. Süper Oksit Dismutaz (SOD), Malondialdehit(MDA), Total Antioksidan Seviye(TAS), Total Oksidan Seviye(TOS), Katalaz, Melatonin, Glutasyon Peroksidaz(GPX), Glutasyon S-transferaz(GST) düzeylerinin spektrofotometrik olarak tayini yapıldı.

MDA düzeyleri; melatonin verilen grup, diğer gruplara göre düşük, (niasin+melatonin) verilen grupta ise, kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur.

SOD düzeyleri; melatonin verilen grup, diğer gruplara göre yüksek, (niasin+melatonin) verilen grup, diğer gruplara göre düşük bulunmuştur.

Katalaz düzeyleri; melatonin verilen grup, niasin verilen gruplara göre yüksek bulunmuştur. Kontrol grubu ise, diğer gruplara göre anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır.

GPX düzeyleri; kontrol grubu, diğer gruplara göre düşük bulunmuştur.

GST düzeyleri; kontrol grubu, diğer gruplara göre yüksek, (niasin+melatonin) verilen grup, niasin verilen gruba göre düşük bulunmuştur.

TOS düzeyleri; kontrol grubu, niasin verilen gruplara göre düşük bulunmuştur.

TAS düzeyleri; kontrol grubu, diğer gruplara göre düşük, (niasin+melatonin) verilen grup, niasin ve melatonin verilen gruplara göre düşük bulunmuştur.

Sonuç olarak, egzersiz yaptırılan sıçanlara melatonin verilmesinin kontrol grubuna göre, antioksidan aktivitenin (SOD, GPX, TAS, melatonin) artırdığı, niasine oranla daha ağırlıklı bir antioksidan etki gösterdiğini söyleyebiliriz. Sıçanların egzersiz yapması ile artan MDA düzeyleri, melatonin etkisi ile azalmıştır.

Melatonin ve Niasinin birlikte verilmesi, tüm antioksidan parametrelerde sinerjik bir etki yapmamıştır. Oksidasyonu gösteren parametrelerin (MDA, TOS) arttığı, GST, Katalaz ve SOD aktivitelerinin azaldığı saptanmıştır. Bu durum oksidasyonu önlemek amacı ile (daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak) bu enzimlerin kullanıldığını göstermektedir. Farklı antioksidan moleküller ve farklı egzersiz tipleri ile planlanacak çalışmalar gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Egzersiz, Lipit Peroksidasyonu, Melatonin, Niasin.



ABSTRACT

EFFECT OF MELATONIN AND NIACIN ON ANTIOXIDANT SYSTEM AND LIPIT PEROXIDATION AT EXERCISED RATS

Keskin A. Aydin Adnan Menderes University Health Sciences Institute Department of Biochemistry (Medicine), PhD Thesis, Aydin, 2020.

In this study, it was aimed to investigate the effect of melatonin and niacin supplementation on lipid peroxidation and antioxidant system in rats, where oxidative stress was induced by exercise.

Niacin and melatonin were given to forty rats except the control group, which were randomly divided into 4 groups, followed by under went treadmill exercise for 10 days. Intracardiac blood was taken after anesthesia with ketamine and Xylazine. Spectrophotometric determination of Super Oxide Dismutase(SOD), Malondialdehyde(MDA), Total Antioxidant Level(TAS), Total Oxidant Level(TOS), Catalase, Melatonin, Glutathione Peroxidase(GPX), Glutathione S-transferase(GST) levels were performed.

The group given melatonin gave lower MDA concentrations in comparison to other group; however, group given (niacin + melatonin) gave higher MDA levels in comparison to control group.

SOD levels were higher for the group given melatonin in comparison to other group while the group given (niacin + melatonin) gave low SOD levels in comparison to another group.

Catalase levels were higher for the group given melatonin in comparison to group given niacin. On the other hand, in the control group, there was no significant change in comparison to the other groups.

GPX levels: The control group was lower in comparison to the other groups.

GST levels: The control group was higher in comparison to the other groups, and the group given (niacin + melatonin) gave lower levels in comparison to group given niacin.

TOS levels: The control group was found to be lower than the group given niacin.

TAS levels; The control group gave lower levels in comparison to other group, and the group given (niacin + melatonin) gave lower levels in comparison to group given niacin and melatonin.

The results of this study showed that administration of melatonin to exercising rats resulted in increases of the antioxidant activity (SOD, GPX, TAS, melatonin) in comparison to control group, and it triggered more antioxidant effect in comparison to administration of niacin. Increased MDA levels that was increased with exercise of the rats while it decreased thanks to the effect of melatonin.

Co-administration of melatonin and niacin did not have any synergistic effect on all the antioxidant parameters. It was determined that parameters showing that oxidation (MDA, TOS) was increased while GST, Catalase and SOD activities decreased. This shows that these enzymes are used to prevent oxidation, in accordance with previous studies.

Further studies are needed by using different antioxidant molecules and trying different types of exercising models.

Keywords: Antioxidant, Exercise, Lipit Peroxidation, Melatonin, Niacin.

1. GİRİŞ

Son yıllarda egzersiz ile ilgili yapılan çalışmalarda sağlığa yararlı etkisinin yanında, egzersizin tipine ve ağırlık derecesine bağlı olarak oksidan etkilerinin de olduğu bildirilmektedir (Gornicka ve ark, 2016; Pialoux ve ark, 2006; Sousa ve ark, 2017). Düzenli olarak yapılan egzersizin sağlık üzerine olan faydalı etkileri bilinmektedir, ancak periferik dokulardaki moleküler mekanizmaları henüz yeterince incelenmemiştir (Gornicka ve ark, 2016). Egzersizle birlikte O_2 tüketiminin artması, egzersizde serbest radikal oluşumunun en önemli nedeni olarak görülmektedir (Mastorakos ve ark, 2005). Özellikle, yoğun egzersiz ve hipoksinin oksidan stres üzerinde kümülatif etkisi olduğu bildirilmektedir (Pialoux ve ark, 2006). Kontraksiyon yapan iskelet kasının serbest radikaller oluşturduğu, uzun süren ağır egzersizde ise hücresel yapıların oksidatif hasara uğradığı bilinmektedir (Trionfante ve ark, 2017; Granger ve ark, 2015; Alonso ve ark, 2006).

Melatoninin OH^- , H_2O_2 gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir (Brzezinski ve ark, 1997). Ayrıca; melatonin, hücre membranının fosfolipit tabakasının dış yüzeyine tutunarak, radikallerle membrandan önce temas geçerek membranı lipit peroksidasyonuna karşı korumaktadır (Granger ve ark, 2015).

Zorlu egzersiz öncesinde yapılan melatonin takviyesinin oksidatif stres ve inflamasyonun etkilerini azaltarak kas hasarını azalttığı bildirilmiştir (Ochoa ve ark, 2011). Serbest radikal toplayıcı (scavenging) etkisi ortaya konulmuştur (Çimen ve ark, 2017). Melatonin egzersizden önce uygulanması ile ilgili çelişkili yayınlar da mevcuttur; akut egzersiz yaptırılan sıçanlara 1 mg/kg verilmesinin oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir (Alonso ve ark, 2006). Diğer yandan; yoğun egzersiz stresi oluşturulan ratlarda melatonin ve askorbik asidin kaslarda oluşan DNA hasarı ve oksidatif stres üzerine etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada; melatoninin Total Oksidan Seviye ve Total Antioksidan Seviye üzerinde etkisi olmadığı belirlenmiştir (Ağırbaş, 2013).

Melatonin ve niasin sentezinde ilk madde triptofan amino asitidir. Çeşitli bitkisel ve hayvansal kaynaklarda bulunan niasin, B_3 vitamini adı ile de bilinir; canlı hücrelerde önemli metabolik olaylar üstlenen $NAD^+ / NADH$ ve $NADP^+ / NADPH$ öncüsüdür. Bu metabolik kofaktör etkisiyle birçok patolojik süreci önleyebilmede aktif olarak görev alır (Burtis ve ark,

2010). Sporculara verilen enerji içeceklerinin içinde (yeşil çay ekstraktı, C vitamini, E vitamini, Kafein, taurine ve B vitaminleri) niasin de bulunmakta, antioksidan etkisinden söz edilmektedir (MacRae ve Mefferd, 2006). Niasin ile yapılan çalışmalarda, bir çok antioksidan enzimi etkilediği bildirilmektedir, ancak bu konuda çelişkili yayınlar mevcuttur (Faranak ve ark, 2016).

Oksidan durum ve antioksidan kapasite üzerine, gerek melatonin gerek niasin ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde; kökenleri ortak, esansiyel bir amino asitten alan, melatonin ve niasin'in etkilerinin birlikte değerlendirildiği bir makaleye rastlanılmamıştır. Ayrıca antioksidan kapasitelerinin yetersizliği gibi bazı çelişkili yayınlar da mevcuttur. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızın amacı; egzersiz nedeni ile oluşturulan oksidatif strese karşı, aynı amino asitten köken alan melatonin ve niasin takviyelerinin tek başlarına ve birlikte uygulanmasının antioksidan kapasite ve lipid peroksidasyonuna karşı etkilerinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Egzersiz

Performans koruma ve/veya artışı hedefine yönelik olarak lokomotor sistemi ilgilendiren planlanmış hareket süreçlerinin bir program dahilinde ve düzenli şekilde tekrarlanması egzersiz olarak tanımlanmaktadır. İskelet kaslarının kasılması ile oluşan enerjinin üretiminden sonra normal seviyenin üzerinde enerji harcamayı gerektiren bedensel hareketler olarak da ifade edilmektedir (Foss ve Keteyian, 1998). Günümüzde birçok hastalığın tedavisinde kullanılan egzersizin, obezitenin azaltılması, hipergliseminin önlenmesi, kan lipitlerinin, sistemik kan basıncının düşürülmesi gibi metabolik etkilerinin yanında, diyabet hastalığının, kanser ve kalp damar hastalıklarının, birçok hastalığın iyileştirilmesi ve önlenmesinde, ayrıca dengeyi geliştirmesi gibi genel etkileri de bulunmaktadır (Hargreaves, 2001).

2.1.1. Egzersizde Ölçü ve Yoğunluk

Hastalar için düşünülen ilacın, güvenilirlik ve etkinlik açısından uygun doz ayarı yapılması gerektiği gibi, egzersizin süresi ve yoğunluğu için de aynı şekilde uygun bir seviyenin de ayarlanması önemlidir (Lee, 2007). Egzersizde ölçü ve buna karşı verilen cevap ilişkisi ile kardiyopulmoner iyilik hali (fitnes) ve bilişsel (kognitif) iyileşmeler arasındaki pozitif etkiler, yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Vidoni ve ark, 2015). Belli bir seviyeye kadar yapılan egzersiz ile sağlığa olan faydaları arasında pozitif bir korelasyon bulunmaktadır. Bu durumun karşısında, belli bir seviyenin üstünde yapılan egzersizin ise zararı, faydasına göre daha fazladır (Lee, 2007). Vücuda verilen ilaçların aksine, egzersiz için minimum doz, doz cevabı ve maksimum güvenli doz tam olarak anlaşılmamıştır ve her bireyde çok önemli farklılıklar gösterebilmektedir (Lee, 2007). Egzersizin süresi, şekli, ne kadar aralıklarla olduğu, yoğunluğu, günümüzde halen devam eden tartışma konularıdır (Blair ve ark, 2004; Warburton ve ark, 2006; Stacchiotti ve ark, 2020).

Yapılan bazı araştırmalarda, farklı yollarla egzersiz yoğunluğu ölçülmektedir ve bu ölçümlere göre, farklı seviyelere göre farklı sınıflandırmalar yapılmaktadır. Bu farklılıklardan

dolayı, sıklıkla, çalışmalar arası elde edilen bilgileri karşılaştırmak zordur (Lee, 2007). Yıllardır bazı bilim insanları, bulunabilen en iyi bulguların temelinde farklı fiziksel aktivite önerilerini ve tavsiyelerini ön plana çıkarmaktadırlar. Ortak nokta; egzersizin yoğunluk düzeyleri, oksijen tüketimi ya da kalp hızına göre ifade edilebilir olmasıdır (Warburton ve ark, 2006).

2.1.2. Egzersiz Sırasında Kullanılan Enerji Sistemleri

2.1.2.1. Hazır enerji (ATP –Fosfokreatin (PCr) Sistemi = Fosfojen sistem)

ATP-PCr sistemi“alaktik anaerobik sistem" olarak da bilinir. Anaerobik ortamda enerji elde edilen bu kimyasal reaksiyonda yan ürün olarak laktik asit oluşmaz. Enerji, kaslarda hazır olarak bulunan ATP den elde edilir. Kısa süreli yoğun egzersizler sırasında (örn: halter, 100 m kısa mesafe, sprint koşular, 25 m hızlı yüzme, ağırlık kaldırma gibi) hızla, hemen devreye giren enerji transferidir. Kas dokusu içinde bulunan depo ATP ve PCr'den sağlanır. Kısa süreli yoğun egzersizler sırasında (halter, 100 m sprint koşular, 25 m hızlı yüzme, vb.) hızla, hemen devreye giren enerji transferidir. Kas dokusu içinde bulunan depo ATP ve fosfokreatinden sağlanır. Kas dokusu içinde yaşa bağlı olarak kilogram başına kas dokusunda 5-7 mMol ATP ve 17-23 mMol PCr olduğu gösterilmiştir (Scott, 2005).

2.1.2.2. Aerobik enerji oluşumu

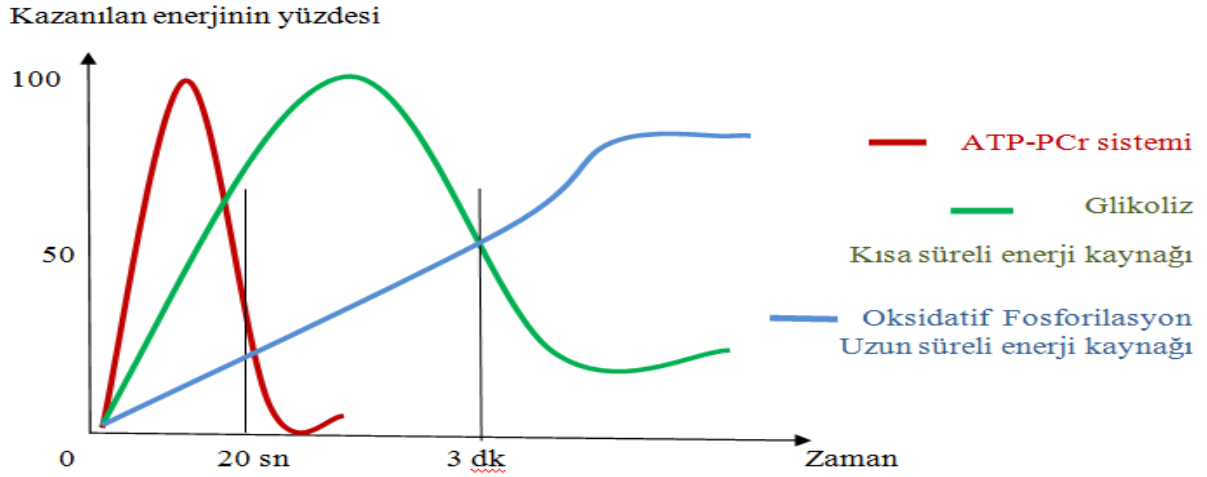
Aerobik enerji, oksijenli ortamda besin maddelerinin su ve karbondioksit kadar parçalanması sonucunda enerji elde edilmesidir (Günay, 2008). Egzersiz için gerekli enerjiyi üretecek düzeyde O₂ vardır. Egzersizle birlikte, glukozun aerobik yıkımının artması ve bu duruma eşlik eden krebs döngüsünde yer alan enzimatik cevabının yeterli olmaması sebebiyle, kan laktik asit düzeyinin önce bir miktar artmasına rağmen, daha sonra cori döngüsü ile belli bir düzeyde kaldığı bilinmektedir. (Astrand ve ark, 1988; Yazıcı, 1997).

Düşük yoğunluklu egzersizde, enerji için genellikle, oksidatif fosforilasyonu içeren aerobik metabolik yollar kullanılır. Egzersiz yapan kaslar tarafından piruvatın tam yıkılması

dolayısıyla, az miktarda laktat oluşturulur. Ancak diğer dokular tarafından yapılan cori döngüsü nedeniyle kan laktat seviyesi yükselmez. Bundan ötürü sabit iş yükündeki egzersiz, yorgunluk olmaksızın uzun süre yapılabilir ve egzersize cevabın fizyolojik parametreleri de bir süre daha değişmez (Kayserilioğlu ve Çavuşoğlu, 2003). Şiddeti zamanla yükselen egzersizde, enerji belli bir yere kadar aerobik mekanizmalar ile temin edilir. Fakat belirli bir seviyeden sonra aerobik metabolik yol yetersiz kalır ve anaerobik metabolik yol enerji üretimine katılır. Anaerobik mekanizmaların devreye girdiği bu teorik noktaya ‘Anaerobik Eşik’ denir. Başka bir ifadeyle, aerobik enerji üretiminin anaerobik mekanizma ile desteklendiği düzeye verilen addır (Astrand ve ark, 1988) .

2.1.2.3. Anerobik enerji oluşumu

Oksijensiz ortamda, glikojenin parçalanması sonucu laktik asit oluşmaktadır. Laktat döngüsü enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (Yıldız, 2012). Anaerobik metabolizmaların olaya katılması ile kas ve arteryel düzeyde kan laktat artışı şeklinde yansır (Astrand ve ark, 1988; Yazıcı, 1997). Yüksek yoğunluklu egzersizde, yeterli miktarda ATP oluşturmak için aerobik ve anaerobik metabolizmanın birlikte işlediği varsayılmaktadır. Bu durumda kan laktat seviyesinde devamlı bir artış tespit edilebilmektedir (Kayserilioğlu ve Çavuşoğlu, 2003). Laktik asit, kaslarda ve kanda yüksek bir yoğunluğa ulaşırsa yorgunluğa yol açmaktadır. Asit ortam, pH’ı düşürmekte ve mitokondrilerdeki bazı enzimlerin aktivitesini engellemektedir. Bu durumun sonucunda ise, karbonhidratların yıkım hızını yavaşlatmaktadır (Yıldız, 2012).



Şekil 1. Egzersizde zamana bağlı enerjinin kullanımı

2.1.3. Egzersizde Oksidatif Stres Oluşumu

Stres; organizmanın normal fizyolojisine ters olan çevresel, besinsel, toplumsal, patolojik ve fizyolojik değişikliklere karşı gösterdiği tepkileri kapsamaktadır. Stres altında bulunan organizmanın homeostatik dengesi bozulur ve organizma her türlü tehlikeye karşı dirençsiz kalır (Seven ve Candan, 1996).

Oksidatif stres ise; oksidan ve antioksidan arasındaki dengesizliğin, oksidanların lehine bozulması, redox sinyal ve kontrolünün bir bozulması ve/veya moleküler zarara neden olabilmesi şeklinde tanımlanmıştır (Jones, 2006).

Egzersiz, süresine ve yoğunluğuna bağlı olarak oksidatif stres düzeyinde bir artışa neden olmaktadır. Yapılan egzersiz devam ettirildiği zaman boyunca artan kas kasılmaları yüzünden, hem oksijen ihtiyacı hem de buna bağlı olarak ihtiyaç duyulan enerji düzeyi de artmaktadır. Enerji ihtiyacının artması, tüketim değerlerini ve sonuçta metabolik aktiviteyi yükseltir. Çok yoğun bir egzersiz programı esnasında tüm vücut, normal istirahat haline göre yaklaşık 20 kat oksijen kullanırken bu oran egzersize katılan kaslarda 200 kata kadar ulaşabilmektedir (Child ve ark, 1998). Bu durum ana enerji yolu olan mitokondrial elektron taşınım zincirinde kaçaklara yol açar ve süper oksit ve hidroksil radikalleri gibi bazı reaktif oksijen türlerinin artmasına yol açar (Aslan ve Şekeroğlu, 1996; Cooper, 2002).

Mitokondrideki kaçak elektron kaybı %5 lere ulaşır (Açıkada ve Ergen, 1990). Sonuç olarak belirli düzeyde artan bir oksidatif stres ortaya çıkar.

Egzersiz sırasında serbest radikalleri artıran nedenler şu şekilde sıralanabilir;

- 1-Egzersiz süresince artmış oksijen tüketiminin serbest radikal üretimine neden olması
- 2-Oksijen kısmi azalmasına bağlı olarak artış gösteren metabolik ara ürünlerin oluşumu,
- 3-İstirahat halindeyken salınımları inaktif olan epinefrin ve katekolaminlerin, egzersizle birlikte oluşan stresle salınımlarının artışı
- 4- Aşırı laktik asit üretimi
- 5-Egzersiz sırasında bazı bölgelerde hipoksi oluşması
- 6-Egzersiz bittikten sonra, kan akımının yeniden başlaması ile tekrar oksijenlenen dokularda reaktif oksijen moleküllerinin artması (Powell ve ark. 2011).

2.2. Serbest Radikaller

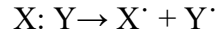
2.2.1. Serbest Radikallerin Tanımı

Atom veya moleküller, yörüngelerindeki elektronlar eşleşmiş ve ters pozisyonda yer aldıklarında kararlı bir yapı gösterirler. Bu kararlı yapı eşleşmemiş elektron bulundurdıkları zaman bozulur. Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin (reaktif) moleküller olarak tanımlanırlar (Cheeseman ve Slater, 1993).

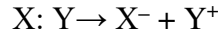
2.2.2. Serbest Radikallerin Oluşumu

Serbest radikaller başlıca üç yolla meydana gelirler (Cheeseman ve Slater, 1993).

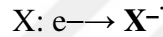
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birinin kalarak homolitik bölünmesi: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır ise, her iki atom üzerinde paylaşılmamış elektron kalır. Sonuç olarak, iki adet reaktivite düzeyi yüksek serbest radikal oluşur. (Cheeseman ve Slater, 1993).



2. Normal bir molekülden bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Askorbik asit, glutatyon (GSH) ve tokoferoller gibi hücrel antioksidanlar radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur (Cheeseman ve Slater, 1993).



3. Normal bir moleküle bir elektronun eklenmesi yoluyla: Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna sebep olur. O₂'in tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan Süper oksit anyon radikali (Süperoksit iyonu) (O₂^{·-}) oluşumuna neden olur (Cheeseman ve Slater, 1993).

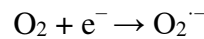


Bu tepkimelerden herhangi biri oluştuğunda, radikal olmayan türler radikal haline gelir. Serbest radikaller ile radikal olmayanların tepkimeleri sonucu, tepkimeye giren moleküller sıra ile serbest radikallere dönüşür ve hasar zincirini ilerleyerek yayılır.

2.2.3. Serbest Oksijen Radikalleri

2.2.3.1. Süper oksit anyon radikali (Süperoksit iyonu) (O₂^{·-})

Hem çevresel etkenler, hem de organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikali, O₂^{·-} 'dir. O₂^{·-}, kimyasal olarak oksijen molekülüne bir elektronun eklenmesi ile oluşur (Halliwell, 1991)



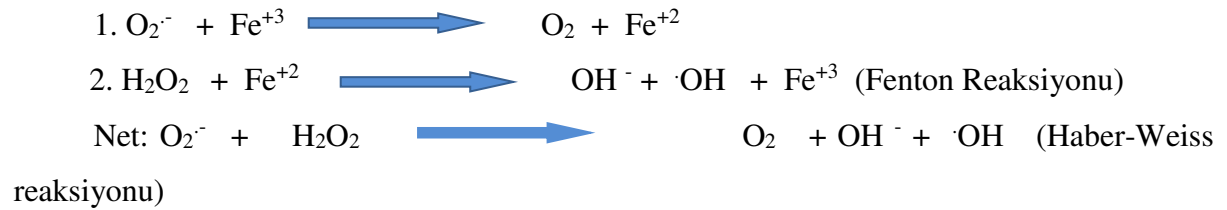
Bu reaksiyon, elektronların mitokondride solunum zincirlerindeki taşıyıcılardan sızması ve direkt olarak oksijene geçmesi ile meydana gelebilir. O₂^{·-} 'in en önemli kaynağı polimorfonüveli lökositler (PMNL) dir. PMNL'lerdeki üretim, membrana bağlı redükte NADPH oksidaz şantı veya heksoz mono fosfat şantının bir sonucudur (Halliwell, 1991).

2.2.3.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

O₂⁻ 'in dismutasyonundan sonra NADPH oksidaz şantından PMNL'ler tarafından üretilir. Biyolojik sistemlerde H₂O₂'nin esas üretimi; O₂⁻ 'in dismutasyonu ile olup, iki O₂⁻ yapılarına iki hidrojen atomu alarak H₂O₂ ve O₂ oluşturlar. Bu reaksiyon süper oksit dismutaz (SOD) adı verilen enzim tarafından katalizlenir (Cheeseman ve Slater, 1993). H₂O₂, birçok fizyolojik fonksiyonu olan zayıf bir oksidandır. Hücre membranları arasında serbest olarak diffüze olabilme yeteneği mevcuttur. H₂O₂, fizyolojik pH ve ısıda, metal iyonları yokluğunda oldukça stabil olması yanında, özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur (Halliwell, 1991). Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında LPO gibi radikalleri başlatabilir. Bu reaksiyona Fenton Reaksiyonu adı verilir (Halliwell ve Gutteridge, 1992). Oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H₂O₂'nin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz yerine getirir (Halliwell, 1991).

2.2.3.3. Hidroksil radikali (OH⁻)

Bilinen en reaktif oksidandır. Yarılanma ömrü çok kısadır. Haber-Weiss reaksiyonu ile veya Fenton reaksiyonu ile H₂O₂'ten meydana gelir (Halliwell ve Gutteridge, 1992).



Şekil 2. Hidroksil radikalının oluşumu

2.2.3.4. Hipokloröz Asit (HOCl)

Enzimatik olarak, nötrofiller tarafından üretilen, güçlü bir oksidandır. Fagositik hücrelerce bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller HOCl'i üretirler. Özellikle H₂O₂ üzerine myeloperoksidaz'ın etkisi ile nötrofillerde oluşur. Hücre dışına salınan antibakteriyel bir ajandır. Ancak çok düşük konsantrasyonlarda bile belirli protein fonksiyonlarını bozabilme yeteneğindedir. Yüksek konsantrasyonlarda hücre lizisi oluşturabilir. Alfa1-antitripsini okside ve nötrofil kollajenazını aktive etme yeteneğinde olan HOCl, temizleyici antioksidanlar olan albümin ve askorbik asit ile uzaklaştırılır (Southorn ve Powis, 1988).

2.2.3.5. Singlet oksijen

Gerçek bir radikal değildir ve eşleşmemiş elektron içermez. Diğer reaktif oksijen türleri ile karşılaştırıldığında oldukça zararsızdır. Oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünden ters yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi ile oluşabileceği gibi, O₂⁻ 'nin dismutasyonu ve H₂O₂'in HOCl ile reaksiyonu sonucunda da meydana gelebilir (Foote ve ark 1984).



2.2.4. Reaktif Nitrojen Radikalleri

Yapılarında +1 den +5 'e kadar değişen, farklı oksidasyon durumlarında nitrojen atomu bulunduran moleküllere reaktif nitrojen türleri denir.

2.2.4.1. Nitrik oksit (NO)

Nitrik oksit hem nöronal hem de endotelial fizyopatolojide önemli rol oynamamaktadır. NO, bağışıklık sisteminin düzenlenmesi, düz kas gevşemesi, vazodilatasyon ve

nörotransmisyonu gibi birçok fizyolojik süreçte görev alan çok reaktif bir radikaldir (Archer, 1993, Alderton ve ark, 2001). Yarı ömrü 10-20 sn'dir. Nitrik oksit sentaz (NOS) adı verilen enzim tarafından L-argininin guanido nitrojeninden oluşmaktadır. Bu reaksiyonda O_2 ve NADPH gereklidir. NOS enziminin iki ana formu vardır.



Şekil 3. Nitrik oksit oluşumu

1-İndüklenebilen (iNOS)

2-Yapısal (cNOS).

Nöronal (nNOS)

Endotelial (eNOS)

2.2.4.2 Peroksinitrit ($ONOO^-$)

NO 'nun $O_2^{\cdot -}$ ile invivo reaksiyonu sonucunda oluşan sitotoksik bir türevidir (Yaman ve ark, 2000). Hücrede SOD normalde oluşan tüm süperoksiti dismutasyona uğratmaya yetecek düzeydedir fakat, süperoksit düzeyi çok artmışsa ya da çok fazla NO radikali meydana gelmişse, peroksinitrit oluşur (Kayalı ve Çakatay, 2004, Radi 1991). Peroksinitrit güçlü bir oksidandır. Tiyoller ve askorbatın oksidasyonu dışında alfa-tokoferol harcanmasını artırır. Sonuç olarak oksidan dengesini oksidanları artırarak ve antioksidanları azaltarak bozmaktadır (Kayalı ve Çakatay, 2004, Radi 1991).

2.2.4.3 Nitrotirozin (3-NT)

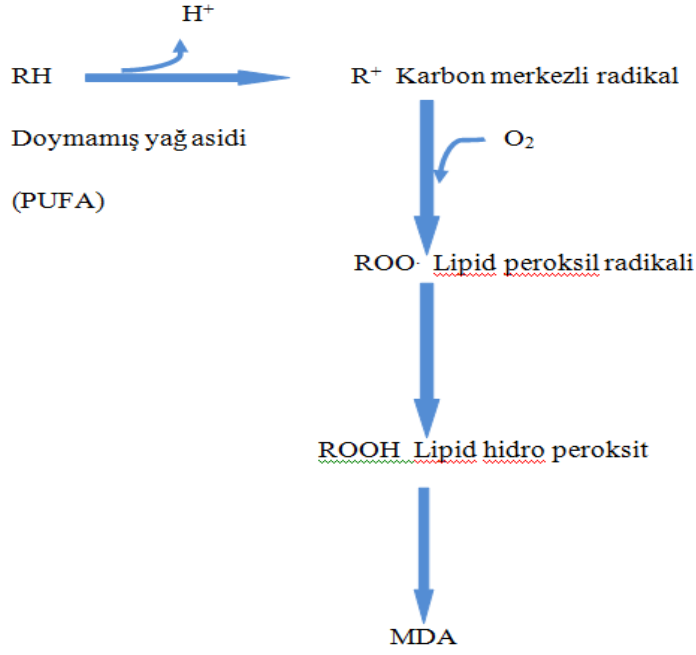
Tirozin artıklarının peroksinitrit ile aromatik yan zincir üzerinden nitratlanabileceği, ilk defa Ischiropoulos ve ark (Murphy ve ark, 1998, Kumral ve ark, 2005) tarafından

gösterilmiştir. 3-NT, peroksinitrit tutulumunun bir indeksi olarak kullanılabilir (Yaman ve ark, 2000).

2.3. Lipit Peroksidasyonu

Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) iki ya da daha fazla karbon- karbon çift bağları içerirler. Çoklu doymamış yağ asitleri bu yapılarının, oksidatif olarak bozulmasına lipit peroksidasyonu denir (Gülyazar, 2003).

Hücre membranında yer alan fosfolipitlerdeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve bunun sonucunda hücre membranının yapısını değişimine neden olarak, hücrenin membran fonksiyonlarını bozan kimyasal bir olaydır (Dormandy, 1983; Halliwell ve Chirico, 1993; Hruskewvyez, 1992). Lipit peroksidasyonu artışı, serbest radikal aktivasyonunun indirek bir göstergesidir (Nakazawa, 1996; Teixeira, 1996). Hücre membranların yapısında bulunan PUFA, reaktif oksijen türlerine karşı oldukça hassastırlar (Azzi ve Stocker, 2000). Lipit peroksidasyonu birbirini takip eden zincirleme reaksiyonlar şeklinde oluşur. Oksidatif stresde meydana gelen bir serbest radikalın etkisi ile hücre membran yapısında yer alan doymamış yağ asidi zincirlerinden bir hidrojen atomu ayrılmasıyla başlar. Bu durumun neticesinde yağ asidi zinciri bir lipit radikali niteliği kazanır. Meydana gelen lipit radikali, kararsız bir yapıdadır ve bir an önce değişikliğe uğrama eğilimindedir. Bunun sonucunda bir dizi değişikliklerle, lipit peroksidasyonu ile oluşan hücre membran hasarı geri dönüşümsüz hale dönüşür. En önemli peroksidasyon ürünü malondialdehittir(MDA) (Moslen, 1994; Akkuş, 1995)



Şekil 4. MDA Oluşumu

2.4. Antioksidan Sistem

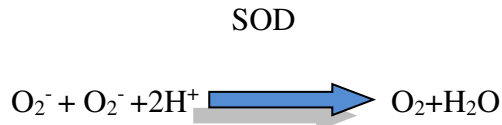
Hücre içinde veya dışında oluşan oksidatif hasarın verebileceği zararı engelleyen veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Oksidanları inaktif hale getiren bu mekanizmalarda aktif rol alan maddelere antioksidanlar adı verilmektedir (Onat ve ark, 2006).

Enzimler, oksidanları tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürür. Vitaminler ve flavanoidler gibi bileşikler, oksidanlara bir hidrojen aktararak onları etkisiz hale getirir. Seruloplazmin gibi ağır metalleri bağlayarak oksidanların fonksiyonlarını engelleyenler de vardır. Oksidanların oluşturduğu hasarı onaran antioksidanlar da vardır (Onat ve ark, 2006).

2.4.1 Antioksidan Sistemde Bulunan Enzimler

2.4.1.1 Süper oksit dismutaz (SOD)

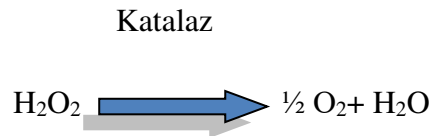
Hücrede oksijenin reaktif ve toksik ürünlerine karşı doğrudan koruyucu fonksiyon gören en önemli enzim SOD'dur. Bu enzim iki süper oksit radikali arasındaki dismutasyon tepkimesini katalizler (Wheeler ve ark, 1990).



Şekil 5. SOD'un etki ettiği kimyasal reaksiyon

2.4.1.2. Katalaz

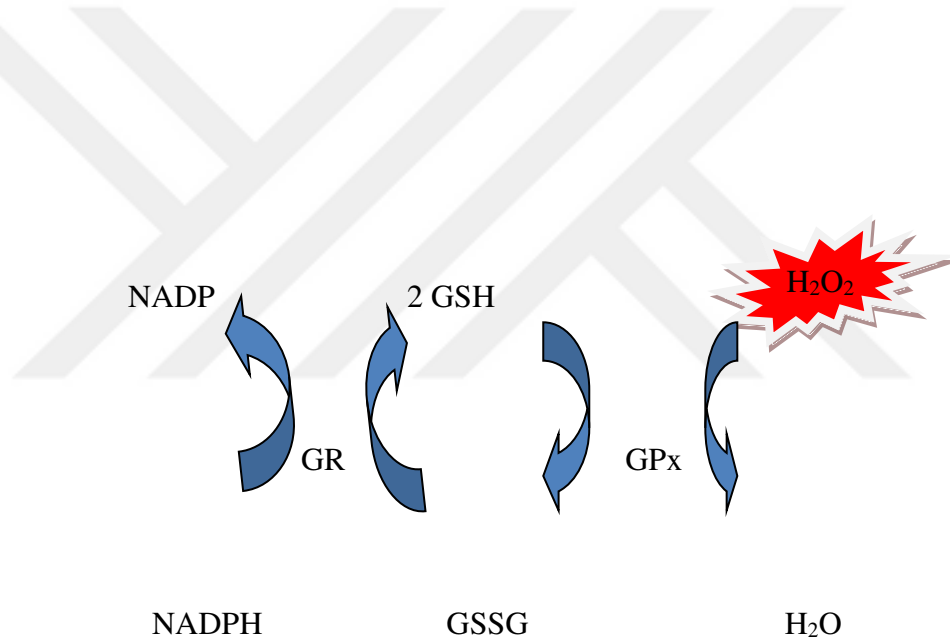
Oksiredüktaz, sınıfında yer alan Katalaz, SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksidin moleküler oksijene ve suya ayrışmasını katalize eden ve hidrojen peroksidin radikal tiplere dönüşmesini ve hücresel bileşenlere zarar vermesini önleyen antioksidan enzimlerden biridir (Aydemir ve Kuru, 2003).



Şekil 6. Katalazın etki ettiği kimyasal reaksiyon

2.4.1.3 Glutatyon Peroksidaz ve Glutatyon Redüktaz

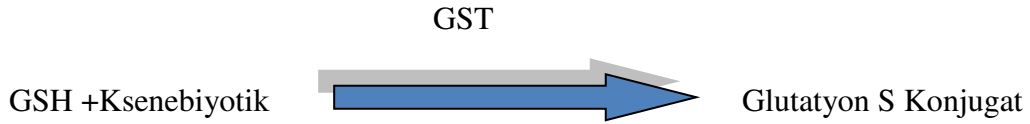
Glutatyon peroksidaz (GPx) selenyum içeren tetramerik bir enzim olup bir hidrojen vericisi olarak glutatyonu kullanarak lipoperoksitleri ve hidroperoksitleri azaltır (Sies ve ark, 1997). GPx'in katalizlediği reaksiyon, redükte glutatyonu okside glutayona çevrilmesidir. Bu reaksiyon ile SOD tarafından oluşan H_2O_2 kullanılmaktadır. Redükte glutatyonun okside glutatyaona çevrilmesi reaksiyonu çift yönlü bir reaksiyondur (Halliwell, 1986). Okside glutatyonun redükte glutatyaona çevrilmesi ise glutatyon redüktaz enzimi tarafından katalizlenmektedir. Glutayon redüktaz (GR) enzimi bu katalizleme reaksiyonunda koenzim olarak NADPH kullanılmaktadır (Orlowski ve Karkowsky, 1976). NADPH oluşum süreci niasin'in aktif formu olan nikotin amid ile başlamaktadır (DiMartino ve Pallotta 2011).



Şekil 7. Glutatyon Peroksidaz ve Glutatyon Redüktaz katalitik döngüsü

2.4.1.4 Glutatyon S-Transferaz

Glutatyon S-transferazlar (GST), ksenebiyotik bileşiklerin glutatyon ile etkileşimlerini sağlayarak, hücrel makro molekülleri reaktif elektrofollere karşı koruyan Faz-II detoksifikasyon enzim ailesi üyesidir (Hayes, 2005).

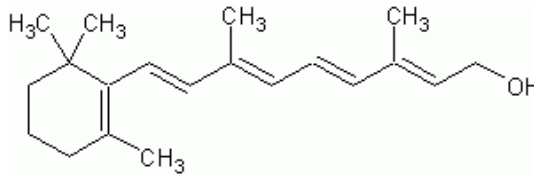


Şekil 8. GST'nin etki ettiği kimyasal reaksiyon

2.5. Enzim Olmayan Antiksidanlar

2.5.1. Vitamin A

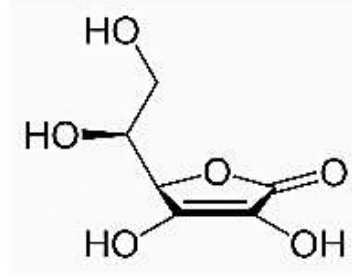
Bir antioksidan olan beta-karoten, konjuge alkil yapısı taşıyan serbest organik peroksit radikallerinin ortadan kaldırılmasında etkilidir. Düşük oksijen kısmi basıncında beta-karoten, peroksit radikallerinin dokularda tutulmasından sorumludur (Malone, 1991).



Şekil 9. Vitamin A molekül yapısı (<https://www.nkfu.com/tum-vitaminlerin-kimyasal-yapisi-ve-formulleri>)

2.5.2. Vitamin C

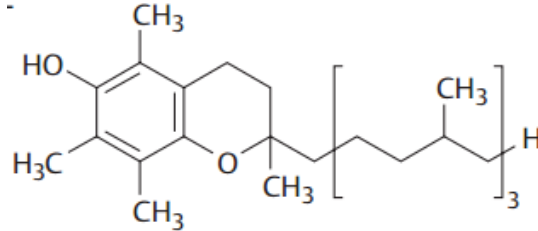
Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. $O_2^{\cdot -}$ ve $OH^{\cdot}$ ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Tokoferoksil radikalının alfa-tokoferol'e redüklenmesini sağlar (Carr ve ark 2000).



Şekil 10. Vitamin C molekül yapısı (<https://www.nkfu.com/tum-vitaminlerin-kimyasal-yapisi-ve-formulleri>)

2.5.3. Vitamin E

Membranlarda ve lipoproteinlerde zincirleme LPO'yu engelleyen esas antioksidandır. Reaksiyon bir peroksi radikali ile tokoferolün, organik bir hidroperoksit ve tokoferil radikali meydana getirmesi ile sonuçlanır (Halliwell ve Gutteridge,1990).



Şekil 11. Vitamin E molekül yapısı (<https://www.nkfu.com/tum-vitaminlerin-kimyasal-yapisi-ve-formulleri>)

2.5.4. Eritropoietin (EPO)

Eritropoietin (EPO), eritropoezi regüle eden 30,4 kDA ağırlığında bir glikoproteindir. Hücre canlılığını arttırıcı sinyalleri modüle eden antiapoptotik, anti-oksidan, anti-inflamatuvar ve kalsiyum ile glutamat metabolizmaları üzerine düzenleyici etkilerinin, nöroprotektif etkisine aracılık edebileceği düşünülmektedir (Maiese ve ark, 2004).

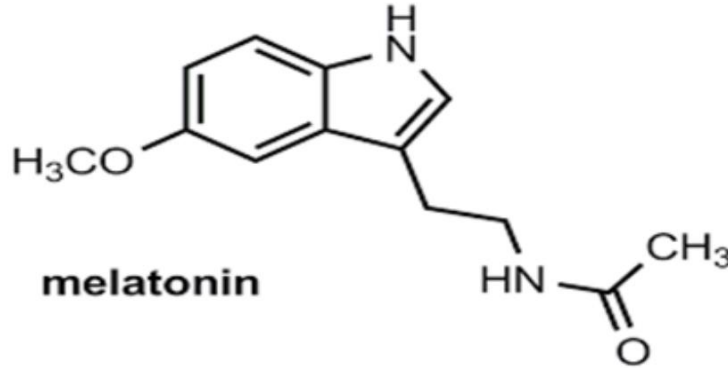


Şekil 12. EPO'nun hipoksi durumunda olan etkisi

(https://www.researchgate.net/figure/Erythropoietin-EPO-is-required-for-red-blood-cell-production-EPO-is-produced-in-the_fig1_263015805)

2.6. Melatonin

Melatonin, karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur (Yazıcı ve Köse 2004).

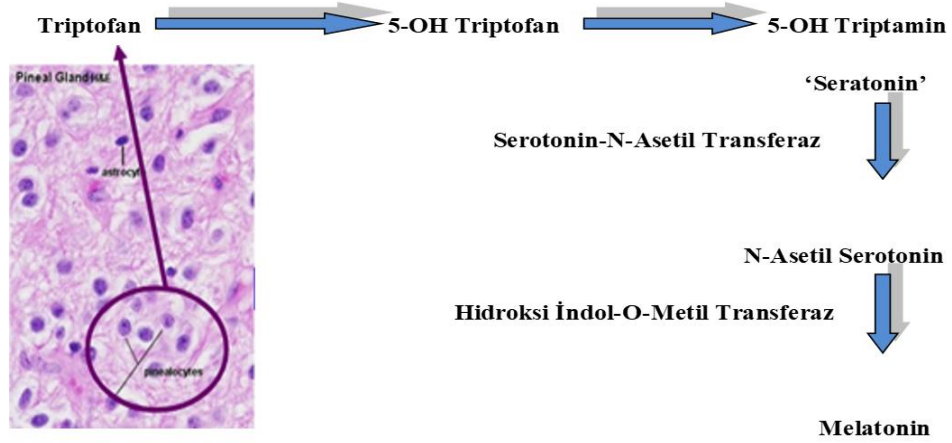


Şekil 13. Melatonin molekül yapısı (<https://inovatifkimyadergisi.com/karanligin-hormonu-melatonin>)

2.6.1. Melatonin Sentezi

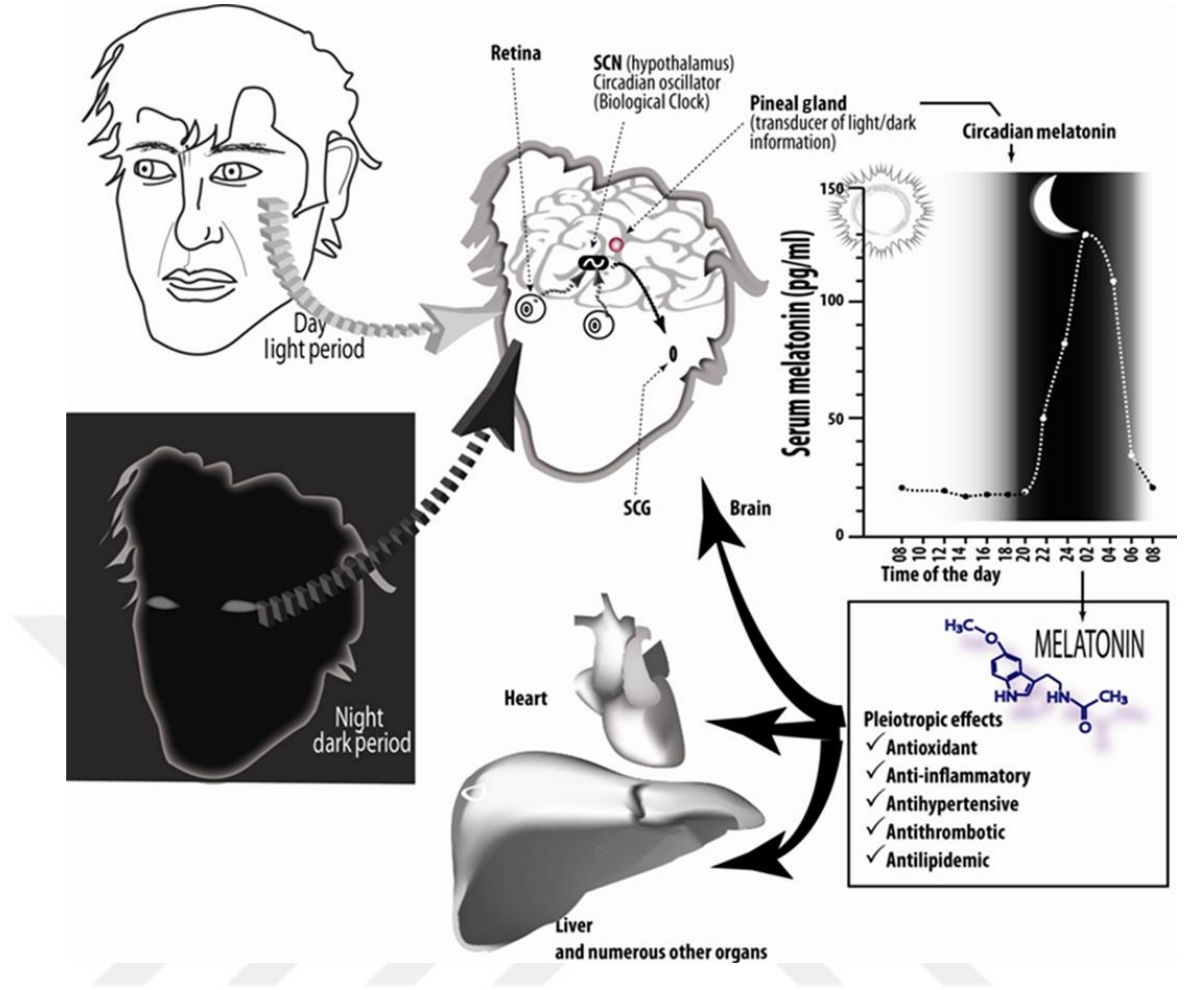
Dolaşımdaki triptofanın aktif transportla pinealosit içine alınmasıyla başlayan Melatonin sentezi, dört ardışık enzimatik reaksiyon sonucunda tamamlanır: İlk aşamada hidroksilasyon reaksiyonuyla oluşan 5-OH triptofan, dekarboksilasyonla serotonine

dönüşmekte ve daha sonra sırasıyla N-asetilasyon ve O-metilasyon reaksiyonlarıyla, serotonininden Melatonin (5-metoksi-N-asetiltriptamin) oluşmaktadır (Reiter, 1991; Sugden, 1989). Melatonin sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan N-asetiltransferaz (NAT) aktivitesi, cAMP etkisiyle yükselmekte ve böylece sentezlenen ve salgılanan Melatonin miktarı artmaktadır (Reiter, 1993).



Şekil 14. Melatonin sentezi

Melatonin sentezi sirkadyen ritim gösterir. Aydınlıkta hiperpolarize olan retinal hücreler, karanlıkla beraber depolarize olarak, beze Melatonin sentezini başlatırlar. Gün batımıyla fotoreseptör hücrelerden salgılanan norepinefrin, hem triptofanın dolaşımdan beze girişini artırmakta ve hem de B1 reseptörleri aracılığıyla membrandaki adenil siklazı aktive ederek, intraselüler cAMP seviyelerini yükseltmektedir (Arendt, 1988).



Şekil 15. Melatoninin Sirkadyen Salınımı (Reiter ve ark, 2016)

2.6.1. Melatoninin Antioksidan Etkisi

Melatonin, oksidatif stresi azaltmada etkilidir. Bu işlemi çeşitli yollarla gerçekleştirir: reaktif oksijen ve reaktif azot türlerinin doğrudan detoksifikasyonu ve dolaylı olarak, pro-oksidan enzimlerin aktivitesini bastırırken, antioksidan enzimleri uyararak. Bu iyi tanımlanmış eylemlere ek olarak, Melatonin'in ayrıca Fenton / Haber – Weiss reaksiyonlarında yer alan geçiş metallerini şelatladığı; bu şekilde melatonin, oksidatif stresin azalmasına neden olan yıkıcı toksik hidroksil radikalının oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (Reiter ve ark, 2016).

Melatoninin antioksidan özelliği in vitro (Poeggeler ve ark, 1994) ve in vivo (Marshall ve ark, 1996) çalışmalarla gösterilmiştir. Melatonin, yapısında yer alan pirol halkası

nedeniyle, O_2 ve OH^- radikallerini yakalamada yüksek bir kapasiteye sahiptir. Toksik hidroksil radikalleri ile reaksiyona girerek, hücrenin bütün kompartmanlarındaki biyomolekülleri, serbest radikal oluşumuna karşı korur. Melatonin, çok reaktif olan hidroksil radikallerinin yıkıcı özelliklerine karşı birincil nonenzimatik savunma mekanizmasını oluşturur ve organizmayı oksidatif hasara karşı korumada, bilinen diğer antioksidanlardan (mannitol, glutatyon, E vitamini, askorbik asit gibi) daha etkili olduğu gösterilmiştir (Reiter ve ark, 1997). Askorbik asit (C vitamini), alfa tokoferol (E vitamini) ve glutatyon (GSH) gibi antioksidanlardan farklı olarak, melatonin peroksid radikalini yakalayarak, yayılmakta olan lipid peroksidasyonunu sonlandırmaktadır. Melatoninin bu etkilerinin diğer antioksidanlardan daha güçlü olduğu, in vitro (Poeggeler ve ark, 1994) ve in vivo (Marshall ve ark, 1996) çalışmalarda gösterilmiştir. Melatoninin bir radikal temizleyici olarak hareket ettiği ve ultraviyole nedeni eritemin neden olduğu hasara karşı koruyucu potansiyeli, her iki gözü de kör insanlar üzerinde yapılan bir randomize çalışmada gösterilmiştir. Melatonin, E vitamini ve C vitamini ile birlikte uygulandığında, yalnız başına uygulandığından daha iyi koruma elde edilmiştir (Uwe, 2002). Melatonin direkt antioksidan etkilerinin yanı sıra, dolaylı olarak da antioksidan sisteme katkıda bulunur. Sıçanlarda karaciğer, böbrek ve beyin dokusu glutatyon peroksidaz aktivitesinin, melatonin uygulandıktan sonra arttığı gözlenmiştir. Pinealektomi yapılan sıçanların karaciğer, akciğer ve beyin dokusunda, glutatyon peroksidaz aktivitesinde anlamlı düşüşler saptanmıştır (Reiter ve ark, 1997).

1993 yılında antioksidan özelliği ortaya çıkarılan melatonin, lipofilik özelliğinden dolayı organizmada çok geniş alanda antioksidan etki gösterebilmektedir (Tan ve ark, 1993). Melatonin, kan-beyin bariyerini rahatlıkla geçebilir, hücrelerin çekirdekleri dahil tüm organellerine ulaşabilir. Bu özellik, dejeneratif ya da proliferatif değişikliklere neden olan hastalıklara karşı makromoleküllerin ve özellikle DNA'nın oksidatif hasardan korunmasında melatonine bir üstünlük kazandırmaktadır. Ancak bu antioksidan etkiler, melatoninin gece ulaştığı doruk değerlerin çok üstündeki değerlerde görülür. Melatoninin bu bağlamda başka bir üstünlüğü, diğer bazı antioksidanların aksine, çok yüksek dozlarda (300mg/gün) ve uzun süre (5 yıl) kullanımda bile toksik etkisinin görülmemesidir (Jacob ve ark, 2002). Son yıllarda melatoninin doğrudan serbest radikalleri temizleme özelliğinin yanı sıra, eksojen melatonin verilmesinin, önemli bir antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz aktivitesini de artırdığı gösterilmiştir (Reiter ve ark, 1997). Ayrıca melatoninin birçok fizyolojik ve fizyopatolojik olayda rol alan önemli bir molekül olan nitrik oksit (NO)'ın, sentezi ve dolaşımdaki miktarı üzerine etkilerini inceleyen birçok çalışma yapılmıştır. NO'nun fizyolojik etkisi; çözünebilir

guanilat siklazın cGMP oluşturmak üzere aktive olmasıyla gerçekleşmektedir. Melatonin düzeyinin azalması birçok dokuda guanilat siklaz aktivitesinin azalmasına neden olur. Bunun sonucu olarak cGMP düzeyi azalır, cAMP düzeyi artar. Böylece hücre membran kalınlığı ve rijiditesi artarak dejeneratif hasar oluşumu hızlanır. Yaşlanma sürecinin incelenmesi sırasında ortaya çıkan bu özelliği melatoninin, nitrik oksit sentaz enziminin aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesine neden olmuş ve bu çalışmalar sonucunda melatoninin aynı zamanda oldukça etkili bir nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olduğu bulunmuştur (Pieri ve ark, 1994). NO ile melatonin arasındaki ilişki incelendiğinde, melatoninin NO ile nitrosomelatonin oluşturmak üzere reaksiyona girdiği (Pozo ve ark 1994) ve O₂ varlığında NO ile O₂'nin reaksiyona girmesi sonucu oluşan peroksinitrit anyonunun da melatonin tarafından tutulduğu ileri sürülmüştür (Blanchard ve ark 2000). Melatoninin gerek doğrudan gerekse dolaylı yollarla oksidatif hasara karşı koruyucu etkilerinin bulunması kardiyovasküler hastalıklar, kanser, ateroskleroz, sepsis gibi oksidatif hasarın rol oynadığı patolojik olaylardaki öneminin gün geçtikçe artmasına neden olmaktadır.

2.6.2. Egzersizde Melatoninin Antioksidan Etkisi

Melatoninin egzersiz ile ilişkisine dair insanlar üzerinde ve deneysel pek çok çalışma yapılmıştır. Yetişkin erkeklerle yapılan bir çalışmada, egzersiz yapılmadan önce, uygulanan melatonin takviyesinin oksidatif stres ve inflamasyonun etkilerini azaltarak kas hasarını azalttığı bildirilmiştir (Ochoa ve ark, 2011). Ratlarla yapılan başka bir çalışmada ise, koşu bandında egzersiz yapılmadan 30 dakika önce kg başına 1 mg olacak şekilde verilen melatonin takviyesinin kaslarda akut egzersiz nedeniyle oluşan oksidatif strese karşı melatoninin potansiyel koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Alonso ve ark 2006). Yine benzer bir çalışmada, melatoninin, sıçanlardaki yüzme egzersizinin yol açtığı oksidatif strese karşı -özellikle kas dokusunda-, kısmi koruma sağladığı belirtilmiştir (Hara ve ark 1996).

Ratlara melatonin ve askorbik asit takviyesi sonrası yoğun bir egzersiz uygulanan başka bir çalışmada ise; egzersizin TOS (Total Oksidan Seviye) değerlerini artırdığı ancak askorbik asidin bunu düşürdüğü saptanmıştır. Egzersiz öncesi uygulanan askorbik asidin TAS (Total Antioksidan Seviye)'ı artırdığı belirtilmiştir. Ancak melatoninden sonra uygulanan egzersizin TOS ve TAS seviyelerine etkisinin olmadığı egzersizin hem tek başına hem de melatonin takviyesiyle DNA hasarını artırdığı belirlenmiştir (Ağırbaş, 2013).

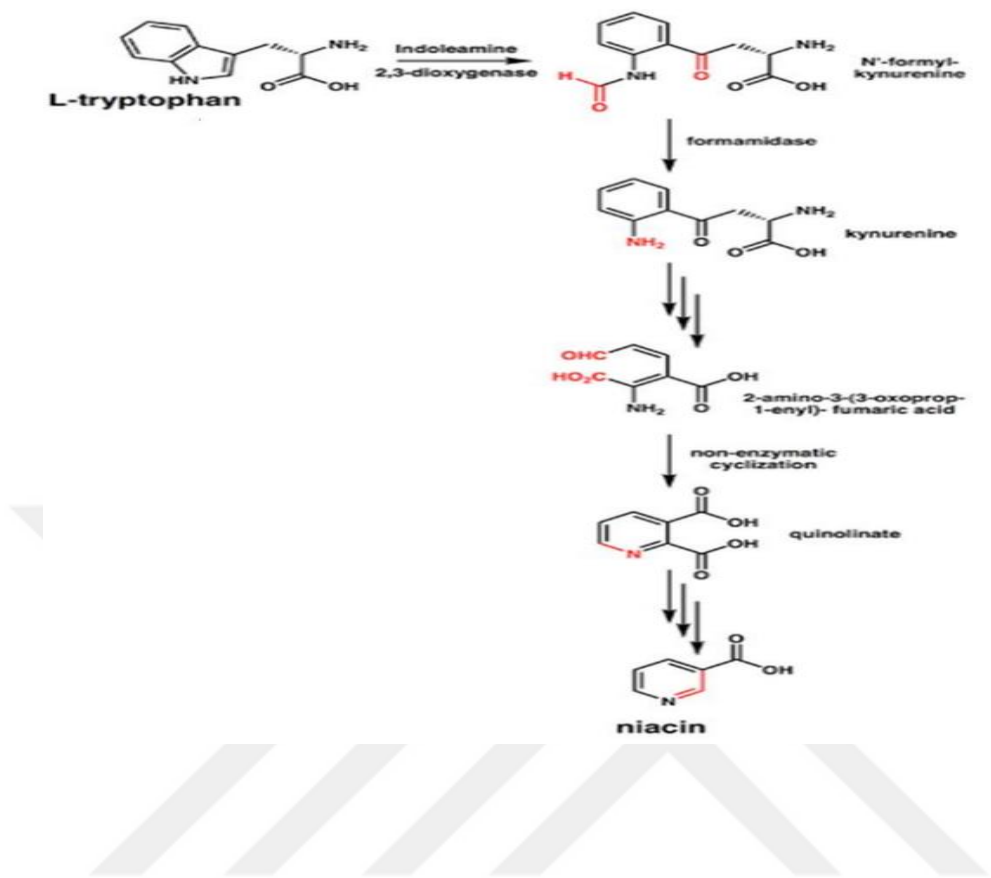
2.7. Niasin

Nikotinik asit veya B₃ vitamini olarak adlandırılan niasin suda çözünen bir vitamindir. Türevleri olan NADH, NADPH, NAD ve NADP hücrelerde enerji metabolizması, nükleik asit, protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasında gereksinim duyulan zorunlu bir vitamindir (Bogan ve Brenner, 2008) .

2.7.1. Niasin Sentezi

Niasin sentezi, vücutta iki şekilde yapılır.

1. Bağırsak florasındaki bakteriler niasin sentez eder ve buradan absorbe edilerek yararlanılır
2. Karaciğerde L-triptofandan sentezlenir. Vücuttaki miktarı mg olarak nikotinik asit(mg) + nikotinamid(mg) + 1/60 triptofan(mg) şeklinde belirtilir. Triptofanı diyetle günlük en az 600 mg aldığımızda 10 mg civarında niasin elde ederiz. Bu yüzden, besinsel açıdan triptofandan niasin sentezi çok önemlidir. Quinolinik asit, triptofan-niasin yolağının önemli bir ara ürünüdür (Fukuwatari ve ark, 2004).



Şekil 16. Triptofandan Niasin biyosentezi

(<http://tip.baskent.edu.tr/kw/upload/464/dosyalar/cg/sempozyum/ogrsmmpzsnm14/14.P5.pdf>)

2.7.2. Niasin Vitamininin Özellikleri ve Önemi

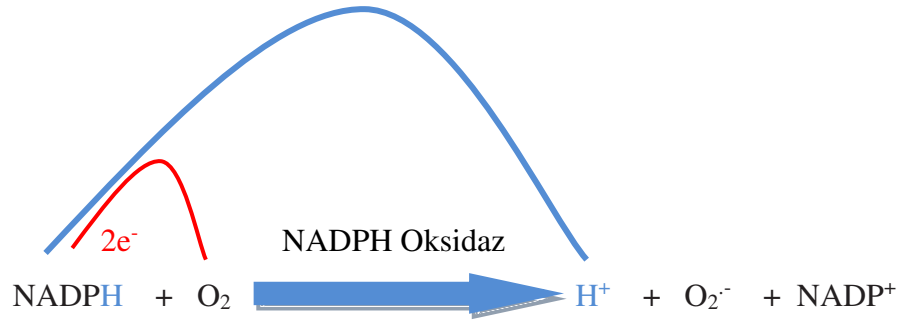
Nikotinik asit, yağlar, proteinler ve karbonhidratların sentezlenmesi ve parçalanmasında görev alan bazı hidrojen taşıyıcı enzimlerin koenzimi olarak önemli role sahiptir. Bu rol, enerji metabolizması ile ilişkilidir. Niasin, dokularda çok sayıda hücresel işlemde yer alan NAD ve NADP'ye dönüştürülür. NAD, enerji metabolizmasında (redoks reaksiyonları), mono- ve poli- (ADP-riboz) polimerazlarda protein modifikasyonunda sentezi için gereklidir (Kirkland ve Rawling, 2001). Sinir sistemi veya beyin fonksiyonları, sindirim sistemi, cilt sağlığının korunması, kan şekerinin dengelenmesi, kolesterol düzeyinin düşürülmesi ve enerji metabolizmasında gerekli vitaminlerdendir. (Güler, 2018)

2.7.3. Niasin Takviyesi ve Eksikliği

Young ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, Niasin takviyesi verilen grupta, NAD düzeylerinde bir artış gösterilmiştir (Young ve ark, 2007). Kumes hindileri ile yapılan başka bir çalışmada ise; niasin takviyeli yem alımı ile, serum ALT, ALP, LDL, trigliserit ve kolesterol içeriğini azalttığı, metabolize edilebilir enerjiyi ve HDL konsantrasyonunu arttırdığı gözlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca niasin takviyesinin, vücut ağırlığı artışından ödün vermeden yağ içeriğini azaltabilir ve stresi artırabilir sonucuna ulaşılmıştır (Adebowale ve ark 2019). Yüksek dozlarda alınan niasin, düzensiz kalp çalışması, karaciğer harabiyeti, mevcut bazı hastalıkların şiddetlenmesi ve kısa sürede düzelebilen yüzde ve ciltte kızarma, yanma ve kaşıntı oluşturabilir. Diyetle niasin ve triptofan eksikliğinde pellegra hastalığı oluşabilir. Sinir sistemi ve sindirim sistemi rahatsızlıkları, özellikle güneş gören kısımlarda cilt lezyonları, depresyon gibi belirtilerle kendini gösteren bir hastalıktır. Bunun yanında nikotinik asit eksikliğinde gençlerde büyümenin durması, kansızlık, sinir sistemi (dalgınlık, halisülasyonlar görme, depresyon), sindirim sistemi ve çeşitli cilt rahatsızlıkları görülebilir (Güler, 2018).

2.7.4. Niasinin Oksidan-Antioksidan Sistemde Olan Rolü

Niasin hücrenin redox reaksiyonlarında kritik bir rol oynayan ve nihayetinde bir enzimatik kofaktör olarak, antioksidatif etkiler gösteren moleküller için öncü önemli bir vitamindir. Niasin türevleri NADH ve NADPH hücredeki birçok antioksidan enzim ile birlikte etkili olurlar. Bu süreçte sırasıyla NAD^+ ve NADP^+ 'yi oluştururlar (Sauve, 2008). NAD(P)H 'ın antioksidan sisteme dolaylı etkisinin yanında direkt etkisinin olup olmadığı yönünde yapılan bir çalışmada ise; NAD(P)H 'nin mitokondriyal kompartımandaki büyük önemi göz önünde bulundurularak doğrudan belirleyici bir antioksidanı temsil ettiği önerilmektedir. NAD(P)H 'ın, hem toksik serbest radikalleri temizleyerek hem de biyomolekül türevli radikalleri onararak bu görevi yerine getirdiğini belirtilmiştir (Kirsch ve Groot, 2001). Bununla birlikte NADH 'ın, hidrofilik olmasına rağmen, lipid peroksidasyonunu engellediği belirtilmiştir (Olek ve ark, 2004). Diğer bir taraftan ise; Makrofajlar ve monositleri içeren fagosit hücrelerde O_2 alımının artması ile aktivitesi artan NADPH oksidaz, bu oksijeni süper oksit anyon radikaline ($\text{O}_2^{\cdot-}$) dönüştürerek ekstraselüler sıvılardaki $\text{O}_2^{\cdot-}$ miktarını artırmaktadır (Duthie, 1989).



Şekil 17. NADPH tarafından Süper oksit anyon radikali (Süperoksit iyonu) ($\text{O}_2^{\cdot -}$) oluşması

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Cihazlar

Tablo 1. Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Markası
Treadmill Koşu Bandı	Dynamic 503
Hassas Tartı	Adam Equipment Nimbus Nbl 214e
Tartı	SCALTEC SBC 31
Buzdolabı	Kern Pfb
Buzdolabı	Arçelik
Buzdolabı	Ariston
Santrifüj Cihazı	Hettich Universal 32 R D78532
-80 Derin Dondurucu	Nunre Nu 661w35
Spektrofotometre	Shimadzu Uv-1700
Spektrofotometre	Biotek Epoch
Eppendorf Santrifüj Cihazı	Eppendorf 5415r Refrigerated Centrifuge
Vorteks Mikser	Isolab
Su banyosu cihazı	nuve nb20
pH metre	Mettler toledo

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tablo 2. Çalışmada kullanılan kimyasallar

Ürün Adı	Marka
Melatonin, Powder, $\geq 98\%$ (Tlc) 1gr	Sigma-Aldrich
Niacin (Nicotinic Acid), $\geq 98\%$ 100gr	Sigma-Aldrich
Glutathione-S-Transferase (Gsh-St) Colorimetric Assay Kit 100 Assay	Elabscience
Tas Assay Kit (Universal) 100 Test	Rel Assay
Tos Assay Kit (Universal) 100 Test	Rel Assay
Rat Mt(Melatonin) Elisa Kit 96 Test	Elabscience
Anestezik Madde	Ketamin
Anestezik Madde	Xylazin
Sodium Phosphate Dibasic Dihydrate, 1kg	Isolab
Potassium Phosphate Monobasic	Isolab
Hydrogen Peroxide 35% , 1lt	Isolab
% 0.9 İzotonik Sodyum Klorür Çözeltisi, 1lt	Deva
Trichloroacetic Acid For Analysis 100g	Merck
Tert-Butyl Hydroperoxide Solution (Tbhp) 100ml	Santacruz
Sodyum Dodesil Sülfat (Sds) 100g	Bioshop
Acetic Acid (Glacial) 100% Suitable For Use 2,5lt	Isolab
1-Butanol 2,5l	Isolab
Tba (2-Thiobarbituric Acid) 25gr	Sigma
Sodium Hydroxide Pellets Pure 1kg	Merck
Edta, Bioreagent, Suitable For Cell Culture 200gr	Bioshop
Xanthine 10gr	Sigma
Iodonitrotetrazolium Chloride (Int) 250mg	Sigma
Sodium Carbonate	Sigma
Bovin Serum Albumin	Bioshop
Xanthine Oxidase From Bovine Milk Grade I, 40un	Sigma
Superoksit Dismutase From Bovine Liver	Sigma
Ammonium Sulfate For Molecular Biology, $\geq 99.0\%$	Sigma
Cupric Chloride	Sigma

Trizma Hcl, Cell Culture Tested, $\geq 99.0\%$ 500g	Intron
Tris Base, 1 Kg	Bioshop
Glutathione, Reduced (Gsh), 10gr	Bioshop
Glutathione Reductase From Baker's Yeast 100un	Sigma
Nadph (Cyclohexyl Ammonium Salt) 10mg	Sigma
E-Bazlı Dezenfektan (İthal) 2,5lt	Isolab
Sodium Phosphate Monobasic, Anhydrous, $\geq 99.0\%$ - 1kg	Sial
1,1,3,3-Tetramethoxypropane, 99%, 100ml	Sigma
Caps $\geq 99\%$, 100gr	Sigma

3.1.3. Hayvan Materyali

Çalışmada, ağırlıkları 380-465 gram arasında değişen 10'arlı ratdan oluşan (çalışma zamanında olabilecek ölüm riskine karşı 10 sıçan kullanılmıştır.), 4 grup (toplam 40 adet rat) kullanıldı. Ratlar şeffaf polyesterden yapılmış kafeslerde tutuldu. Ratlara çalışma süresince standart rat yemi ve çeşme suyu verildi. Ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı (n=10). Deney grupları şu şekilde oluşturulmuştur.

1. Grup: Kontrol grubu (Sadece egzersiz yapıtırıldı),
2. Grup: Niasin grubu (Egzersiz + Niasin takviyesi),
3. Grup: Melatonin grubu (Egzersiz + Melatonin takviyesi),
4. Grup : Melatonin + Niasin grubu (Egzersiz + Melatonin + Niasin takviyesi)

Tablo 3. Deney grupları

Deney Grupları	Hayvan Sayısı	Tekrar Sayısı (Varsa)	Verilecek madde (Varsa)
Kontrol	10	Yok	Yok
Niasin grubu	10	Yok	Oral yoldan 360 mg/kg/gün Niasin
Melatonin grubu	10	Yok	İntraperitoneal (i.p) yoldan 5 mg/kg/gün Melatonin
Melatonin + Niasin grubu	10	Yok	İntraperitoneal (i.p) yoldan 5 mg/kg/gün Melatonin + Oral yoldan 360 mg/kg/gün Niasin

3.2. Yöntem

3.2.1. Araştırmanın Tipi

Yapılan bu çalışma, deneysel hayvan çalışmasıdır.

3.2.2. Hayvanlar Üzerinde Yapılan İşlemler

Deney hayvanları ile ilgili çalışma yapmak için gerekli olan etik kurul kararı, ADÜ HADYEK Merkezinde 23/03/2018 Tarihli 6453101/2018/039 Sayılı karar ile alınmıştır. Ekte sunulmuştur. Deney hayvanların temini, ADÜ Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezinden sağlanmıştır. Hayvanlarla yapılan işlemler ADÜ Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezinde yapılmıştır.

3.2.2.1. Egzersiz protokolü

Ratların koşu bandına ve egzersize adaptasyonunu sağlamak için çalışmadan önceki 6 gün boyunca günde 5 dk ve 1 km/saat hızda hafif tempo koşu yaptırıldı. Sıçanlarda oksidatif stres oluşturmak için Gronowska-Senger ve ark.(2009) uyguladıkları egzersiz modeli kullanıldı. Bu modele göre sıçanlar 10 gün süreyle eğimsiz olarak 15 dk/gün ve 20m/dk (1,2 km/saat) hızda treadmill koşu egzersizi yapmaktadırlar.



Resim 1. Egzersiz protokolü uygulaması



Resim 2. Egzersiz protokolü yaptırılan ratlar

3.2.2.2. Melatonin solüsyonun hazırlanması ve uygulanması

Melatonin sigma-aldrich firmasından 1 gr'lık toz prepatı halinde temin edilmiştir. Melatonin solüsyonunun hazırlanmasında ilgili firmanın ürün bilgisi sayfasında yer alan solüsyon hazırlanması paragrafı esas alınarak hazırlanmıştır.

Medikal firmadan teslim alınmasından ilaç uygulamalarının bitimine kadar olan süreçte -20 derecede buzdolabında muhafaza edilmiştir. Melatonin solusyonu ışığa duyarlı olmasından ve ışıktaki okside olduğundan solüsyon olarak hazırlanmasından ratlara uygulanma aşamasına kadar ışıktan muhafaza edildi. Melatonin uygulaması yapılan 2 grupta toplam 20 hayvandan her bir hayvanın ağırlığı göz önünde bulundurularak günlük solüsyon hazırlandı.

Melatonin etanolde en az 50 mg / mL içinde biraz puslu, soluk sarı renkli bir solüsyon, hazırlandı. Melatonin etanol içinde çözüldükten sonra, izotonik solüsyonla dilüe edildi.

Dozun belirlenmesi, verilme süresi belirlenirken; Reiter ve arkadaşlarının (2016) melatonin uygulamalarında geçmiş çalışmalara yönelik yaptığı çalışma göz önüne alınarak belirlendi.

Egzersizden 30-45 dk önce her bir hayvanın her gün tartımı yapılarak intraperitoneal (i.p) yoldan 5 mg/kg/gün doz şeklinde verildi.



Resim 3. Ratlara intraperitoneal melatonin uygulanması

3.2.2.3. Niasin solüsyonun hazırlanması ve uygulanması

Kullanılan niasin sigma-aldrich firmasından 100gr 'lık toz prepatı halinde temin edilmiştir. Niasin uygulaması yapılan 2 grupta toplam 20 hayvandan her bir hayvanın ağırlığı göz önünde bulundurularak günlük solüsyon hazırlandı. Niasin distile su içerisinde çözülerek solüsyon hazırlanmıştır.

Solüsyon dozunun belirlenmesi; Kwon ve arkadaşlarının (2018) çalışması baz alınarak belirlendi.

Egzersizden 30-45 dk önce her bir hayvanın her gün tartımı yapılarak 2. ve 4. gruba oral yoldan 360 mg/kg/gün niasin takviyesi verildi.



Resim 4. Ratlara oral yoldan niasin uygulanması

3.2.2.3. Örnek alınması ve saklanması

10. gün egzersiz bitimi ve ilaç uygulamasından bir gün sonra ketamin ve xylazin ile anestetize edilerek intrakardiyak yoluyla yaklaşık 7 ml kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri katalaz çalışması için EDTA'lı tüplere, diğer çalışmalar için biyokimya tüplerine aktarıldı. MDA, TOS TAS Melatonin SOD GPX GST çalışması için alınan kan örnekleri 3000 rpm 5 dk santrifüj edildi. Serum örnekleri alındı. Çalışma gününe kadar ADÜ Merkez Laboratuvarında bulunan -80 °C derin dondurucuda saklandı.

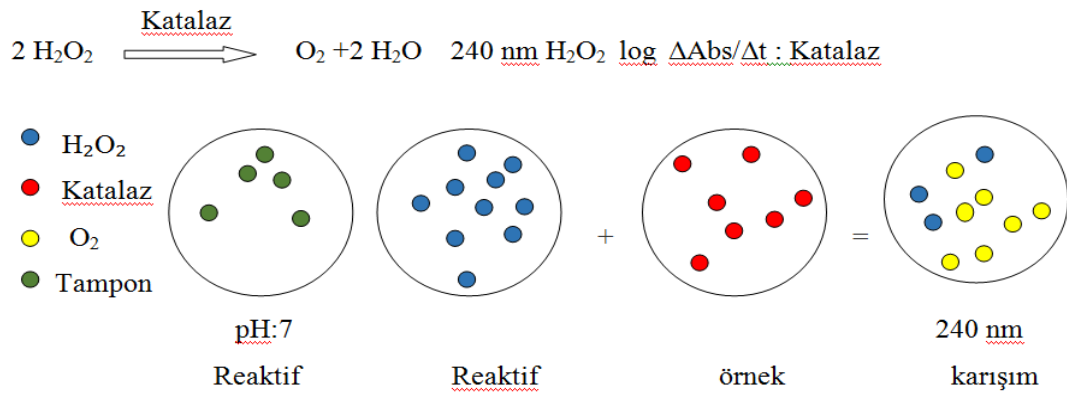
3.2.3. Kan Parametrelerinin Analizi

3.2.3.1. Analizi yapılan parametreler

Örneklerden Katalaz analizi ADÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında, SOD, MDA, GPX, GST, TOS, TAS ve Serum Melatonin analizleri ADÜ Merkez Laboratuvarında çalışılmıştır. Alınan örnekler çalışma gününe dek ADÜ Merkez Laboratuvarında bulunan -80 °C derin dondurucuda saklandı.

3.2.3.2. Katalaz aktivite tayini

Deney Prensipleri; Örnek alımından sonra Aebi (1984) metodu uygulanarak çalışılmıştır. H₂O₂'nin katalaz tarafından parçalanması esasına dayalı bir yöntemdir. 240 nm de H₂O₂'nin emiliminin gözlemlendiği en iyi dalga boyudur. Buna göre katalaz enzim aktivitesine bağlı olarak H₂O₂'nin ayrışmasını doğrudan 240 nm'de absorbanstaki azalma izlenebilir. Birim zaman başına absorbanstaki fark ($\Delta 240$), katalaz aktivitesinin bir ölçüsüdür.



Şekil 18. Katalaz aktivite tayini prensibi

Reaktifler

1 . Fosfat Tamponu (50 mM, pH:7)

a . 6,81 gr KH_2PO_4 , distile su ile hacmi 1000 ml tamamlanarak çözündürülür.

b . 8,9 gr Na_2HPO_4 . distile su ile hacmi 1000 ml tamamlanarak çözündürülür.,

a'dan 1 birim, b'den 1,5 birim alınır ve karıştırılır.

2 . H_2O_2 30 mM

Taze hazırlanmalıdır. 0,34 ml %30 H_2O_2 'den alınır ve 100 ml Fosfat tampon ile dilüe edilir.

Deney:

* EDTA'lı tüplere alınan kan 3000 rpm' de 5 dk santrifüj edildi. Plazması atıldı.

*Kalan kısım 3 kez soğuk serum fizyolojik ile yıkandı.

* 200 μl eritrosit + 800 μl distile su ile hemolizat hazırlandı.

*Cam tüpe 5 mL Fosfat tamponu üzerine 10 μl hemolizat eklendi.

* Makro küvetlerden ilkinde 1 ml hemolizat içeren fosfat tamponu eklendi. İkincisine 1 ml sade fosfat tamponu eklendi.

*Her iki küvete 0,5 ml H_2O_2 eklendi. Reaksiyon H_2O_2 ilavesiyle başlatılır. İkinci makro küvet spektrofotometrenin kör kısmına konularak 240 nm 20 °C'de 15 saniyelik aralıklarla dört adet ölçümü kayıt altına alındı.

*Ölçüm esnasında başlangıç absorbansı yaklaşık 0,500 olmasına ve zamanla azalmasına dikkat edildi.

*Analiz yapılmadan hemen önce Hemogram cihazı ile Hb miktarı belirlenir (örneğin Drabkin yöntemi ile).

Hesaplama:

Hesaplama yapılırken katalaz aktivite yöntemi olarak seçilen Aebi(1984)'nin ilgili makalesi temel alınmıştır. Bu makalede birim olarak k/gr Hb kullanılması tavsiye edilmektedir. U birim olarak kullanılmamasının nedeni olarak katalaz enziminin anormal bir kinetiğe sahip olması belirtilmektedir.

k: birinci dereceden reaksiyon kinetiği

A1 :Absorbans 1

A2: Absorbans 2

DF: Dilusyon faktör

Δt : A2 alındığı zaman (sn)– A1 alındığı zaman (sn)

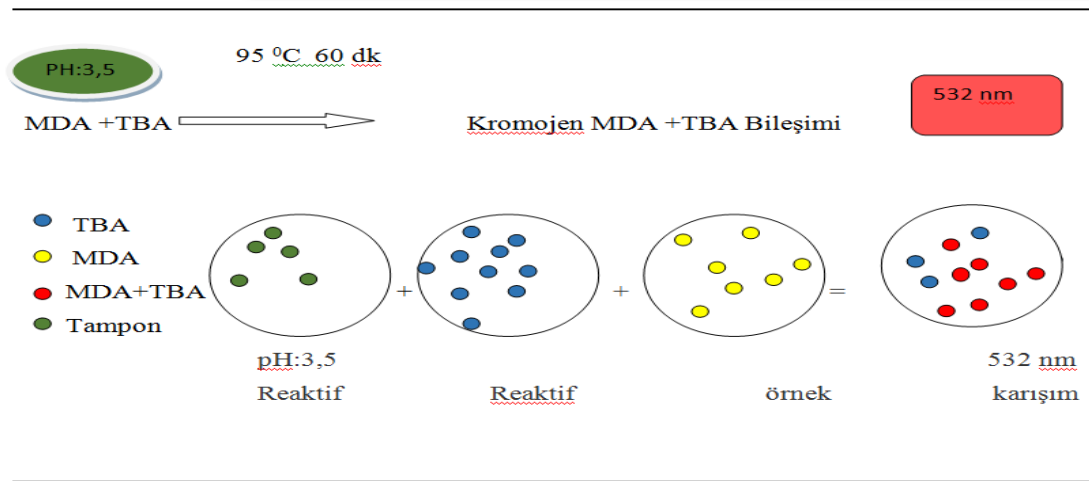
$$k = (2,3/\Delta t) * [\log (A1/A2)] * DF / \text{Hemolizat Hb (gr/l)} \\ = k/\text{gr Hb}$$

Formül açıklaması; Eritrosit katalazın spesifik aktivitesinin bir ölçüsü olarak, Hemoglobin içeriğiyle ilişkili hız sabiti (k / gr Hb) şeklinde ifade edilir.

3.2.3.3. MDA tayini

Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan ve göstergesi olarak kabul edilen MDA'nın ölçüm metodu olarak Ohkawa (1979) metodu uygulandı.

Deneyin prensibi; Lipit peroksitlerin hayvan dokularındaki tiyobarbitürik asit ile reaksiyonu, linoleik asitin hidroperoksit dönüşümünde olduğu gibi reaksiyon karışımının pH'ına bağlıdır. Ohkawa, böyle bir reaksiyon için Optimum pH 3,5 olarak bulmuştur. Bu gerçeği göz önünde bulundurarak, asetat tamponu ile pH nın 3,5 olarak ayarlanması ile hayvan dokularındaki lipit peroksit seviyesinin, tiyobarbitürik asit ile tepkimeleriyle denenmesi için standart bir prosedür geliştirilmiştir. Geliştirilen bu prosedürle hazırlanan karışımın 95 °C'de 60 dakika inkübe edildikten sonra, *n* -bütanol-piridin karışımı ekstre edilmesiyle pembe-kırmızıya yakın bir renk oluşumu gözlenir ve 532 nm'de absorbansı ölçülür.



Şekil 19. MDA tayini testinin prensibi

MDA Deney Reaktifleri:

- 1 . %0,9 TBA: 4,5 gr TBA tartılır bir miktar distile suda çözünür. Hacmi distile su ile 500 ml'ye tamamlanır.
- 2 . Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (%8,1) : 8,1 gr SDS tartılır bir miktar distile suda çözünür. Hacmi distile su ile 100 mL tamamlanır.
- 3 . %20 Asetik asit : 100 mL %100 lük asetik asitten alınır ve üzeri 400 mL distile su ile tamamlanarak iyice karıştırılır. (pH 3.5, NaOH ile ayarlanır)
4. n-Butanol/Piridin (15/1, v/v) çözeltisi olarak hazırlanır.

Standart reaktifi:

1.1.3.3 tetraethoxypropane 400 µmol/L konsantrasyonunda stok standart çözeltisi hazırlandı. Stok standarttan seri dilüsyon yapılarak 50 – 400 µmol/L konsantrasyon aralığında çözeltiler elde edildi ve deneyin ölçüm standardı olarak kullanıldı.

Deney:

Deney gününe kadar -80°C'de saklanan serum örnekleri önce -20°C, daha sonra +4°C'de bir müddet bekletilerek iyice çözünmeleri sağlandı. Daha sonra kısa süreli vorteksenerek ependorf tüp içerisinde homojen olarak dağılmaları sağlandı. Tabloda belirtildiği gibi pipetlemeler yapıldı.

Tablo 3.4. MDA deney prosedürü

Reaktifler	Numune	Standart	Kör
SDS % 8.1	200 µL	200 µL	200 µL
Asetik Asit % 20	1500 µL	1500 µL	1500 µL
TBA % 0.9	1500 µL	1500 µL	1500 µL
Numune	100 µL	-	-
Standart	-	100 µL	-
Distile su	700 µL	700 µL	800 µL

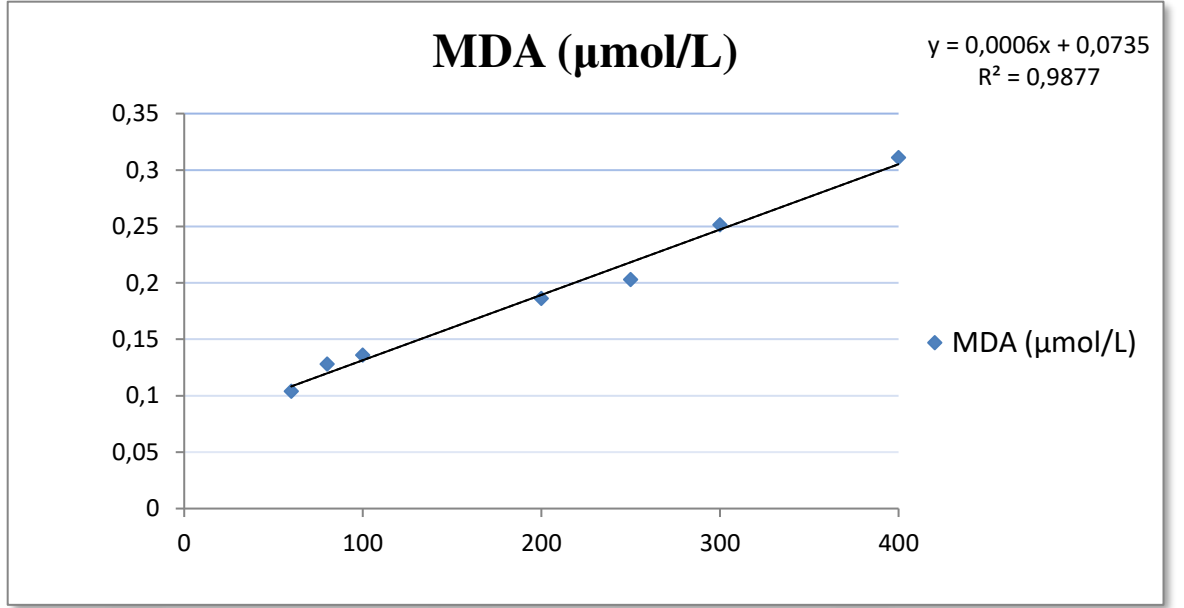
Tüm tüplerin kapakları kapatılıp, vortekslenerek ve sıcaklığı 95°C'olan su banyosunda 1 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonunda buzlu suda soğutuldu. Daha sonra her bir tüpün supernatanından 600 µL alınarak karşılık gelen ependorf tüplere aktarıldı. Her bir ependorfa aşağıdaki pipetlemeler yapıldı.

Distile su	150 µL	150 µL	150 µL
n-Butanol/Piridin	750 µL	750 µL	750 µL

Ependorf tüpler vorteksle iyice karıştırıldıktan sonra 1600 x g'de 10 dakika santrifuj edildi. Üst faz olan süpernatant alındı. Her bir numune, absorbans değerleri 532 nm dalga boyunda okutuldu.

Hesaplanması

Hazırlanan standart seri dilüsyon solüsyonlarının absorbans değerleri alınarak tabloda ki standart absorbans grafiği ve denklemini elde edildi. Örneklerden elde edilen absorbans değerleri denkleminde yerine konularak MDA konsantrasyonu tayini belirlendi. MDA konsantrasyonu µmol/L olarak ifade edildi.

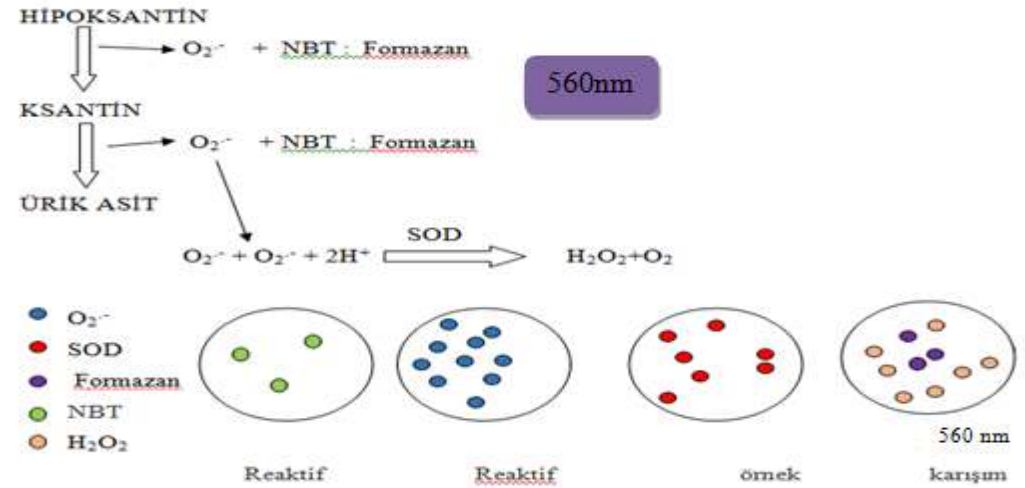


Şekil 20. MDA Standart solüsyon eğim grafiği ve denklemi

3.2.3.4. SOD aktivite tayini

Deney prensibi

SOD aktivite tayininde esas olarak aldığımız Sun ve ark (1988) makalesinde deney prensibi olarak tanımlamasına göre, ksantinin ürik asite dönüşümünün ksantin oksidaz tarafından katalizlemesi ile süper oksit oluşturmaktadır. Oluşan süper oksitler, nitroblue tetrazolium chloride (NBT) ile mor renkli bir bileşik olan formazan oluşturmaktadır. Meydana gelen bu renk şiddetinin spektrofotometrik olarak 560 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanarak yapılmıştır. Oluşan süper oksitler, SOD aktivitesi ne kadar fazla ise o kadar fazla ortadan kaldırılacaktır. Bu durumda NBT ile renk reaksiyonu veren süperoksit o kadar azalacaktır. Buna göre daha az absorbans verecektir. SOD aktivitesi ile absorbans arasında ters orantı vardır.



Şekil 21. SOD aktivite tayini testinin prensibi

Kullanılan reaktifler

A . SOD deney reaktifleri:

50 deney tüpü analizi için gerekli olan reaktifler hazırlanır. 200 ml beher içerisinde iyice karıştırılır.

1 . 50 ml 0,3 mmol/L ksantin solüsyonu : 2,29 mg ksantin (mA=152,1 g/mol), distile su ile çözülüp hacmi distile su ile 50 ml'ye tamamlandı.

2 . 25 ml 0,6 mmol /L EDTA solüsyonu : 4,39 mg EDTA (mA=292,2 g/mol), distile su ile çözülüp hacmi distile su ile 25 ml'ye tamamlandı.

3 . 25 ml 150 µmol/L NBT solüsyonu : 3,06 mg NBT (mA=817,6 g/mol), distile su ile çözülüp hacmi distile su ile 25 ml'ye tamamlandı.

4 . 15 ml 400 mmol/L Na₂CO₃ solüsyonu : 0,636 g Na₂CO₃ (mA=105,98 g/mol), distile su ile çözülüp hacmi distile su ile 15 ml'ye tamamlandı.

5 . 7,5 ml BSA: 7,5 mg BSA, distile su ile çözülüp hacmi distile su ile 7,5 ml'ye tamamlandı.

B . Ksantin Oksidaz Solüsyonu

50 deney tüpü analizi için gerekli olan reaktif hazırlanır.

1 . 2,5 ml 2 mol/L (NH₄)₂SO₄ (Amonyum Sülfat): Taze hazırlanır. 0,66 g amonyum sülfat (mA=132,1 g/mol), distile su ile çözölüp hacmi hacmi 2,5 ml tamamlandı.

2 . 167 U / L ksantin oksidaz : 25 µL ksantin oksidaz, 2,5 ml ile taze hazırlanmış amonyum sülfat seyreltili. Soğuk muhafaza edildi.

C . CuCl₂ Solüsyonu

50 deney tüpü analizi için gerekli olan reaktif hazırlanır.

50 ml 0,8 mmol/L CuCl₂: 5,39 mg CuCl₂ (mA=134,45 g/mol), tartılıp distile su ile hacmi distile su ile 50 ml'ye tamamlandı.

D . Standart SOD reaktifi ve hazırlanması:

1 mg süperoksit dismutaz tartılıp 1 ml izotonik solüsyon ile çözölldü. 2519 u/ml ana stok oluşturuldu. Ana stoktan yola çıkılarak kalibrasyon grafiğı oluşturmak için dilüsyonlar yapıldı.

Tablo 5. SOD standart solüsyon dilüsyonları

	Dilüsyon Oranları	Ana Stok	İzotonik
251,9 U	1/10	10 µl	90 µl
100,76 U	1/25	10 µl	240 µl
50,38 U	1/50	10 µl	490 µl
25,19 U	1/100	10 µl	990 µl
10,076 U	1/250	10 µl	2490 µl
5,038 U	1/500	10 µl	4990 µl
2,5 U	1/1000	10 µl	9990 µl

Deney:

*Her deney tüpüne SOD deney reaktifi olarak hazırladığımız karışımdan 2,45 ml ve serum örneklerinden 0,5 ml eklendi.

*Sıcak su banyosunda 25 °C'de 30 saniye aralıklarla her tüpe 50 µl ksantin oksidaz solüsyonu eklendi.

* 50 deney tüpü göz önünde bulundurulduğunda 25 dakikalık bir inkubasyon süresinin eşit olması için her deney tüpüne 30 saniye aralıklarla reaksiyonu sonlandırmak için 0,8 mmol/L CuCl₂ solüsyonundan 1 ml eklendi.

Oluşan renkli bileşik formazan 560 nm'de belirlenir. Bu şartlar altında Blank deney tüpünün absorbands değeri 560 nm de 0,25 dir.

Tablo 6. SOD Deney prosedürü

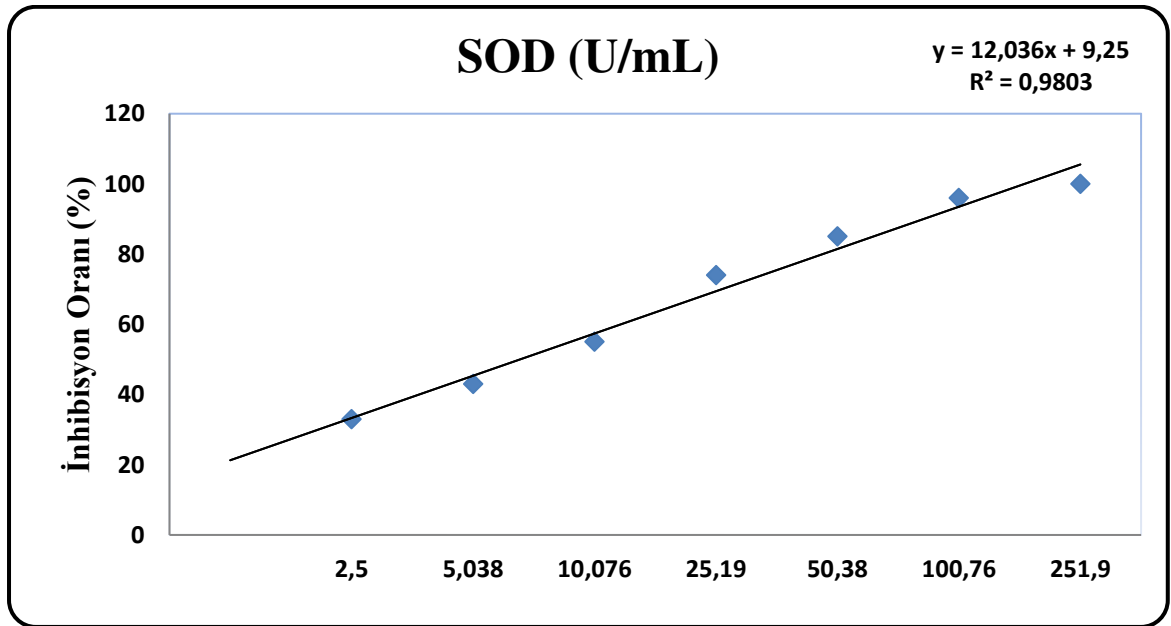
Reaktifler	Numune	Standart
SOD deney reaktifi	2,45 ml	2,45 ml
Numune	0,5 ml	-
Standart	-	0,5 ml
Sıcak su banyosunda 25 °C’de 30 saniye aralıklarla		
Ksantin oksidaz solüsyonu	50 µL	50 µL
25 dk bir inkubasyon süresinin peşine 30 saniye aralıklarla		
CuCl ₂ solüsyonu	1 ml	1 ml

Hesaplama:

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

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

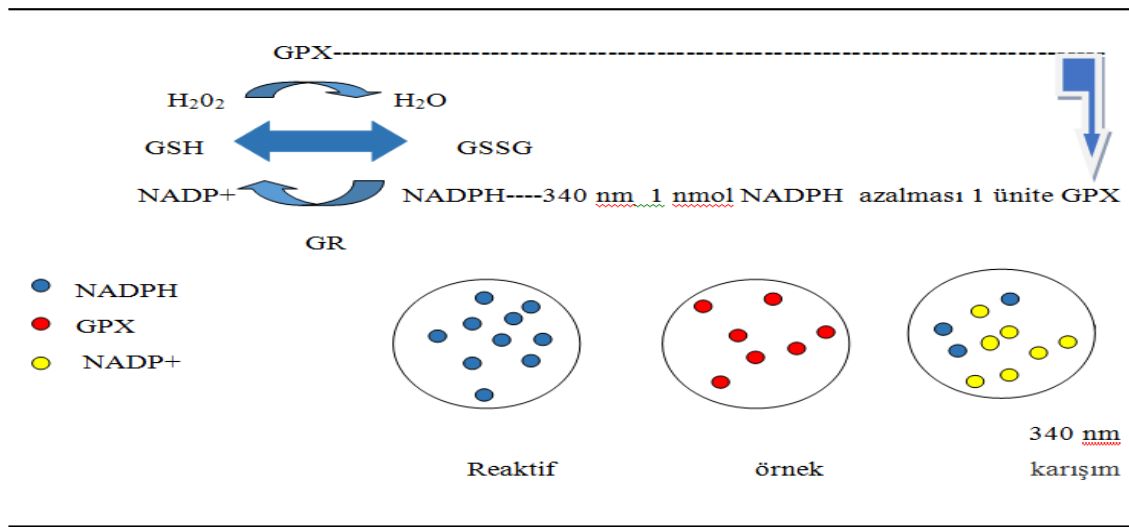
$$\text{Enzim Aktivitesi (U/ml)} = \frac{\text{İnhibisyon (\%)}}{50 * \text{Numune Hacmi (ml)}}$$

**Şekil 22.** SOD Standart solüsyon eğim grafiği ve denklemi

3.2.3.5. GPX aktivite tayini

Deneyin prensibi

Paglia ve Valentina (1967) yöntemi, literatürde GPx aktivite tayini için en çok kullanılan yöntemdir. Bu yöntem GPx'in tert-butil hidroperoksit (tBH) varlığında GSH'ın oksidasyonu esasına dayanmaktadır. Glutatyon (GSSG), GSSG-Red ve indirgenmiş nikotin amid adenin di nükleotid fosfat (NADPH) varlığında indirgenmiş formuna (GSH) dönüşürken, NADPH'da yükseltgenmiş formu olan NADP⁺'ya dönüşmektedir. 340 nm dalga boyunda dakikada okside olan NADPH'nin absorbans değerinin azalması izlenerek GPx enzim aktivitesi hesaplanmaktadır. 25°C sıcaklıkta, 1 ünite GPx dakikada 1 nmol NADPH oksidasyonunu katalize eden enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.



Şekil 23.GPX aktivite tayini testinin prensibi

GPx Deney reaktifleri:

1 . 50 mM Tris-HCl tamponu (5Mm EDTA içeren) pH:7,6

50 mM Tris-HCl: 788 mg Tris-HCl (mA=157,6 g/mol), distile suda çözülüp hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

5 mM EDTA : 146 mg EDTA (mA=292,2 g/mol), önceden hazırlanmış 50 mM Tris-HCl içine eklendi. pH 7,6'ya ayarlandı.

2 . 0,1 M redükte glutatyon (GSH): 30,73 mg GSH (mA=307,3 g/mol) hacmi distile su ile 1 ml'ye tamamlandı.

3 . 2 mM NADPH: 8,333 mg NADPH (mA=833,3 g/mol), hacmi distile su ile 5 ml'ye tamamlandı.

4 . 1 u/ml glutatyon redüktaz: 2 µl enzimden çekip 998 µl distile suya tamamlandı.

5 . 7 mM t-butil hidroksiperoksit: 10 µl t-butil hidroperoksit çekip 2 ml suya tamamlandı.

Tüm reaktifler günlük hazırlandı.

Deney yöntemi:

Tablo 7. GPX aktivite tayini prosedürü

Reaktif	Hacim
50 mM Tris-HCl tamponu(5Mm EDTA içeren)	100 µl
0,1 M redükte glutatyon (GSH)	20 µl
2 mM NADPH	100 µl
1 u/ml glutatyon redüktaz	100 µl
Distile su	660 µl
Örnek (en son eklenir.)	10 µl
37 °C’de 10 dakika inkübe edildi. 340 nm’de ilk okutma yapıldı.	
7 mM t-butil hidroksiperoksit	10 µl

Tabloda belirtildiği gibi pipetlemeler yapılır. Ardından 10 µl tbutil hidroperoksit eklendikten sonra 2,5 ve 5 dakika aralıklarla 340 nm’de tekrar absorbans ölçümü yapıldı..

Hesaplama:

GPx Abs0 (0 dakika)

Abs1 (2,5 dakika)

Abs2 (5 dakika)

$$U/L=\mu\text{mol/dk/L}=\Delta\text{Abs/min} \times V_t \times 10^6 (\mu\text{mol/mol}) / \epsilon \times V_s \times 1$$

$\Delta\text{Abs/min}$ =Dakikadaki absorbans değişimi,

V_t =Toplam reaksiyon hacmi = Örnek + Reaktif +Dilüent

V_s =Örnek hacmi

ϵ = ekstinksiyon katsayısı

NADPH'ın 340 nm'deki molar ekstinksiyon katsayısı : $0.00622 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (340 nm)

10^6 : Molü mikromole çeviren sabit

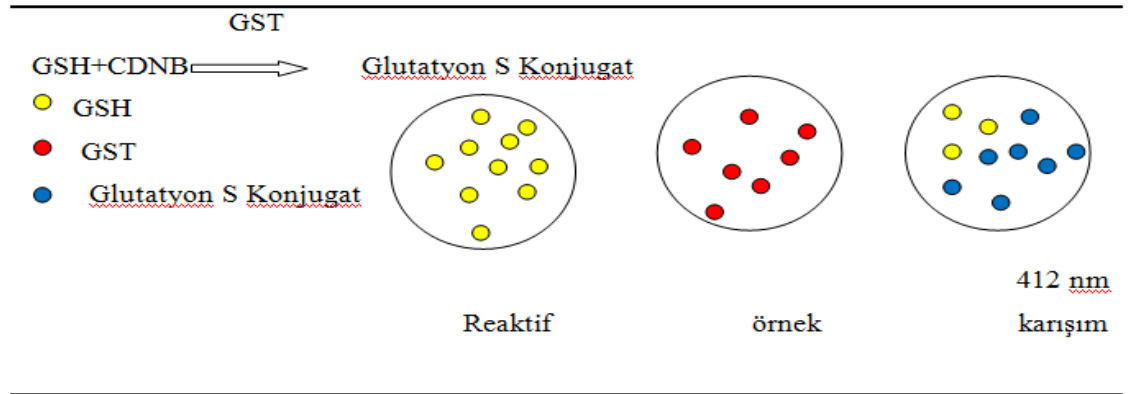
l : küvet hacmi

3.2.3.6. GST aktivite tayini

GST Tayini için Elabscience markanın kiti olarak alınan Glutathione-S-Transferase (Gsh-St) kolorimetrik analiz kiti kullanılmıştır.

Deneyin prensibi

GST , redükte glutatyonun (GSH) 1-klor-2,4-dinitrobenzene (CDNB) bağlanmasını katalize edebilir . Belirli bir reaksiyon süresinde, GST aktivitesi, reaksiyondan sonra substrat konsantrasyonunun değişmesi ile doğrusal olarak ilişkilidir. Bu kit, GSH'nin konsantrasyonunu tespit ederek GST'nin aktivitesini hesaplar.



Şekil 24. GST aktivite tayini prensibi

Örnekte bulunan GST aktivitesi kadar GSH bu reaksiyona girebilir. Azalan GSH, GST aktivitesini verir.

Deneyde kullanılan Reaktifler

Reaktif 1:

1A küçük şişedeki tozu 1 ml etil alkol ile çözülür.

1B 60 ml Solusyon halindedir.

Reaktif 1 çalışma solusyonu : 1A ile 1B 1/59 oranında karıştırılır. Kullanımdan önce taze hazırlanır.

Reaktif 2:

2A küçük şişedeki tozu 170 ml sıcak distile su içinde tamamen çözülür.

2B 50 ml solusyon halindedir.

2A ve 2B'yi tamamıyla karıştırılır.

Reaktif 3: 200 ml distile su içerisinde çözülür. Oda sıcaklığında saklanır.

Reaktif 4: 50 ml distile suda içerisinde çözülür. Karanlıkta +4 °C saklanır.

Reaktif 5:Standart GSH 3,07 mg, 3 küçük şişe halindedir.

Reaktif 6:GSH Standart Stok Solüsyon 10 ml

GSH Standart uygulama solüsyonu : Reaktif 6 ile distile su 1/9 oranında karıştırılır. Kullanmadan önce taze hazırlanır.

1 mmol/L GSH standart solusyonu : Reaktif küçük şişelerden bir tanesini 10 ml GSH Standart uygulama solüsyonu ile tamamen çözünür. Kullanmadan önce taze hazırlanır.

20 µmol/L GSH standart solusyonu : 0,2 ml 1 mmol/L GSH standart solusyonun üzerine 9,8 ml ye GSH Standart uygulama solüsyonu ile eklenir.

Substrat solusyonu :Reaktif 1 çalışma solusyonu ile 1 mmol/L GSH standart solusyonunu birebir oranında karıştırılır.

Deney yöntemi:

a) Enzimatik reaksiyon

Tablo 8. GST enzimatik reaksiyon prosedürü

	Örnek tüp (numune)	Kontrast tüpü (kör)
Substrat çözeltisi (mL)	0.3	0.3
Numune (mL)	0.1	
Tamamen karıştırın ve su banyosunda 37 °C 30 dakika inkübe edilir.		
Reaktif 2 uygulama çözeltisi (mL)	2	2
Numune (mL)		0.1

Tamamen karıştırılır, 10 dakika boyunca 3500 ~ 4000 rpm/dk santrifüjlenir. Kromojenik reaksiyon için süpernatantı toplanır.

b) Kromojenik reaksiyon

Tablo 9. GST kromojenik reaksiyon prosedürü

	Boş tüp	Standart tüp	Örnek tüp	Kontrast tüpü
GSH Standart uygulama				
çözeltisi (mL)	2			
20 µmol / L GSH standart çözeltisi (mL)		2		
Süpernatant (mL)			2	2
Reaktif 3 uygulama çözeltisi (mL)	2	2	2	2
Reaktif 4 uygulama çözeltisi (mL)	0.5	0.5	0.5	0.5

Tamamen karıştırın ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilir. Distile suyla sıfıra ayarlanır . 1 cm çaplı bir küvet 412 nm'de her bir tüpün absorbens değerlerini ölçümü yapılır.

Hesaplama

Absorbans : Abs

Contrast : C

Örnek : S

Standart : St

Blank : B

Standart konsantrasyonu : St kon.

Dilüsyon faktör : D.F.

Örnek Hacim : Ö V

Reaksiyon zamanı : R T

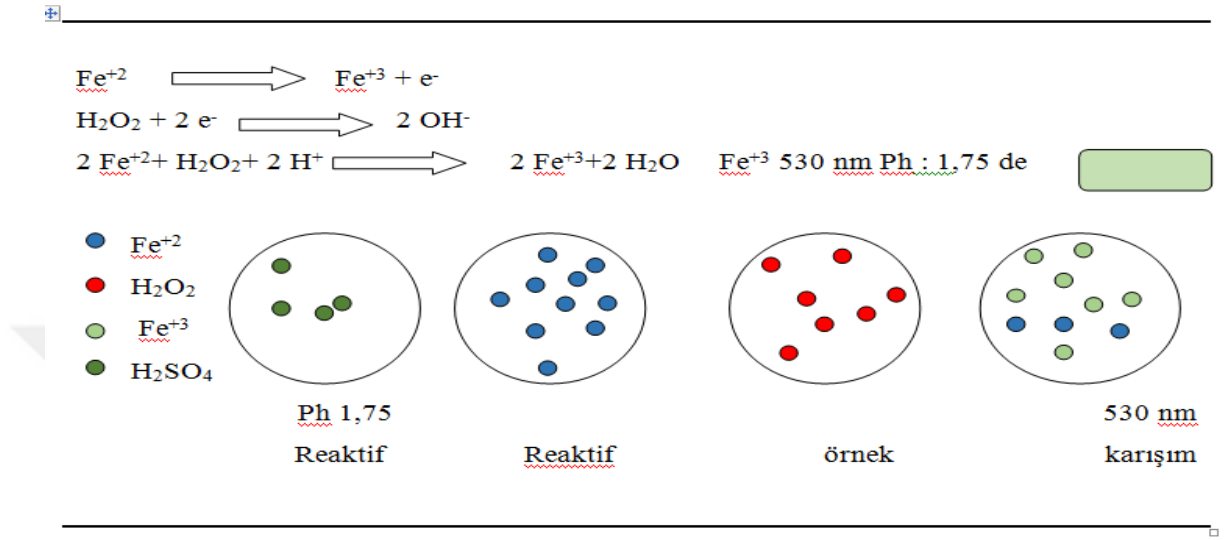
$$\text{GST Serum aktivitesi (U/ml)} = \frac{\text{Abs C} - \text{Abs S}}{\text{Abs St} - \text{Abs B}} \times \text{St kon.} \times \text{D.F.} / \text{R T} / \text{Ö V}$$

3.2.3.7. TOS tayini

Deney prensibi

Rel Assay markanın kiti olarak alınan TOS analiz kiti için kullanılan ölçüm prensibine göre, numunelerde bulunan oksidanların, demirli iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonla okside

etmesi esasına dayanır. Ferrik iyon, asidik ortamda kromojen ile renkli bir kompleks yapar. 530 nm absorbanda Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarı ile ilgilidir. Deney, hidrojen peroksit ile kalibre edilir ve sonuçlar, litre başına düşen mikromolar hidrojen peroksit cinsinden ifade edilir ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equiv/L).



Şekil 25. TOS tayini testinin prensibi

Reaktifler

Tablo 10. TOS deney reaktifleri

	İçerik	Konsantrasyon
Reaktif 1	Tampon solusyonu	
	H_2SO_4	25 mM pH1,75
Reaktif 2	Substrat solusyonu	
	H_2SO_4	25 mM pH1,75
	Demir iyonu	5 Mm
	O-dianisidine	10 Mm
Standart	H_2O_2	10 $\mu\text{mol/L}$
Kalite Kontrol Düzey 1	H_2O_2	5 $\mu\text{mol/L}$
Kalite Kontrol Düzey 2	H_2O_2	20 $\mu\text{mol/L}$

Deney Yöntemi:

- * Her bir plate 45 µl örnek veya standart veya su eklenir.
- *Kullanılan her bir plate 300 µl reaktif 1 eklenir. Ortamın asidik olması sağlanır.
- *30 saniye boyunca iyice karıştırılır.
- * Absorbans 1(A1) spektrofotometrede 530 nm dalga boyutunda okutulur ve kaydedilir.
- * Kullanılan her bir plate 15 µl reaktif 2 eklenir. Reaksiyon başlatılır.
- * Oda sıcaklığında 10 dakika iyice karıştırılır.
- * Absorbans 2(A2) spektrofotometrede 530 nm dalga boyutunda okutulur ve kaydedilir.

Hesaplama:

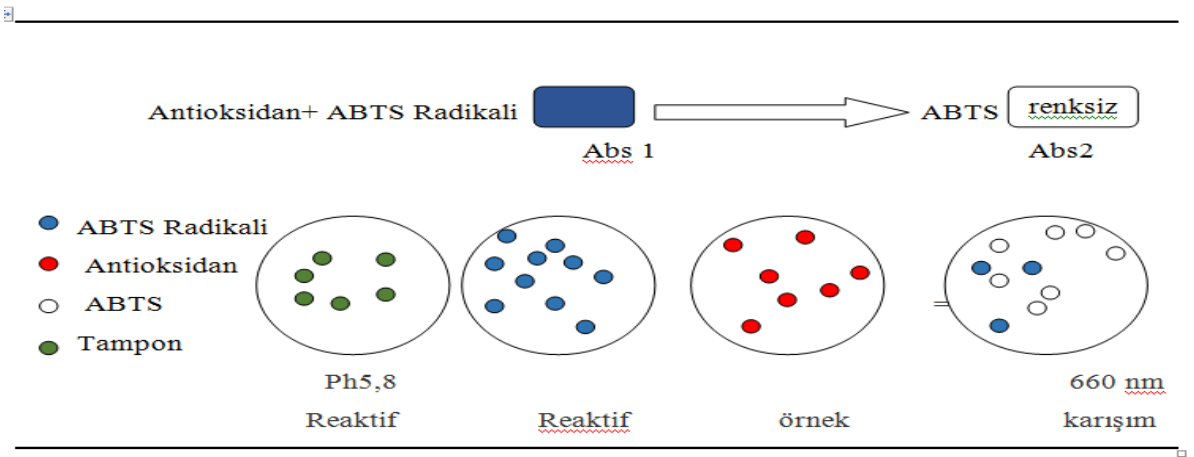
$A2-A1=\Delta Abs$ standart veya örnek için

Sonuç : $\frac{\Delta Abs \text{ örnek}}{\Delta Abs \text{ standart}} \times \text{Standart konsantrasyon } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equiv/L})$

3.2.3.8. TAS tayini

Deney prensibi

Rel Assay markanın kiti olarak alınan TAS analiz kiti için kullanılan ölçüm prensibi, Örnekte bulunan antioksidanlar, reaktif 2 olarak ekleyeceğimiz ABTS ((2,2'-azinobis(3- etilbenzothiazolin-6-sulfonik asit) diamonyum tuzu) (koyu mavi-yeşil renkli) katyonik radikalini indirgenmiş ABTS(renksiz) formuna indirgemesi esasına dayanır. 660 nm'de absorbans değişimi, numunenin toplam antioksidan seviyesi ile ilgilidir. Doğru orantılıdır. Ne kadar çok fark varsa o kadar çok antioksidan vardır. Testi standartize etmek için, genel olarak E vitamini analogu olan Trolox Equivalent olarak adlandırılan stabil bir antioksidan standart çözeltisi kullanılır. Spektrofotometrede 660 nm dalga boyunda absorbans değerleri alınarak hesaplamalar yapılır. Birim olarak mmol Trolox Equiv./L veya µmol Trolox Equiv./L kullanılır.



Şekil 26. TAS tayini testinin prensibi

Reaktifler

Tablo 11. TAS deneyinde kullanılan reaktifler

	İçerik	Konsantrasyon
Reaktif 1	Tampon solusyonu	
	Asetat Tampon	0,4 mol/L Ph5,8
Reaktif 2	Prokromojen solusyonu	
	ABTS	30 mmol/L
Standart	Trolox	1 mmol/L
Kalite Kontrol Düzey 1	Trolox	0,5 mmol/L
Kalite Kontrol Düzey 2	Trolox	2 mmol/L

Deney Yöntemi:

- * Her bir plate 18 µl örnek, standart ve su eklenir.
- *Kullanılan her bir plate 300 µl reaktif 1 eklenir. Ortamın pH'sı reaksiyon için uygun olması sağlanır.
- *30 saniye boyunca iyice karıştırılır.
- * Absorbans 1 (A1) spektrofotometrede 660 nm dalga boyutunda okutulur ve kaydedilir.

- * Kullanılan her bir plate 45 µl reaktif 2 eklenir. Reaksiyon başlatılır.
- * Oda sıcaklığında 10 dakika iyice karıştırılır.
- * Absorbans 2(A2) spektrofotometrede 660 nm dalga boyutunda okutulur ve kaydedilir.

Hesaplama:

$A2-A1=\Delta Abs$ standart veya örnek veya H₂O için

Sonuç : $\frac{\Delta Abs_{H2O}-\Delta Abs_{örnek}}{\Delta Abs_{H2O}-\Delta Abs_{standart}}(mmol Trolox Equiv./L) \times 1000 (\mu mol Trolox Equiv./L)$

3.2.3.9. Serum melatonin tayini

Çalışma prensibi

Elabscience markanın kiti olarak alınan Rat Melatonin analiz kiti için kullanılan ölçüm prensibine göre, melatonine spesifik antikörlerle kaplı biotinlenmiş ve biotinlenmemiş melatoninler arasında kompetitif inhibisyon reaksiyonu esasına dayanır. İnkübasyondan sonra bağlanmayan konjugat yıkanır. HRP (Horse radish Peroxidase) konjugat miktarı numunedeki melatonin miktarı ile ters orantılıdır. Substrat solüsyonu ilavesinden sonra oluşan renk yoğunluğu numunedeki melatonin konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Serum melatonin düzeyi Melatonin Elisa kiti ile pg/ml olarak ölçülür.

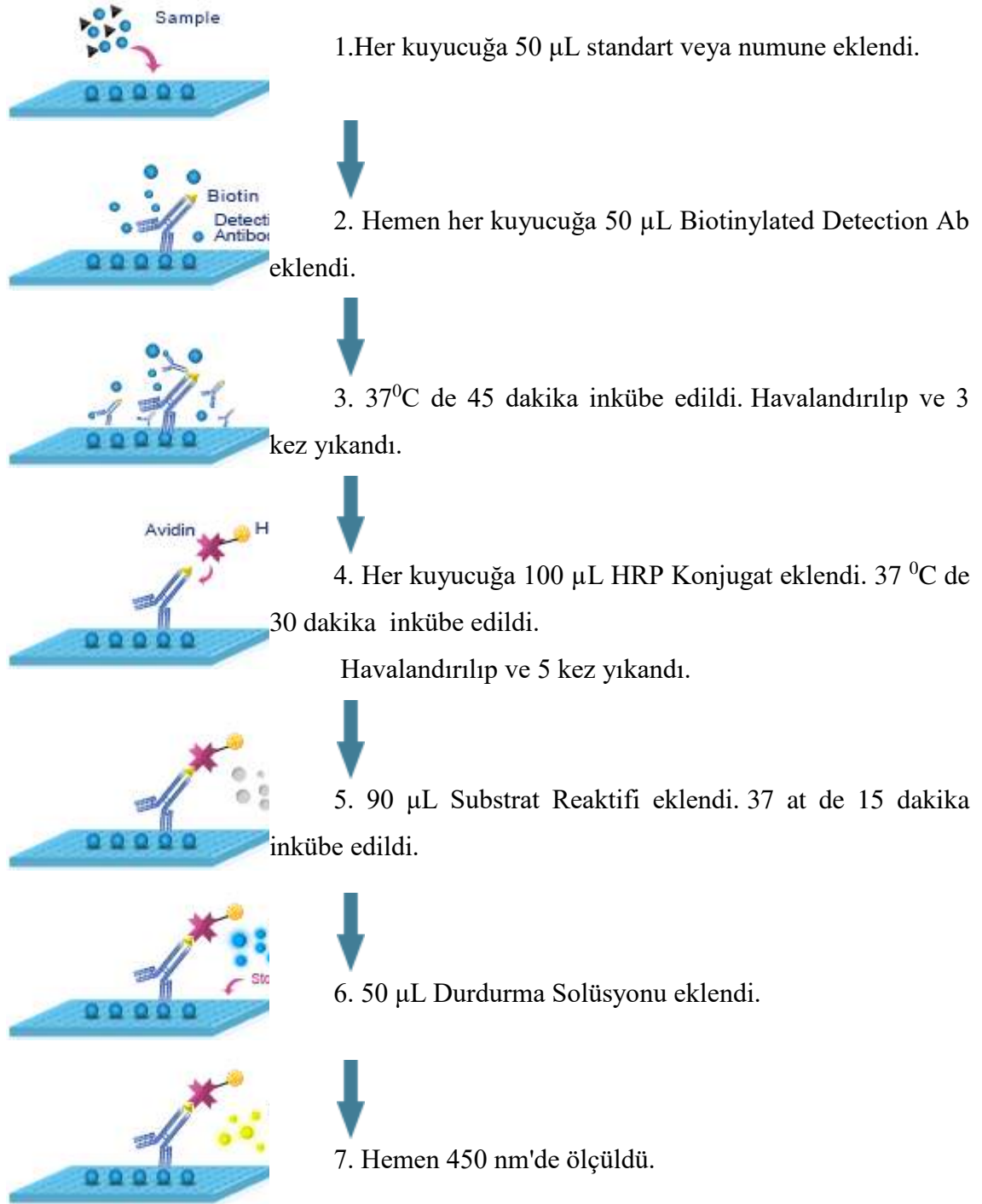
Reaktiflerin hazırlanması

- 1) Bütün kitler ve numuneler çalışma öncesi oda sıcaklığına getirildi.
- 2) Wash Solution: 30 mL Konsantre Wash Tamponunu 720 mL deiyonize ile seyreltilir.
- 3) Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu: Deneyden önce gerekli miktarı hesaplanır. (50 µL / plate). Kullanmadan önce stok tüpünü santrifüjlenir, Konsantre Biotinylated Detection Ab ile Biotinylated Detection Ab'lu çalışma çözeltisi 1:100 oranında hazırlanır.
- 4) Konsantre HRP Konjugat Çalışma solüsyonu: Çalışma önce gerekli miktarı hesaplanır (100 µL / plate). Konsantre HRP çözeltisi ile konsantre HRP konjugat dilüent çalışma solüsyonu 1:100 oranında hazırlanır.
- 5) Substrate reaktifi: Kullanıma hazır.

Standart hazırlanması

1 ml standart dilüent ile 1000 pg/ml stok standartı hazırlanacak. Stok standart solüsyondan sırasıyla 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml , 31,25 pg/ml 15,625 pg/ml ve 0 pg/ml olmak üzere standartlar hazırlandı.

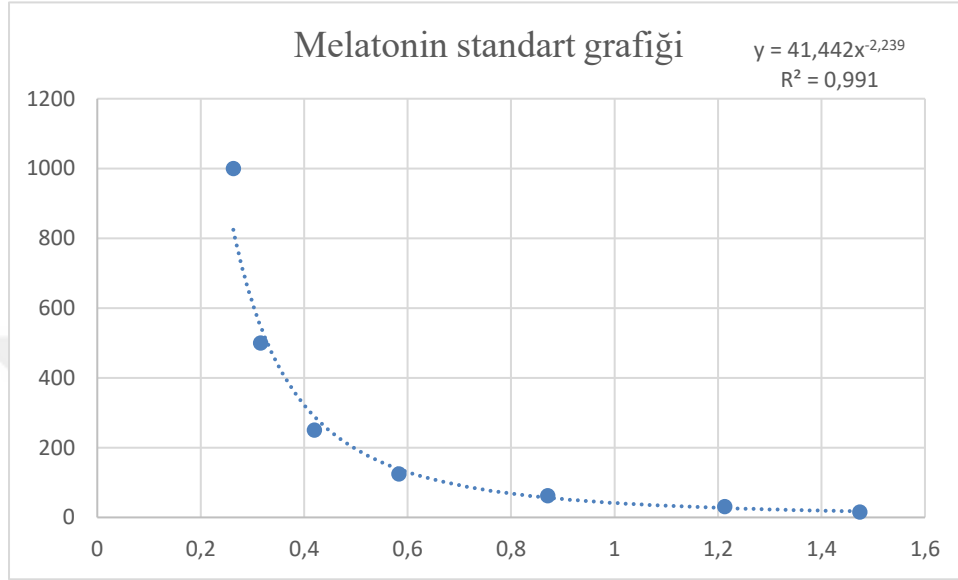
Deney prosedürü



Şekil 27. Serum Melatonin deney prosedürü

Hesaplanması

Hazırlanan standart solüsyonlardan elde edilen absorbans değerleri ile serum melatonin standart eğim grafiği ve denklemi oluşturuldu. Bu denklemde örneklerden alınan absorbans sonuçları (x) yerine konularak serum melatonin sonuçları pg/ml olarak elde edildi.



Şekil 28. Serum melatonin standart eğim grafiği ve denklemi

3.2.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 22.0 programı kullanıldı. Çalışmanın biyokimyasal sonuçları ortalama±standart sapma ($X \pm SD$) olarak verildi ve 0.05'in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

Veriler, Lilliefors düzeltmeli Kolmogorov-Smirnov normallik testi veya George, D. & Mallery, M. (2010) çarpıklık ve basıklık değerler üzerinden yaptıkları normallik testi ile değerlendirildi. Veriler normal dağılıma uyduğu için gruplar, parametrik test olan One-Way ANOVA ile karşılaştırıldı. Gruplar arasındaki farklılığın önemlilik derecelerinin belirlenmesini sağlayan *Post Hoc* testinin seçimi için ise Levene testi ile varyans homojenliği sınanarak karar verildi. Gruplardaki örnek sayısının eşit olması göz önünde bulundurularak ve Levene testi ile varyans homojenliği sağlayan veriler için *Post Hoc* Testlerinden Tukey HSD testi ile kullanıldı. Levene testi ile varyans homojenliği sağlamayan veriler için ise *Post Hoc* Testlerinden Dunnett T3 testi kullanılmıştır.

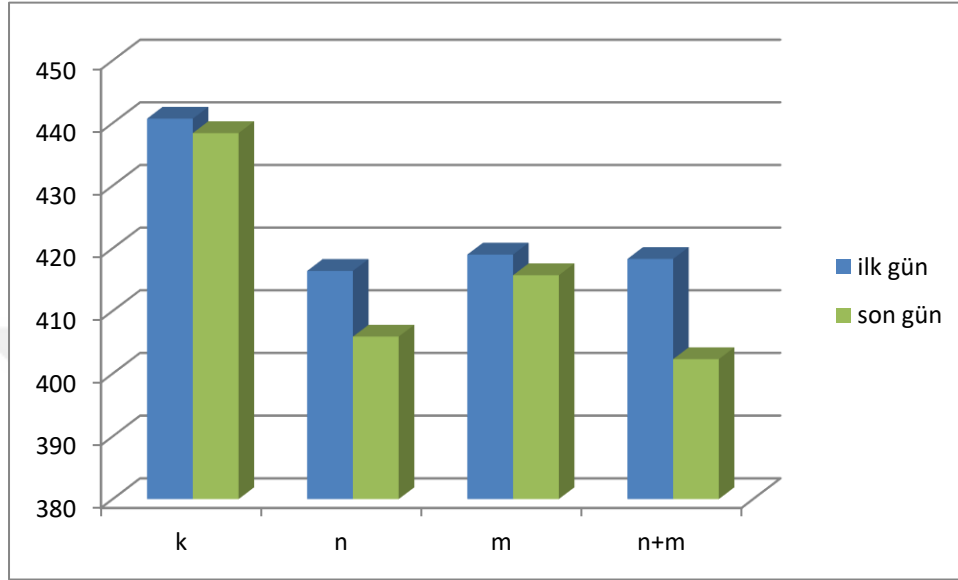
Ayrıca One way Anova ile *Post Hoc* testi uygulamasında p değeri anlamlı çıkan ikili gruplara, diğer grup ortalamalarından bağımsız olması açısından ve etki büyüklüğünü görmek amacıyla bağımsız örneklem t testi uygulandı.

Buna ek olarak gruplarda tüm örneklerin dahil edildiği parametreler arasında Pearson korelasyon analizi yapıldı.



4. BULGULAR

4.1. Çalışma Boyunca Vücut Ağırlığında Olan Değişime ait Bulgular



Şekil 29. Çalışma gruplarında ağırlık değişimi (gr)

Tablo 12. Çalışmada oluşan kilo kaybının bağımlı örneklem t testi sonuçları

	Kontrol	Niasin	Melatonin	Niasin+melatonin
İlk gün ort. (gr)	440,7	416,4	419	418,3
Son gün ort. (gr)	438,4	405,9	415,7	402,3
Fark (gr)	2,3	10,5	3,3	16
T	1,38	7,070	2,170	11,853
P (sig.)	0,201	0,000*	0,058	0,000*

* Ortalama fark $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı.

Her bir grupta bulunan ratların egzersizdeki ilk ve son gün vücut ağırlıklarının tartım sonuçları bağımlı t örneklem testi ile sınıandı. Toplam vücut ağırlıklarına göre, egzersiz boyunca oluşan kilo kaybı niasin ve niasin + melatonin gruplarında anlamlı bulunmuştur.

Tablo 13. Kilo kaybı anlamlı çıkan grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları

Grup 1- Grup 2	t	P	d
Niasin- niasin+ melatonin	-2,741	0,014	1,225814

d: etki büyüklüğü. t değerlerinde bulunan (-), değer yönünü belirtmek için kullanılmıştır.

Kilo kaybı anlamlı çıkan niasin ve niasin + melatonin grupları arasındaki fark, bağımsız t örneklem testi ile sınıandı. Niasin grubunun kilo kaybı, niasin+melatonin grubunun kilo kaybından anlamlı derecede düşük bulunmuştur $p<0.05$.

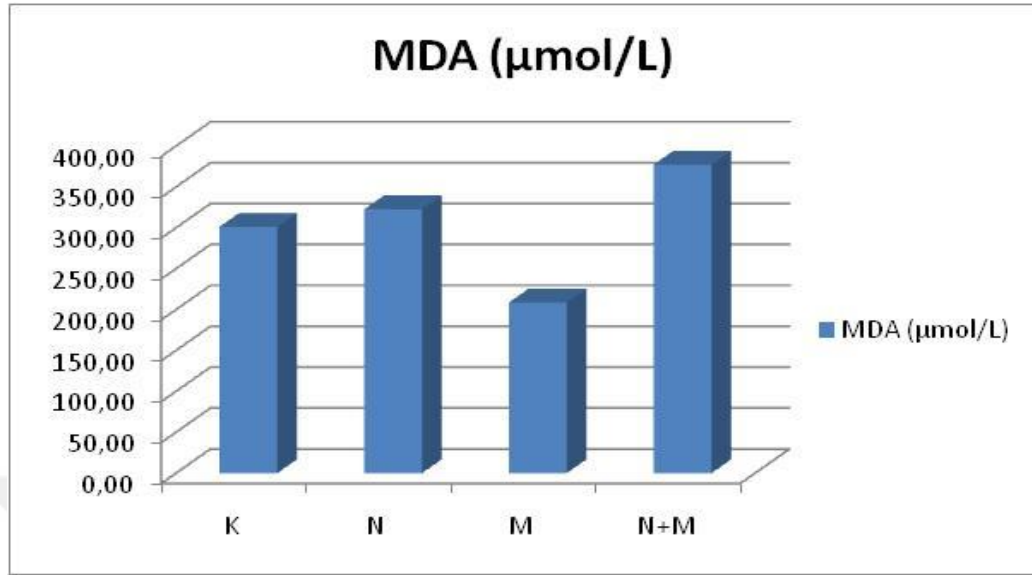
4.2. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 14. Gruplarda bakılan tüm parametrelerin ortalamaları ve standart sapma değerleri

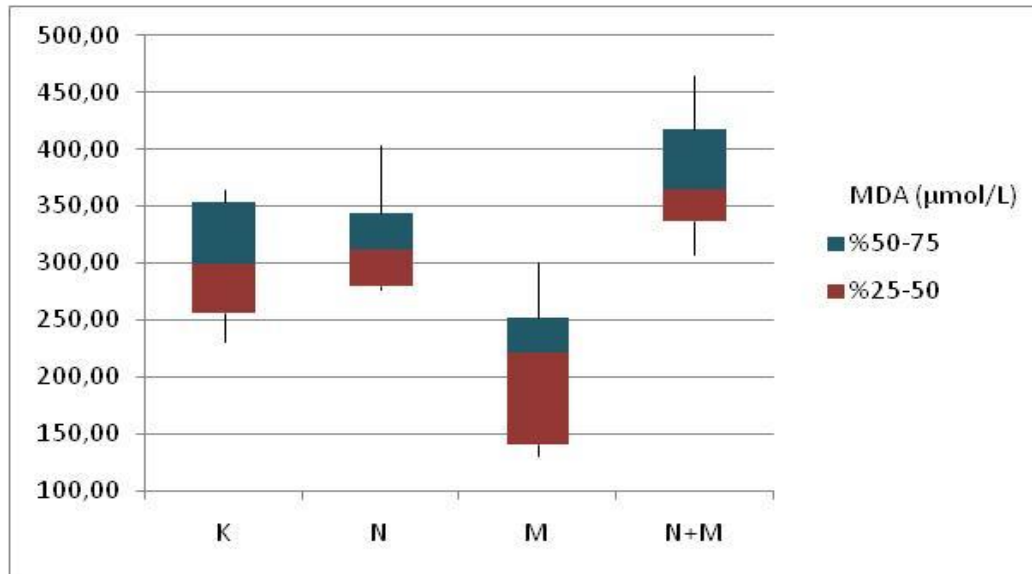
	Kontrol	Niasin	Melatonin	Niasin+melatonin
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	301,17 $\pm$ 52,6	322,67 $\pm$ 50,07	208,67 $\pm$ 67,48	377,33 $\pm$ 53,72
SOD(U/ml)	8,74 $\pm$ 1,08	8,37 $\pm$ 1,01	12,52 $\pm$ 2,57	6,01 $\pm$ 0,61
KAT (k/gr Hb)	9,12 $\pm$ 2,4	8,19 $\pm$ 2,48	11,47 $\pm$ 2,19	6,95 $\pm$ 1,95
GPX (U/L)	526,00 $\pm$ 99,54	1033,44 $\pm$ 198,05	1029,92 $\pm$ 249,34	1152,33 $\pm$ 313,19
GST(U/mL)	7,50 $\pm$ 0,67	6,5 $\pm$ 0,97	6,07 $\pm$ 0,58	5,52 $\pm$ 0,72
TOS(μmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	11,46 $\pm$ 2,01	15,43 $\pm$ 2,69	13,69 $\pm$ 3,31	14,89 $\pm$ 2,99
TAS(μmol Trolox Equiv./L)	797,61 $\pm$ 44,2	1188,83 $\pm$ 54,27	1205,32 $\pm$ 38,84	1113,56 $\pm$ 72,11
MEL (pg/ml)	135,72 $\pm$ 26,81	142,80 $\pm$ 24,80	189,09 $\pm$ 39,85	189,71 $\pm$ 31,48

Tüm sonuçlara ait $\bar{X} \pm \text{SD}$ Tablo 4.3. da gösterilmiştir.

4.2.1. Kontrol ve Deney Gruplarının MDA Sonuçları



Şekil 30. MDA ortalama değerleri



Şekil 31. MDA konsantrasyon düzeylerinin grup içi dağılımı

Tablo 15. MDA aktivite ortalama ve standart sapma değerleri

	N	X (μmol/L)	S.D.
Kontrol	10	301,17	52,6
Niasin	10	322,67	50,07
Melatonin	10	208,67	67,48
Niasin+Melatonin	10	377,33	53,72

Her bir grup Lilliefors düzeltmeli Kolmogorov-Smirnov Normallik testi ile değerlendirildi MDA aktivite değerleri açısından grupların dağılımı normaldir.

Levene testi ile sınanmış olan varyans homojenliği varsayımı sonucu anlamlılık değeri olarak belirlenen $p < 0.05$ değerinden yüksek olarak bulunmuştur $F(3,36)=0,760$ $P > 0.05$. Bu duruma göre ve gruplardaki örnek sayısı da eşit olduğundan *Post Hoc* testi olarak Tukey HSD testi kullanılmıştır.

Tablo 16. Tukey testi ile gruplar arasındaki MDA aktivite değerleri ortalama farkları ve P değerleri ve %95 Güven aralığı

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark (Grup 1-Grup 2)	P	%95 Güven aralığı	
				Alt bant	Üst bant
Kontrol	Niasin	-21,50	,829	-89,40	46,40
	Melatonin	92,50*	,004	24,60	160,40
	niasin+ melatonin	-76,17*	,023	-144,07	-8,27
Niasin	Kontrol	21,50	,829	-46,40	89,40
	Melatonin	114,00*	,000	46,10	181,90
	niasin+ melatonin	-54,67	,152	-122,57	13,23
Melatonin	Kontrol	-92,50*	,004	-160,40	-24,60
	Niasin	-114,00*	,000	-181,90	-46,10
	niasin+ melatonin	-168,67*	,000	-236,57	-100,77
niasin+ melatonin	Kontrol	76,17*	,023	8,27	144,07
	Niasin	54,67	,152	-13,23	122,57
	Melatonin	168,67*	,000	100,77	236,57

* Ortalama fark $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı.

MDA düzeylerini karşılaştırma amacıyla yapılan One Way Anova *Post Hoc* Tukey testi ile;

*kontrol grubu ile melatonin grubu,

*kontrol grubu ile niasin+ melatonin grubu,

*niasin grubu ile melatonin grubu ve

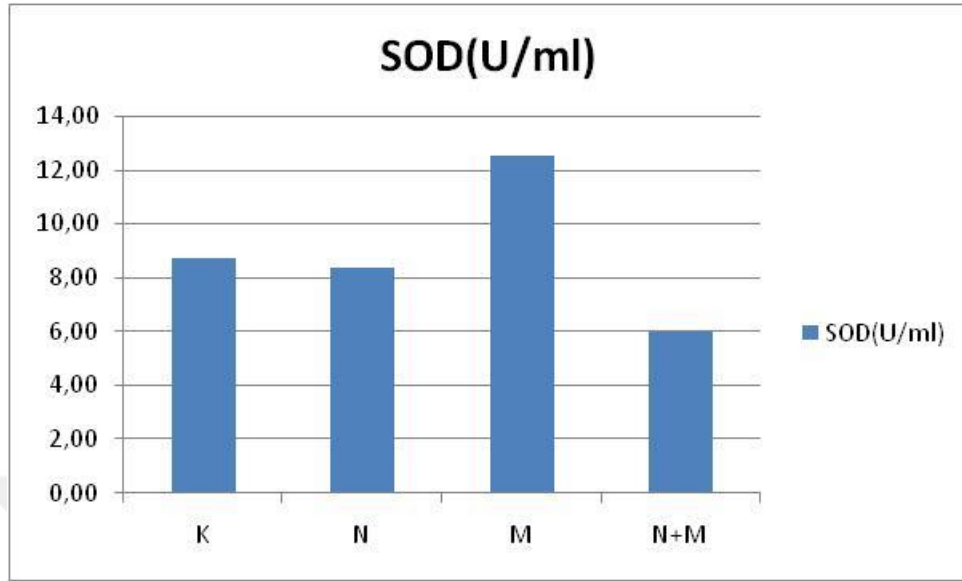
*melatonin grubu ile niasin+ melatonin grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuştur $P < 0,05$. Anlamlılık kontrolü açısından güven aralığına bakıldığında sıfır(0) değerini içermemektedir. Bu durum anlamlılık açısından doğruluğunu göstermektedir.

Tablo 17. MDA aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların Bağımsız örneklem T testi sonuçları ve etki büyüklüğü

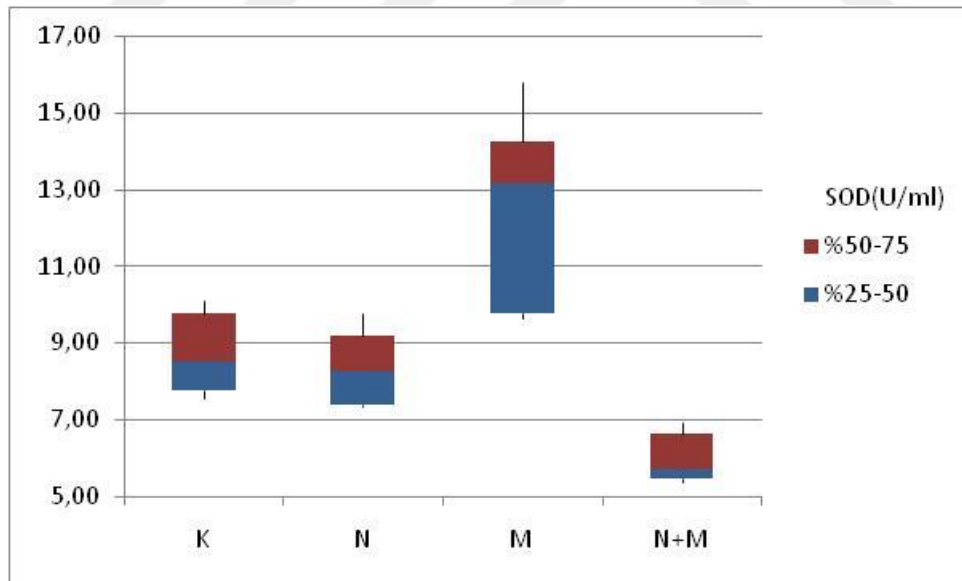
Grup 1-Grup 2	t	P	d
Kontrol-melatonin	3,419	0,003	1,529025
Kontrol-niasin+ melatonin	-3,204	0,005	1,432874
Niasin-melatonin	4,29	0,000	1,918548
Melatonin-niasin+ melatonin	-6,184	0,000	2,765571

d: etki büyüklüğü. t değerlerinde bulunan (-), değer yönünü belirtmek için kullanılmıştır.

4.2.2. Kontrol ve Deney Gruplarının SOD Aktivite Sonuçları



Şekil 32. SOD ortalama değerleri



Şekil 33. SOD aktivitesinin grup içi dağılımı

Tablo 18. SOD aktivite ortalama ve standart sapma değerleri

	N	X (U/ml)	S.D.
Kontrol	10	8,74	1,08
Niasin	10	8,37	1,01
Melatonin	10	12,52	2,57
Niasin+Melatonin	10	6,01	0,61

Her bir grup Lilliefors düzeltmeli Kolmogorov-Smirnov Normallik testi ile değerlendirildi. SOD aktivitesi değerleri açısından grupların dağılımı normaldir.

Levene testi ile sınanmış olan varyans homojenliği varsayımı sonucu anlamlılık değeri olarak belirlenen $p < 0.05$ değerinden düşük olarak bulunmuştur. Bu duruma göre *Post Hoc* testi olarak Dunnett T3 testi kullanılmıştır.

Tablo 19. Dunnett T3 testi ile gruplar arasındaki SOD aktivite değerleri ortalama farkları ve P değerleri ve %95 güven aralığı

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark (Grup 1-Grup 2)	P	%95 Güven aralığı	
				Alt bant	Üst bant
Kontrol	Niasin	0,36825	,961	-1,00	1,74
	Melatonin	-3,77778*	,006	-6,50	-1,05
	niasin+ melatonin	2,73016*	,000	1,55	3,91
Niasin	Kontrol	-0,36825	,961	-1,74	1,00
	Melatonin	-4,14603*	,003	-6,86	-1,43
	niasin+ melatonin	2,36190*	,000	1,24	3,48
Melatonin	Kontrol	3,77778*	,006	1,05	6,50
	Niasin	4,14603*	,003	1,43	6,86
	niasin+ melatonin	6,50794*	,000	3,84	9,18
niasin+ melatonin	Kontrol	-2,73016*	,000	-3,91	-1,55
	Niasin	-2,36190*	,000	-3,48	-1,24
	Melatonin	-6,50794*	,000	-9,18	-3,84

* Ortalama fark $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı.

SOD aktivitesi düzeylerini karşılaştırma amacıyla yapılan one way anova *Post Hoc* Dunnett T3 testi ile,

*kontrol grubu ile melatonin grubu,

*kontrol grubu ile niasin+ melatonin grubu,

*niasin grubu ile melatonin grubu

*niasin grubu niasin+ melatonin grubu

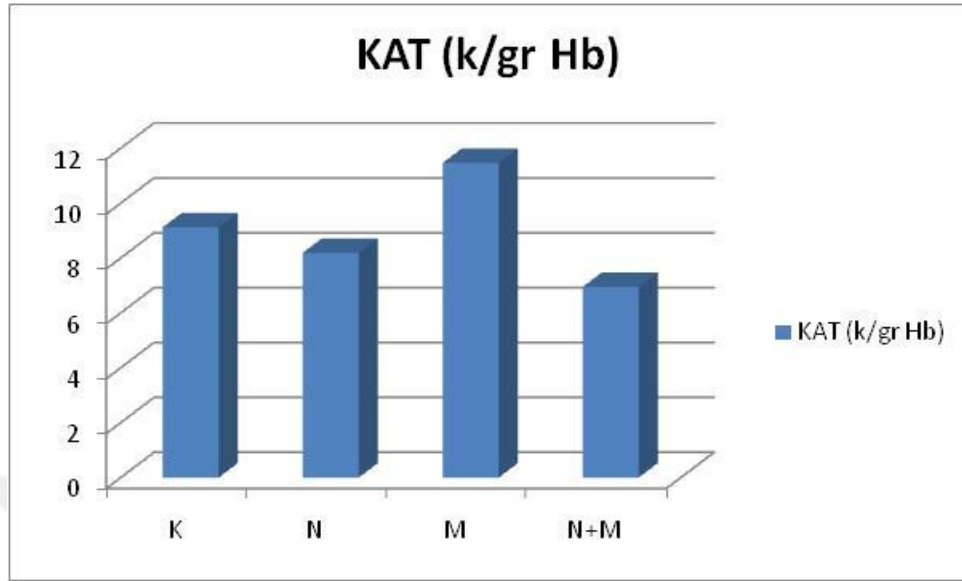
*melatonin grubu ile niasin+ melatonin grubu arasındaki fark, anlamlı bulunmuştur $P < 0,05$. Anlamlılık kontrolü açısından güven aralığına bakıldığında sıfır(0) değerini içermemektedir. Bu durum anlamlılık açısından doğruluğunu göstermektedir.

Tablo 20. SOD aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü

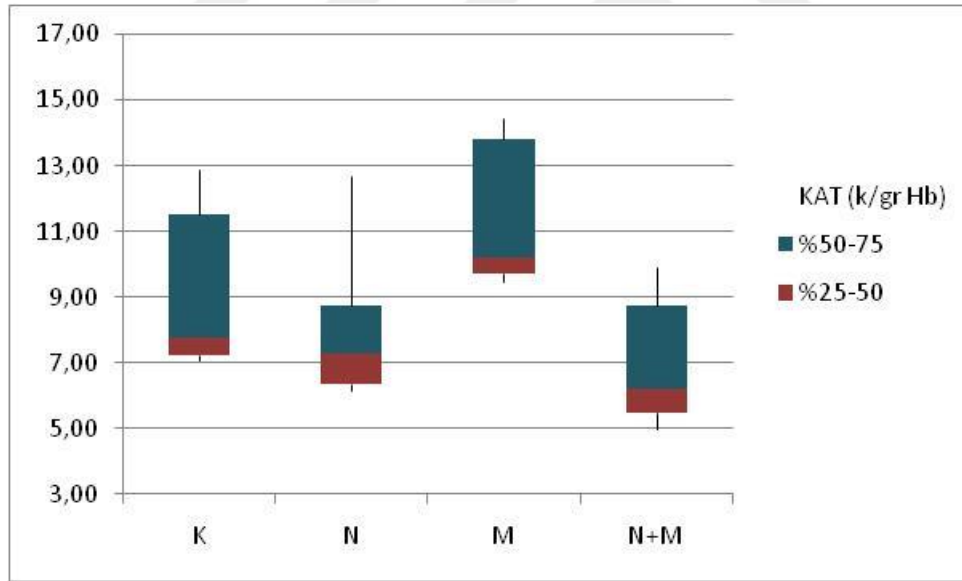
Grup 1-Grup 2	t	P	d
Kontrol-melatonin	-4,287	0,001	1,917206
Kontrol-niasin+ melatonin	6,955	0,000	3,110373
Niasin-melatonin	-4,751	0,001	2,124714
Niasin-niasin+ melatonin	6,331	0,000	2,831312
Melatonin -niasin+ melatonin	7,795	0,000	3,486029

d: etki büyüklüğü. t değerlerinde bulunan (-), değer yönünü belirtmek için kullanılmıştır.

4.2.3. Kontrol ve Deney Gruplarının Katalaz Aktiviteleri



Şekil 34. Katalaz ortalama değerleri



Şekil 35. Katalaz aktivitesinin grup içi dağılımı

Tablo 21. Katalaz aktivite ortalama ve standart sapma değerleri

	N	X (k/gr Hb)	S.D.
Kontrol	10	9,12	2,40
Niasin	10	8,19	2,48
Melatonin	10	11,47	2,19
Niasin+Melatonin	10	6,95	1,95

Her bir grup George ve Mallery'nin 2010 yılında arpıklık ve basıklık değerler üzerinden yaptıkları normallik testi ile değerlendirildi. Katalaz değerleri acısından grupların dağılımı normaldir.

Levene testi ile sınanmış olan varyans homojenliği varsayımı sonucu anlamlılık değeri olarak belirlenen $p < 0.05$ değerinden yüksek olarak bulunmuştur $F(3,36)=0,391$ $P > 0.05$. Bu duruma göre ve gruplardaki örnek sayısı da eşit olduğundan *Post Hoc* testi olarak Tukey HSD testi kullanılmıştır.

Tablo 22. Tukey testi ile gruplar arasındaki Katalaz aktivite değerleri ortalama farkları ve P değerleri ve %95 güven aralığı

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark (Grup 1-Grup 2)	P	%95 Güven aralığı	
				Alt bant	Üst bant
Kontrol	Niasin	0,94	,791	-1,79	3,66
	Melatonin	-2,35	,112	-5,08	0,38
	niasin+ melatonin	2,18	,157	-0,55	4,90
Niasin	Kontrol	-0,94	,791	-3,66	1,79
	Melatonin	-3,29*	,013	-6,01	-0,56
	niasin+ melatonin	1,24	,615	-1,49	3,97
Melatonin	Kontrol	2,35	,112	-0,38	5,08
	Niasin	3,29*	,013	0,56	6,01
	niasin+ melatonin	4,53*	,000	1,80	7,25
niasin+ melatonin	Kontrol	-2,18	,157	-4,90	0,55
	Niasin	-1,24	,615	-3,97	1,49
	Melatonin	-4,53*	,000	-7,25	-1,80

* Ortalama fark $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı.

Katalaz aktivite düzeylerini karşılaştırma amacıyla yapılan one way anova *Post Hoc* Tukey HSD testi ile

* niasin grubu ile melatonin grubu,

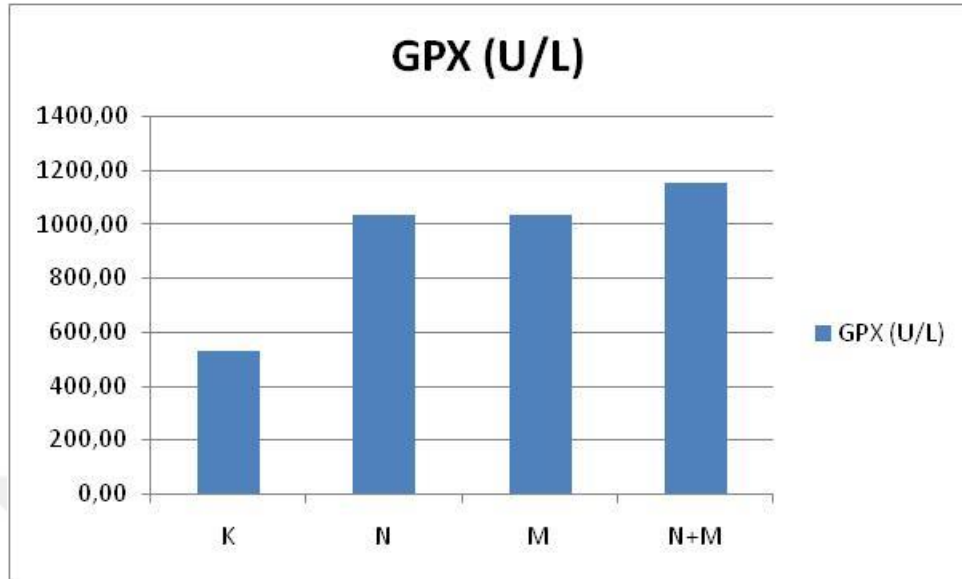
*melatonin grubu ile niasin+ melatonin grubu arasındaki fark, anlamlı bulunmuştur $P < 0,05$. Anlamlılık kontrolü açısından güven aralığına bakıldığında sıfır(0) değerini içermemektedir. Bu durum anlamlılık açısından doğruluğunu göstermektedir.

Tablo 23. Katalaz aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü

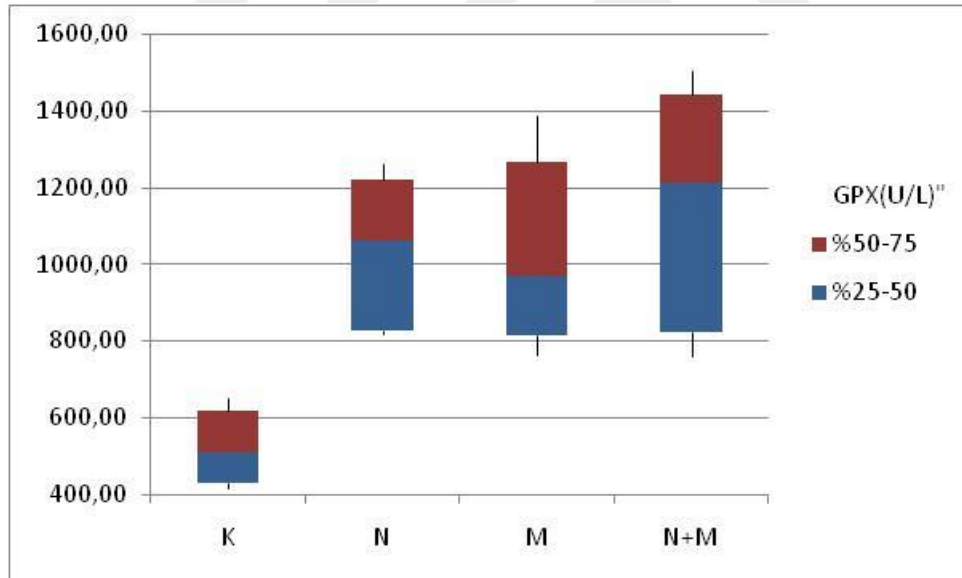
Grup 1-Grup 2	t	P	d
Niasin-Melatonin	-3,286	0,006	1,469545
Melatonin-niasin+ melatonin	4,885	0,000	2,18464

d: etki büyüklüğü. t değerlerinde bulunan (-), değer yönünü belirtmek için kullanılmıştır.

4.2.4. Kontrol ve Deney Gruplarının GPX Aktiviteleri



Şekil 36. GPX ortalama değeri



Şekil 37. GPX aktivitesinin grup içi dağılımı

Tablo 24. GPX aktivite ortalama ve standart sapma değerleri

	N	X (U/L)	S.D.
Kontrol	10	526,01	99,54
Niasin	10	1033,44	198,05
Melatonin	10	1029,92	249,34
Niasin+Melatonin	10	1152,33	313,19

Her bir grup Lilliefors düzeltmeli Kolmogorov-Smirnov Normallik testi ile değerlendirildi GPX değerleri açısından grupların dağılımı normaldir.

Levene testi ile sınanmış olan varyans homojenliği varsayımı sonucu anlamlılık değeri olarak belirlenen $p < 0.05$ değerinden düşük olarak bulunmuştur. Bu duruma göre *Post Hoc* testi olarak Dunnett T3 testi kullanılmıştır.

Tablo 25. Dunnett T3 testi ile gruplar arasındaki GPX aktivitesi değerleri ortalama farkları, P değerleri ve %95 güven aralığı

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark (Grup 1-Grup 2)	P	%95 Güven aralığı	
				Alt bant	Üst bant
Kontrol	Niasin	-507,44*	,000	-720,92	-293,95
	Melatonin	-503,91*	,000	-767,39	-240,44
	niasin+ melatonin	-626,33*	,001	-953,91	-298,74
Niasin	Kontrol	507,44*	,000	293,95	720,92
	Melatonin	3,52	1,000	-293,08	300,13
	niasin+ melatonin	-118,89	,883	-469,10	231,32
Melatonin	Kontrol	503,91*	,000	240,44	767,39
	Niasin	-3,52	1,000	-300,13	293,08
	niasin+ melatonin	-122,41	,904	-495,27	250,44
niasin+ melatonin	Kontrol	626,33*	,001	298,74	953,91
	Niasin	118,89	,883	-231,32	469,10
	Melatonin	122,41	,904	-250,44	495,27

* Ortalama fark $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı.

GPX düzeylerini karşılaştırma amacıyla yapılan one way anova *Post Hoc* Dunnett T3 testi ile;

*kontrol grubu ile niasin grubu,

*kontrol grubu ile melatonin grubu,

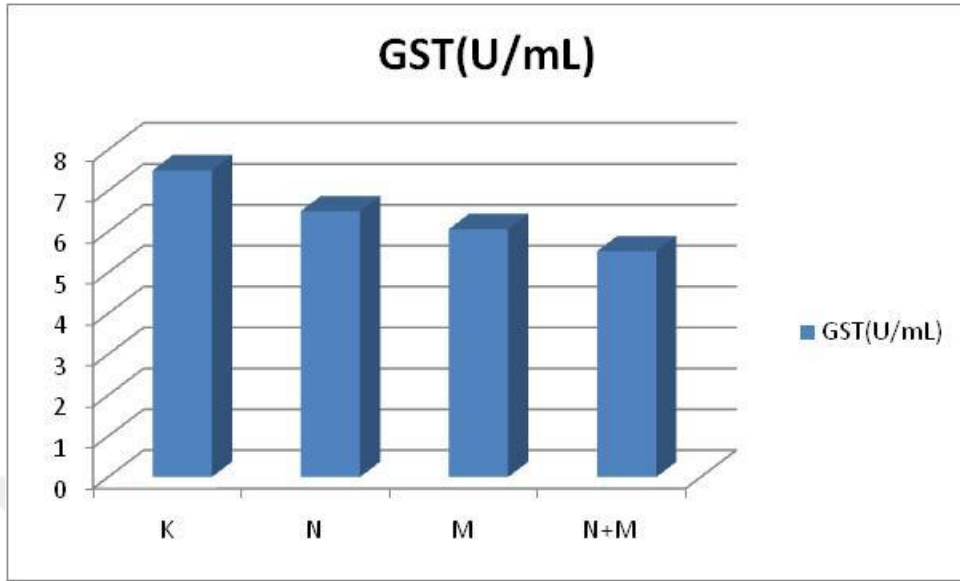
*kontrol grubu ile niasin+ melatonin grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuştur $P < 0,05$. Anlamlılık kontrolü açısından güven aralığına bakıldığında sıfır(0) değerini içermemektedir. Bu durum anlamlılık açısından doğruluğunu göstermektedir.

Tablo 26. GPX aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü

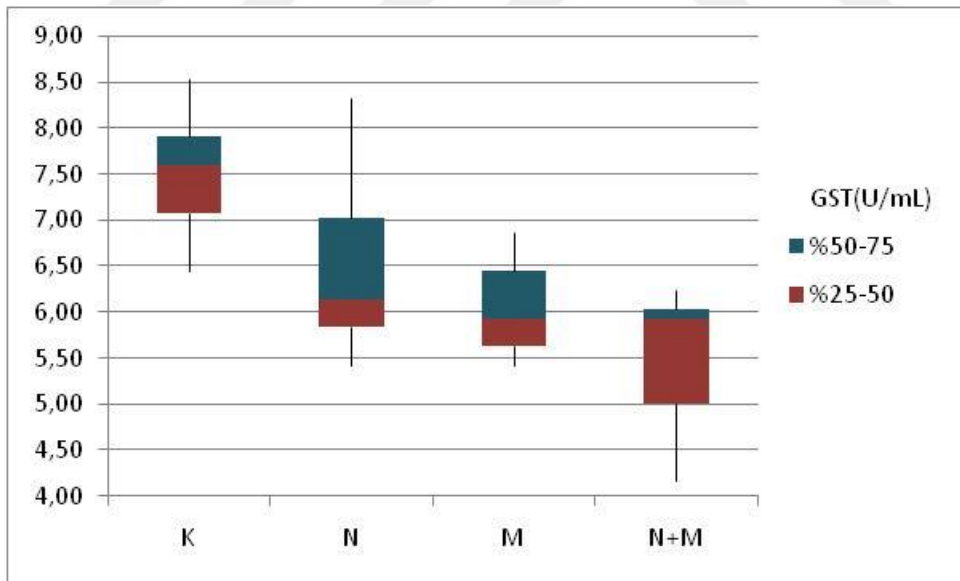
Grup 1-Grup 2	t	P	D
Kontrol-Niasin	-7,239	0,000	3,237382
Kontrol-Melatonin	-5,935	0,000	2,654215
Kontrol-niasin+ melatonin	-6,027	0,000	2,695359

d: etki büyüklüğü. t değerlerinde bulunan (-), değerin yönünü belirtmek için kullanılmıştır.

4.2.5. Kontrol ve Deney Gruplarının GST Aktiviteleri



Şekil 38. GST ortalama değerleri



Şekil 39. GST aktivitesinin grup içi dağılımı

Tablo 27. GST aktivite ortalama ve standart sapma değerleri

	N	X (U/mL)	S.D.
Kontrol	10	7,50	0,67
Niasin	10	6,50	0,97
Melatonin	10	6,07	0,58
Niasin+Melatonin	10	5,52	0,72

Her bir grup George ve Mallery'nin 2010 yılında arpıklık ve basıklık değerler üzerinden yaptıkları normallik testi ile değerlendirildi GST değerleri acısından grupların dağılımı normaldir.

Levene testi ile sınanmış olan varyans homojenliği varsayımı sonucu anlamlılık değeri olarak belirlenen $p < 0.05$ değerinden yüksek olarak bulunmuştur $F(3,36)=1,407$ $P > 0.05$. Bu duruma göre ve gruplardaki örnek sayısı da eşit olduğundan *Post Hoc* testi olarak Tukey HSD testi kullanılmıştır.

Tablo 28. Tukey HSD testi ile gruplar arasındaki GST aktivite değerleri ortalama farkları, P değerleri ve %95 Güven aralığı

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark (Grup 1-Grup 2)	P	%95 Güven aralığı	
				Alt bant	st bant
Kontrol	Niasin	1,00*	,024	,10	1,90
	Melatonin	1,44*	,001	,54	2,33
	niasin+ melatonin	1,98*	,000	1,08	2,88
Niasin	Kontrol	-1,00*	,024	-1,90	-,10
	Melatonin	0,43	,569	-,47	1,33
	niasin+ melatonin	0,98*	,028	,08	1,88
Melatonin	Kontrol	-1,44*	,001	-2,33	-,54
	Niasin	-0,43	,569	-1,33	,47
	niasin+ melatonin	0,55	,372	-,35	1,45
niasin+ melatonin	Kontrol	-1,98*	,000	-2,88	-1,08
	Niasin	-0,98*	,028	-1,88	-,08
	Melatonin	-0,55	,372	-1,45	,35

* Ortalama fark $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı.

GST düzeylerini karşılaştırma amacıyla yapılan one way anova *Post Hoc* Tukey HSD testi ile;

*kontrol grubu ile niasin grubu,

*kontrol grubu melatonin grubu

*kontrol grubu niasin+ melatonin grubu,

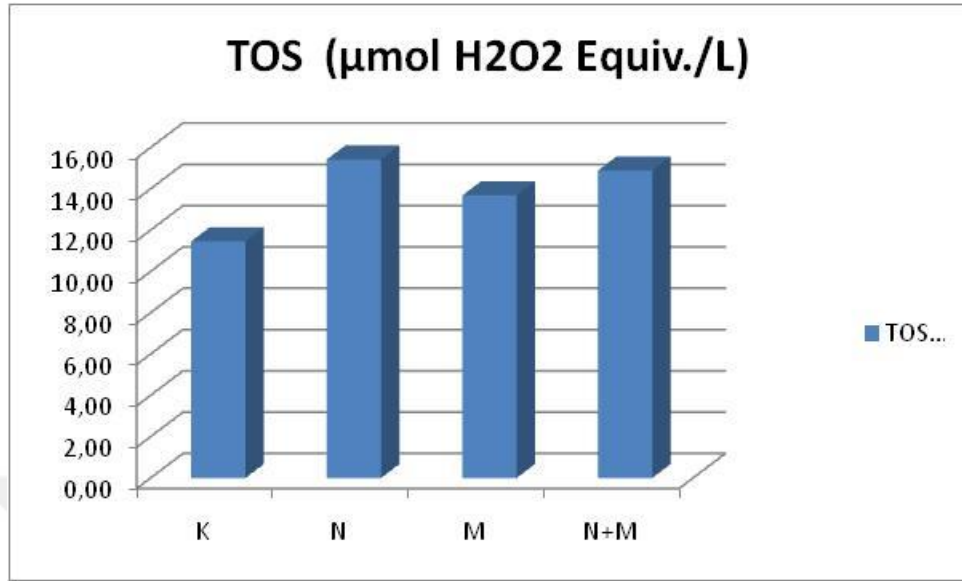
*niasin grubu ile niasin+ melatonin grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuştur $P < 0,05$. Anlamlılık kontrolü açısından güven aralığına bakıldığında sıfır(0) değerini içermemektedir. Bu durum anlamlılık açısından doğruluğunu göstermektedir.

Tablo 29. GST aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların Bağımsız örneklem T testi sonuçları ve etki büyüklüğü

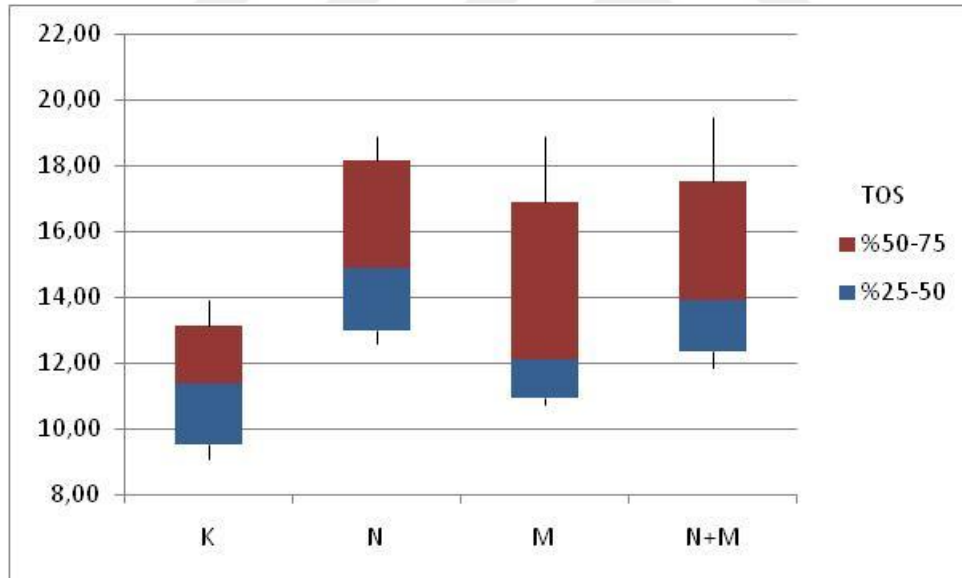
Grup 1-Grup 2	t	P	d
Kontrol-Niasin	2,698	0,015	1,206583
Kontrol-Melatonin	5,119	0,000	2,289288
Kontrol-niasin+ melatonin	6,406	0,000	2,864853
Niasin-niasin+ melatonin	2,579	0,019	1,153365

d: etki büyüklüğü. t değerlerinde bulunan (-), değerin yönünü belirtmek için kullanılmıştır.

4.2.6. Kontrol ve Deney Gruplarının TOS Düzeyleri



Şekil 40. TOS ortalama değerleri



Şekil 41. TOS aktivitesinin grup içi dağılımı

Tablo 30. TOS ortalama ve standart sapma değerleri

	N	X ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	S.D.
Kontrol	10	11,46	2,01
Niasin	10	15,43	2,69
Melatonin	10	13,69	3,31
Niasin+Melatonin	10	14,89	2,99

Her bir grup Lilliefors d¼zeltmeli Kolmogorov-Smirnov Normallik testi ile değerlendirildi TOS değerleri acısından grupların dağılımı normaldir.

Levene testi ile sınanmış olan varyans homojenliği varsayımı sonucu anlamlılık değeri olarak belirlenen $p < 0.05$ değerinden y¼ksek olarak bulunmuştur $F(3,36)=1,675$ $P > 0.05$. Bu duruma g¼re ve gruplardaki ¼rnek sayısı da eşit olduğundan *Post Hoc* testi olarak Tukey HSD testi kullanılmıştır.

Tablo 31. Tukey HSD testi ile Gruplar arasındaki TOS değerleri ortalama farkları, P değerleri ve %95 g¼ven aralığı

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark (Grup 1-Grup 2)	P	%95 G¼ven aralığı	
				Alt bant	¼st bant
Kontrol	Niasin	-3,96*	0,015	-7,32	-0,60
	Melatonin	-2,22	0,298	-5,58	1,14
	niasin+ melatonin	-3,43*	0,044	-6,79	-0,07
Niasin	Kontrol	3,96*	0,015	0,60	7,32
	Melatonin	1,74	0,511	-1,62	5,10
	niasin+ melatonin	0,54	0,973	-2,82	3,90
Melatonin	Kontrol	2,22	0,298	-1,14	5,58
	Niasin	-1,74	0,511	-5,10	1,62
	niasin+ melatonin	-1,20	0,770	-4,56	2,16
niasin+ melatonin	Kontrol	3,43*	0,044	0,07	6,79
	Niasin	-0,54	0,973	-3,90	2,82
	Melatonin	1,20	0,770	-2,16	4,56

* Ortalama fark $P < 0,05$ d¼zeyinde anlamlı.

TOS düzeylerini karşılaştırma amacıyla yapılan one way anova *Post Hoc* Tukey HSD testi ile;

*kontrol grubu ile niasin grubu,

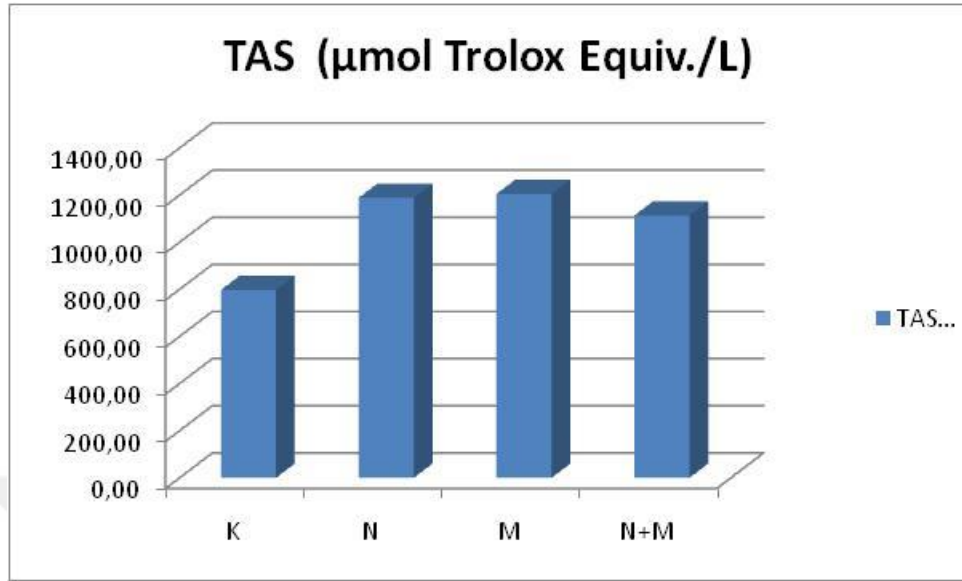
*kontrol grubu ile niasin+ melatonin grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuştur $P < 0,05$. Anlamlılık kontrolü açısından güven aralığına bakıldığında sıfır(0) değerini içermemektedir. Bu durum anlamlılık açısından doğruluğunu göstermektedir.

Tablo 32. TOS aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü

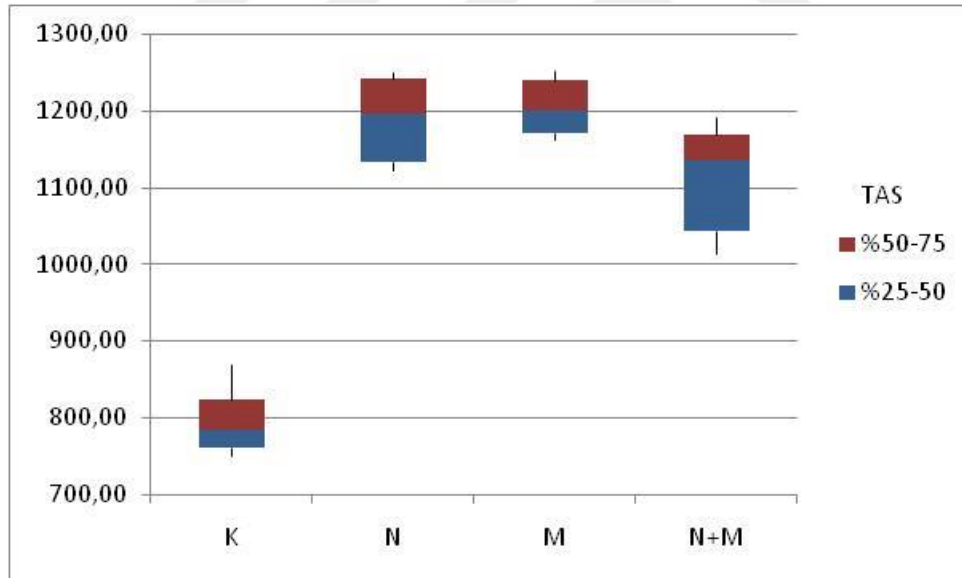
Grup 1-Grup 2	t	P	d
Kontrol-Niasin	-3,734	0,002	1,669897
Kontrol-niasin+ melatonin	-3,013	0,008	1,347456

d: etki büyüklüğü. t değerlerinde bulunan (-), değer yönünü belirtmek için kullanılmıştır.

4.2.7. Kontrol ve Deney Gruplarının TAS Düzeyleri



Şekil 42. TAS ortalama değerleri



Şekil 43. TAS aktivitesinin grup içi dağılımı

Tablo 33. TAS ortalama ve standart sapma değerleri

	N	X ($\mu\text{mol Trolox Equiv./L}$)	S.D.
Kontrol	10	797,61	44,19
Niasin	10	1188,83	54,27
Melatonin	10	1205,32	38,84
Niasin+Melatonin	10	1113,56	72,11

Her bir grup Lilliefors d¼zeltmeli Kolmogorov-Smirnov Normallik testi ile değerlendirildi TAS değerleri acısından grupların dağılımı normaldir

Levene testi ile sınanmış olan varyans homojenliği varsayımı sonucu anlamlılık değeri olarak belirlenen $p < 0.05$ değerinden y¼ksek olarak bulunmuştur $F(3,36)=2,851$ $P > 0.05$. Bu duruma g¼re ve gruplardaki ¼rnek sayısı da eşit olduğundan *Post Hoc* testi olarak Tukey HSD testi kullanılmıştır.

Tablo 34. Tukey HSD testi ile Gruplar arasındaki TAS aktivite değerleri ortalama farkları, P değerleri ve %95 G¼ven aralığı

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark (Grup 1-Grup 2)	P	%95 G¼ven aralığı	
				Alt bant	¼st bant
Kontrol	Niasin	-391,22*	,000	-456,10	-326,34
	Melatonin	-407,71*	,000	-472,59	-342,83
	niasin+ melatonin	-315,96*	,000	-380,84	-251,08
Niasin	Kontrol	391,22*	,000	326,34	456,10
	Melatonin	-16,48	,902	-81,37	48,39
	niasin+ melatonin	75,27*	,018	10,39	140,15
Melatonin	Kontrol	407,71*	,000	342,83	472,59
	Niasin	16,48	,902	-48,39	81,37
	niasin+ melatonin	91,75*	,003	26,87	156,63
niasin+ melatonin	Kontrol	315,96*	,000	251,08	380,84
	Niasin	-75,26*	,018	-140,15	-10,39
	Melatonin	-91,75*	,003	-156,63	-26,87

* Ortalama fark $P < 0,05$ d¼zeyinde anlamlı.

TAS düzeylerini karşılaştırma amacıyla yapılan One Way Anova *Post Hoc* Tukey HSD testi ile;

*kontrol grubu ile niasin grubu,

*kontrol grubu ile melatonin grubu,

*kontrol grubu ile niasin+ melatonin grubu,

*niasin grubu ile niasin+ melatonin grubu,

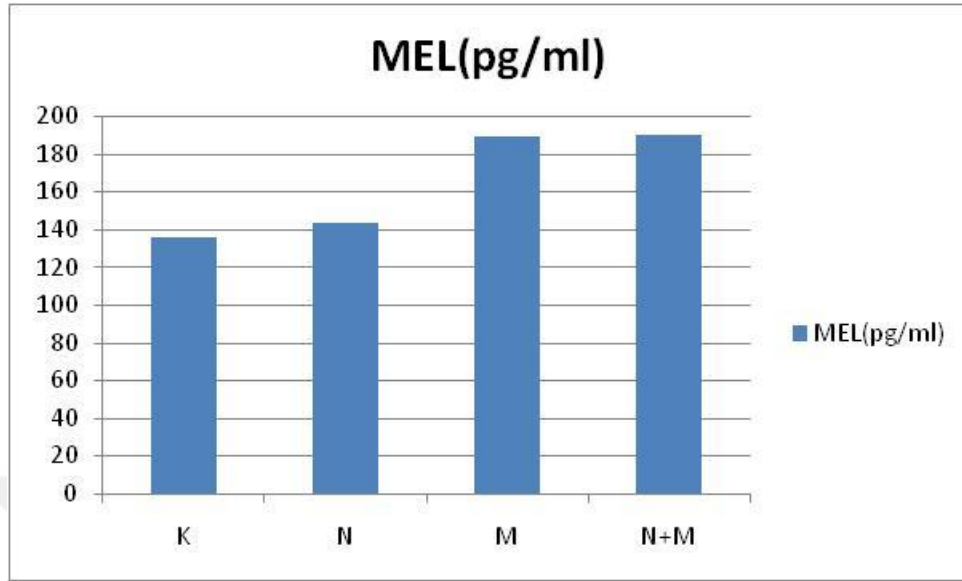
*melatonin grubu ile niasin+ melatonin grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuştur $P < 0,05$. Anlamlılık kontrolü açısından güven aralığına bakıldığında sıfır(0) değerini içermemektedir. Bu durum anlamlılık açısından doğruluğunu göstermektedir.

Tablo 35. TAS aktivite değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü

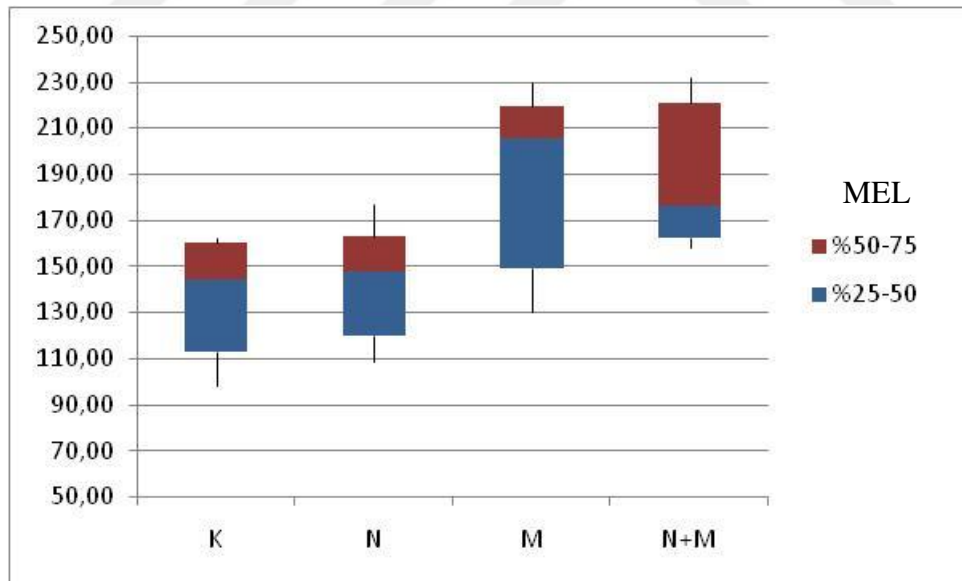
Grup 1-Grup 2	t	P	d
Kontrol-Niasin	-17,676	0,000	7,904955
Kontrol-Melatonin	-21,914	0,000	9,800248
Kontrol-niasin+ melatonin	-11,814	0,000	5,283386
Niasin-niasin+ melatonin	2,637	0,017	1,179303
Melatonin-niasin+ melatonin	3,543	0,018	1,584479

d: etki büyüklüğü. t değerlerinde bulunan (-), değer yönünü belirtmek için kullanılmıştır.

4.2.8. Kontrol ve Deney Gruplarının Serum Melatonin Düzeyleri



Şekil 4.16. Serum melatonin ortalama değerleri



Şekil 44. Serum melatonin sonuçlarının grup içi dağılımı

Tablo 36. Serum melatonin ortalama ve standart sapma değerleri

	N	X (pg/ml)	S.D.
Kontrol	10	135,72	26,81
Niasin	10	142,80	24,80
Melatonin	10	189,09	39,85
Niasin+Melatonin	10	189,71	31,48

Her bir grup Lilliefors düzeltmeli Kolmogorov-Smirnov Normallik testi ile değerlendirildi Melatonin değerleri açısından grupların dağılımı normaldir..

Levene testi ile sınanmış olan varyans homojenliği varsayımı sonucu anlamlılık değeri olarak belirlenen $p < 0.05$ değerinden yüksek olarak bulunmuştur $F(3,36)=2,032$ $P > 0.05$. Bu duruma göre ve gruplardaki örnek sayısı da eşit olduğundan *Post Hoc* testi olarak Tukey HSD testi kullanılmıştır.

Tablo 37. Tukey HSD testi ile gruplar arasındaki serum melatonin değerleri ortalama farkları, P değerleri ve %95 güven aralığı

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark (Grup 1-Grup 2)	P	%95 Güven aralığı	
				Alt bant	Üst bant
Kontrol	Niasin	-7,08208	,957	-44,7529	30,5888
	Melatonin	-53,37090*	,003	-91,0417	-15,7001
	niasin+ melatonin	-53,98478*	,002	-91,6556	-16,3139
Niasin	Kontrol	7,08208	,957	-30,5888	44,7529
	Melatonin	-46,28882*	,011	-83,9597	-8,6180
	niasin+ melatonin	-46,90270*	,010	-84,5735	-9,2319
Melatonin	Kontrol	53,37090*	,003	15,7001	91,0417
	Niasin	46,28882*	,011	8,6180	83,9597
	niasin+ melatonin	-,61388	1,000	-38,2847	37,0570
niasin+ melatonin	Kontrol	53,98478*	,002	16,3139	91,6556
	Niasin	46,90270*	,010	9,2319	84,5735
	Melatonin	,61388	1,000	-37,0570	38,2847

* Ortalama fark $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı.

Serum melatonin düzeylerini karşılaştırma amacıyla yapılan One Way Anova *Post Hoc* Tukey HSD testi ile;

*kontrol grubu ile melatonin grubu,

*kontrol grubu ile niasin+ melatonin grubu,

*niasin grubu ile melatonin grubu,

*niasin grubu ile niasin+ melatonin grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuştur $P < 0,05$. Anlamlılık kontrolü açısından güven aralığına bakıldığında sıfır(0) değerini içermemektedir. Bu durum anlamlılık açısından doğruluğunu göstermektedir.

Tablo 38. Serum melatonin değerleri ortalama farkları anlamlı çıkan ikili grupların bağımsız örneklem t testi sonuçları ve etki büyüklüğü

Grup 1-Grup 2	t	P	d
Kontrol-Melatonin	-3,514	0,002	1,57151
Kontrol-niasin+ melatonin	-4,129	0,001	1,846547
Niasin- melatonin	-3,119	0,006	1,39486
Niasin-niasin+ melatonin	-3,701	0,002	1,655139

d: etki büyüklüğü. t değerlerinde bulunan (-), değerin yönünü belirtmek için kullanılmıştır.

4.3. Biyokimyasal sonuçların kilo kaybı ile Pearson Korelasyon analizi

Tablo 39. Çalışmada analizi yapılan parametrelerin kilo kaybı ile Pearson Korelasyon analizi

			MDA	SOD	Katalaz	GPX	GST	TOS	TAS	Melatonin
Tüm gruplar	Kilo Kaybı	R	,503**	-,412**	-,535**	,060	-,904**	,663**	,171	,041
		P. (2-yönlü)	,001	,008	,000	,714	,000	,000	,292	,800
		N	40	40	40	40	40	40	40	40
Melatonin takviyesi olmayan gruplar		R	,910**	-,962**	-,929**	-,347	-,830**	,735**	-,114	-,907**
		P. (2-yönlü)	,000	,000	,000	,134	,000	,000	,631	,000
		N	20	20	20	20	20	20	20	20
Niasin takviyesi olmayan gruplar		R	,137	-,004	-,291	,170	-,948**	,897**	,508*	-,119
		P. (2-yönlü)	,566	,987	,213	,474	,000	,000	,022	,616
		N	20	20	20	20	20	20	20	20
Kontrol grubu		R	,959**	-,972**	-,953**	-,981**	-,930**	,942**	-,961**	-,920**
		P. (2-yönlü)	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
		N	10	10	10	10	10	10	10	10

** . Korelasyon önemlilik düzeyi 0.01 (2-yönlü).

* . Korelasyon önemlilik düzeyi 0.05 (2-yönlü).

Çalışmada analizi yapılan parametrelerin kilo kaybı ile Pearson Korelasyon analizine bakıldığında; Kilo kaybı, MDA ile TOS değerleri ile aynı yönlü, SOD, Katalaz, GST, TAS (Niasin takviyesi olmayan gruplarda), Serum Melatonin (Melatonin takviyesi olmayan gruplarda) ve GPX (Sadece kontrol grubunda) değerleri ile zıt yönlü korelasyon vardır.

5. TARTIŞMA

Orta ve ağır düzeyde egzersizin oksidan aktiviteyi artırdığı ve organizmaya zararlı olduğu, sağlığı tehdit edebileceği bilinmektedir. Biz çalışmamızda orta düzeyde egzersiz yaptırdığımız Wistar Albino sıçanlara, antioksidan etkisi olduğu belirtilen, ancak fiziksel aktivitenin tipine göre, etkisinin değişebileceği bildirilen Melatonin ve Niasini ayrı ayrı ve birlikte vererek antioksidan etkisini incelemeyi hedefledik.

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların giderilme hızı bir denge halindedir ve bu olay oksidatif denge olarak tanımlanır. Oksidatif denge olduğu sürece organizma, serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmaktadır. Serbest radikallerin oluşum hızında artma ya da etkisizleştirme hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına sebep olmakta ve bu durum “Oksidatif stres” olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif stres; serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği tanımlamakta olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (Gumieniczek ve ark, 2002).

Oksidatif stresin yaşlanma veya egzersiz gibi birçok fizyolojik durumda ve çeşitli hastalıklarda (inflamasyon, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar ve kanser dahil) rol oynadığı bilinmektedir. Özellikle egzersizin redoks dengesi üzerindeki etkisi yaşa, cinsiyete, eğitim seviyesine ve ayrıca egzersiz yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak son derece karmaşıktır. Düzenli ılımlı eğitim oksidatif stres ve sağlık için yararlı görünse de, aerobik ve anaerobik egzersizin akut ve yorucu çalışmaları ROS aşırı üretimini tetikleyebilir (Pingitore ve ark, 2015).

Egzersiz, serbest oksijen radikallerinin üretimini artırarak oksidatif stres oluşturan bir stres kaynağı olmasına rağmen, antioksidan enzim aktivitesini etkileyerek oksidatif strese karşı direnç gelişmesini sağladığı da bilinmektedir (Aguilo ve ark, 2003). Egzersiz sırasında açığa çıkacak oksidan ve antioksidanların oranı egzersiz şiddetiyle değişim gösterir (Radak ve ark, 2000). Akut tüketici (ağır) ve şiddetli egzersizlerde hasar yapıcı oksidan sistem daha fazla aktive olurken (Atalay ve ark, 2004; Banerjee ve ark, 2003), düzenli ve kısa süreli maksimal olmayan egzersizler ise antioksidan sistemleri daha fazla aktive etmektedir (White ve ark, 2001).

Çalışmamızda; Wistar albino ratlara 10 gün süreyle eğimsiz olarak 15 dk/gün ve 20m/dk (1,2 km/saat) hızda Gronowska-Senger, Gornicka ve Kotodziejska'nın uyguladıkları egzersiz modeline göre treadmill koşu egzersizi yaptırıldı (Gronowska-Senger ve ark, 2009). Kontrol grubuna sadece egzersiz yaptırılmış, egzersiz yapan diğer üç gruba ise sırasıyla “niasin”, “melatonin”, “niasin ve melatonin birlikte” verilmiştir.

Egzersiz süresi boyunca anlamlı boyutta en fazla kilo kaybı yaşayan grup, niasin ve melatoninini birlikte verdiğimiz grup olmuştur. Niasin ve melatoninini birlikte verdiğimiz grupta, *MDA değerleri* diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur. Bu grupta aynı zamanda egzersiz boyunca kilo kaybının da fazla olduğu saptanmıştır. Sadece melatonin verilen grubunun MDA değerleri diğer gruplara göre düşüktür. Egzersiz yapan ratlarda Melatonin tek başına lipit peroksidasyonunu azaltmış görünmektedir. Sadece niasin verilen grubun ise MDA değerleri, sadece melatonin verilen MDA değerlerinden anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Niasinin lipit peroksidasyonunu önleme açısından melatonin kadar etkin olmadığı söylenebilir.

Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan serbest radikalın etkisi sonucu membran yapısında bulunan PUFA'nın yan zincirlerindeki metil grubundan bir hidrojen atomu koparılmasıyla başlar (Delibaş ve ark, 1995). Lipit peroksidasyonunun sonucu, ürün olarak MDA oluşur (Galecka ve ark, 2008). Erişkin erkeklerde uzun süreli egzersizin MDA düzeylerini arttırdığını ve melatonin takviyesinin MDA artışını önemli ölçüde düşürdüğünü göstermişlerdir (Ziaadini ve ark, 2017). Bu çalışmayı destekleyen çok sayıda makale yayınlanmıştır (Rahman ve ark, 2017; Borges ve ark, 2015; Maldonado ve ark, 2012). Bizim yaptığımız çalışmada ise; MDA -benzer şekilde- sadece melatonin verdiğimiz grupta, diğer gruplara göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur.

Egzersizle birlikte antioksidan molekül takviyelerinin incelendiği birçok çalışma, hem insanlar hem de deney hayvanları üzerinde yapılmış, etki mekanizmaları ve yararları açıklanmaya çalışılmıştır. Ancak egzersizin ratlardaki etkisine melatonin ve niasinin birlikte takviyesinin incelendiği bir çalışma bulunamamıştır.

Obez çocuklar ile sağlıklı deneklerin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada ise; kilo kaybı programı ile ilişkili olarak oksidan-antioksidan durumuna bakılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, vücut kitle indeksi (vki), bel-kalça oranı(bko) ve yağ kütlesi önemli ölçüde azalırken, MDA anlamlı olarak artmıştır. MDA'nın bko, yağ kütlesi ve vki ile korele olduğu, oksidan durumun, altı aylık diyet kısıtlamasından sonra normale döndüğü tespit edilmiştir (Mohnve ark, 2005).

Egzersiz yaptırılan ratlara 400mg/kg niasin takviyesi verilen bir çalışmada; iskelet kasında NAD içeriğinin ve enerji harcamasının arttığı gözlenmiştir (Canto ve ark, 2012). Bizim yaptığımız çalışmada ise; niasin açısından değerlendirecek önemli bir parametrenin kilo kaybı olduğunu saptadık. Ratların egzersiz boyunca yaşadıkları kilo kaybına bakıldığında, tüm gruplarda kilo kaybı olduğu görülmüştür. Yaşanan kilo kaybını, vücut ağırlıklarına göre değerlendirdiğimiz zaman ise, niasin verilen her iki grupta da anlamlı olduğunu gördük. Bu iki grubu karşılaştırdığımız zaman “niasin+melatonin” verilen grupta kilo kaybının, “yalnızca niasin verilen” gruba göre anlamlı olarak daha fazla olduğunu saptadık.

Hücrede oksijenin reaktif ve toksik ürünlerine karşı doğrudan koruyucu fonksiyon gören en önemli enzim süperoksit dismutaz’dır. Bu enzim iki süperoksit radikali arasındaki idismutasyon tepkimesini katalizler (Wheeler ve ark, 1990). Ratlarla yapılan bir çalışmada, melatonin uygulaması, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin, daha yüksek olmasını sağlamıştır (Beck ve ark, 2015). Bizim verilerimiz de bu çalışmayı desteklemektedir. “Yalnızca melatonin” verdiğimiz grubun SOD aktivitesi, diğer gruplara göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur.

Diyet kaynaklı hiperlipitemili farelerde aerobik egzersizin lipid metabolizması üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, MDA değerlerinin yükseldiğini, bunun karşılığında SOD aktivitesinin düşük olduğunu, MDA değerlerinin azalmasından sonra SOD aktivitesinin arttığını belirtilmektedir (Yang ve ark, 1999). Afshari ve arkadaşlarının (2008) farelerle yaptıkları bir başka çalışmada ise; vücut ağırlığının değişmediği, düşük yoğunluklu egzersiz ile birlikte sitozolik SOD değerlerinin yükseldiği belirtilmektedir (Afshari ve ark, 2008). Sindhu ve ark, diyabetik ratlarla yaptıkları çalışmada, ratların belli bir diyet programına tabii tutulmasının, belirgin kilo kaybı ile birlikte SOD ve katalaz aktivitelerinde azalma saptamışlardır (Sindhu ve ark, 2004). Bizim yaptığımız çalışmada ise özellikle Niasin ve Melatoninin birlikte verildiği grupta, kilo kaybı ile birlikte SOD aktivitesinde azalma MDA düzeylerinde artma gözlenmiştir.

Oksiredüktaz sınıfında yer alan Katalaz, SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksidin moleküler oksijene ve suya ayrışmasını katalize eden ve hidrojen peroksidin radikal tiplere dönüşmesini ve hücresel bileşenlere zarar vermesini önleyen antioksidan enzimlerden biridir (Aydemir ve ark, 2003). Sağlıklı bireylerde, egzersiz ile oluşturulan oksidatif strese karşı melatonin takviyesinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada egzersiz öncesi ve sonrası yapılan

ölçümler ile katalaz düzeyinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Kumar ve Naidu, 2002). Bizim yaptığımız çalışmada ise sadece melatonin verdiğimiz grupta, kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik oluşmamıştır. Daha önce belirttiğimiz gibi, Sindhu ve arkadaşlarının(2004) ratlarla yaptığı bir çalışmada; ratlar, belli bir diyet programına tabii tutulmuşlar, sonuçta belirgin kilo kaybı ile birlikte SOD ve katalaz aktivitelerinde azalma saptanmıştır (Sindhu ve ark, 2004). Bizim yaptığımız çalışmada ise; Sindhu ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde, niasin ve melatoninin birlikte verildiği grupta kilo kaybı ile birlikte katalaz aktivitesi, “yalnızca melatonin” verilen gruba göre azalma göstermiştir.

GPX, selenyum içeren tetramerik bir enzim olup bir hidrojen vericisi olarak glutatyonu kullanarak lipoperoksitleri ve hidroperoksitleri azaltır (Sies ve ark, 1997). Atletlerde melatonin takviyesi yapılan bir çalışmada; kontrol grubu ile melatonin takviyesi yapılan grupların egzersiz öncesi ve sonrası GPX değerlerine bakılmıştır. Egzersiz sonrası değerler, her iki grupta egzersiz öncesine göre düşük bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada melatonin takviyesi yapılan grup kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (Ortiz-Franco ve ark, 2017).

Niasinin antioksidan etkisi ile ilgili çalışmalar, farklı canlılarda ve hücre kültürlerinde de yapılmıştır. Bu çalışmalar, niasinin etki mekanizmasının anlaşılması açısından önemlidir. Örneğin, 540 Ctenopharyngo donidella türü balıklarla yapılan bir çalışmada; balıklara 8 hafta boyunca kademeli seviyelerde niasin içeren altı diyet uygulanmıştır. Niasin eksikliği yaşayan gruplarda barsaklarında glutatyon içeriği, GPX, GST ve GR aktiviteler azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, niasin eksikliğinin, GPX, GST, GR'nin mRNA seviyelerini düşürdüğü görülmüştür (Feng ve ark, 2016). Hepatosit hücre kültürlerinde ise (HEPG2) aynı şekilde niasinin ROS üretimini azalttığı saptanmıştır (Ganji ve ark, 2015). Niasin, aynı zamanda NAD(P)H oluşumunu da sağladığı için antioksidan olarak da değerlendirilebilir (Kirsch ve Groot, 2001)

Çalışmamızda, kontrol grubuna göre, diğer üç grubun GPX değerleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Niasin verilen grupların tümünde SOD, katalaz ve MDA düzeylerinden farklı olarak GPX aktivitesi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Burada GPX'in katalizlediği reaksiyon özellikle önemlidir. GPX, redükte glutatyonu okside glutayona çeviren reaksiyonda katalizör görevi görmektedir. Bu reaksiyonda SOD tarafından oluşturulan H₂O₂ kullanılmaktadır. Redükte glutatyonun okside glutayona çevrilmesi reaksiyonu çift yönlü bir reaksiyondur (Halliwell ve ark, 1986). Okside glutatyonun redükte glutatyonla çevrilmesi ise glutatyon redüktaz enzimi tarafından katalizlenmektedir. Glutatyon redüktaz enzimi bu

katalizleme reaksiyonunda koenzim olarak NADPH kullanmaktadır (Orlowski ve ark, 1976). NADPH oluşum süreci niasin'in aktif formu olan nikotin amidile başlamaktadır (DiMartino ve ark, 2011).

Glutasyon S-transferazlar, ksenebiyotik bileşiklerin glutasyon ile etkileşimlerini sağlayarak, hücrel makromolekülleri reaktif elektrofollere karşı koruyan Faz-II detoksifikasyon enzim ailesi üyesidir.

Bizim çalışmamızda, kontrol grubunun GST değerleri, diğer üç gruba göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Egzersiz boyunca vücut ağırlığına göre oranlanmasına bakılmaksızın bütün gruplarda kilo kaybı oluşmuştur. Bu oluşan kilo kaybı, en düşük kontrol grubunda olmuştur. Ayrıca vücut ağırlığına göre kilo kaybının anlamlı olduğu iki grubun karşılaştırmasında ise, kilo kaybı düşük olan sadece niasin verilen grubun GST değerleri, “niasin + melatonin” verilen gruba göre yüksek bulunmuştur. Bütün örnek analizlerin değerlendirmeye alındığı pearson korelasyon analizinde; kilo kaybı ile GST, en yüksek değerde korele olmaktadır. GST aktivitesi ile kilo kaybı ile ters orantılıdır.

Çalışmamızda analizi yapılan TOS değerlerine bakıldığında; vücut ağırlığına göre kilo kaybı olan, niasin verilen iki grubun değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda; TAS saptamak amacıyla kullandığımız kit, TEAC metodu ile toplam antioksidan durum hakkında sonuç vermektedir. Melatonin ve niasin verilen grupların TAS değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, niasin ve melatoninin birlikte ve teker teker antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymaktadır. Buna ek olarak TAS değerleri ile kilo kaybının ters orantılı olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda; iki gruba 5 mg/kg/gün dozunda melatonin takviyesi yapıldı. En son doz uygulamasından 24 saat sonra kan örnekleri alındı. Çalışmamızda Serum Melatonin değerlerine bakıldığında; Melatonin takviyesi yapılan iki grubun Serum Melatonin değerleri, Melatonin takviyesi yapılmayan iki gruptan anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Bu durum, uygun melatonin konsantrasyonlarında antioksidan ve oksidan parametreleri değerlendirdiğimizi göstermiştir.

Son yıllarda Melatoninin iskelet kası ve egzersiz üzerine etkilerine dair pek çok çalışma yapılmıştır. Melatoninin memeliler üzerinde yaşlanma karşıtı, antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri bulunmaktadır. Melatonin, kas içciklerinin hacmini artırmakta, mitokondrilerde ROS

üretimini, inflamasyonu ve apoptozu azaltmaktadır (Stacchiotti ve ark, 2020). Melatoninin indol halkası serbest radikal hasarını önler, ayrıca fiziksel performansın artırılmasında da son derece etkili olduğu gösterilmiştir (Escames ve ark, 2012). Fiziksel performans üzerinde eksojen melatonin verilmesinin etkisi ise halen tartışmalı bir konudur. Lopez Flores ve ark. yayınladıkları sistematik derlemede fiziksel aktivitenin tipine göre, melatonin verilmesinin etkisinin değişebileceğini bildirmişlerdir (Flores ve ark, 2018)

Melatonin oldukça eski, ancak önemi son yıllarda anlaşılan ve “yeniden keşfedilmiş” bir moleküldür. Özellikle kas hastalıklarında ve egzersizde terapötik etkisine dair yapılan birçok çalışma bulunmaktadır (Stacchiotti ve ark, 2020). Deneysel hayvan çalışmalarında eksojen melatonin verilmesinin, farelerde ve sıçanlarda antioksidan etkili olduğuna ve kas hasarını onardığına dair birçok yayın bulunmaktadır (Teodoro ve ark, 2014; Favero ve ark, 2015; Quan ve ark, 2015; Salucci ve ark, 2017; Sayed ve ark, 2019). Bizim çalışmamızda yukarıdaki yayınları destekleyecek biçimde sıçanlara melatonin verilmesi antioksidan aktiviteyi (TAS, SOD, Katalaz, melatonin) artırmıştır.

Çalışmamızın en önemli sınırlılığı, sıçanların iskelet kaslarında histolojik inceleme yapılmamasıdır. Antioksidan etkinin hayvanlarda ve insanlarda daha sağlıklı olmanın bir göstergesi olduğu düşüncesiyle, bu çalışmada melatonin ve niasinin egzersiz yaptırdığımız sıçanlarda antioksidan etkisini araştırmayı hedefledik.

Sonuç olarak, egzersiz yaptıırılan sıçanlara eksojen melatonin verilmesinin niasine oranla daha ağırlıklı bir antioksidan etki gösterdiğini söyleyebiliriz. Orta düzeydeki egzersiz ROS üretimine neden olarak ayrıca melatonin salgılanmasını da sağlayabilir (Stacchiotti ve ark, 2020). Sıçanların egzersiz yapması ile artan MDA düzeyleri melatonin etkisi ile azalmıştır. Melatonin ve Niasinin birlikte verilmesi, tüm anti oksidan parametrelerde sinerjik bir etki yapmamıştır. GST, Katalaz ve SOD aktiviteleri azalmıştır. Bu durum oksidasyonu önlemek amacı ile bu enzimlerin kullanıldığını göstermektedir ve daha önce yapılan çalışmalarla uyumludur (Flores ve ark, 2018; Stacchiotti ve ark, 2020).

Hem insan hem hayvan sağlığı açısından çok önemli olan bu konuda, gelecekte yeni deneysel ve klinik çalışmaların yapılacağına inanıyoruz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Orta ve ağır düzeyde egzersizin oksidan aktiviteyi artırdığı ve organizmaya zararlı olduğu, sağlığı tehdit edebileceği bilinmektedir. Biz çalışmamızda orta düzeyde egzersiz yaptırdığımız Wistar Albino sıçanlara, antioksidan etkisi olduğu belirtilen, ancak fiziksel aktivitenin tipine göre, etkisinin değişebileceği bildirilen melatonin ve niasini ayrı ayrı ve birlikte vererek antioksidan etkisini incelemeyi hedefledik. Bu amaç doğrultusunda, Gronowska-Senger ve ark.(2009) uyguladıkları egzersiz modeli ile ratlarda bir oksidatif stres oluşturulmuştur.

Melatonin, oksidatif stresi azaltmada etkili bir antioksidandır. Bu özelliğini, doğrudan reaktif oksijen ve azot türlerinin detoksifikasyonu ile dolaylı olarak prooksidan enzimlerin aktivitesini bastırmak, antioksidan enzimleri uyarmak yolu ile gerçekleştirir (Alonso ve ark, 2006). Bizim çalışmamızda, sadece melatonin takviyesinin lipit peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisine bakıldığında;

Oksidan durum lehine olan parametrelerde; MDA düzeyleri; diğer gruplara göre düşük bulunmuştur.

Antioksidan durum lehine olan parametrelerde; SOD düzeyleri; diğer gruplara göre, Katalaz düzeyleri; niasin takviyesi yapılan iki gruba göre, GPX düzeyleri; kontrol grubuna göre, TAS düzeyleri; kontrol ve niasin+ melatonin takviyesi yapılan gruba göre, Serum Melatonin düzeyleri; kontrol ve niasin takviyesi yapılan gruba göre yüksek bulunmuştur. GST düzeyleri; kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur.

Egzersiz yaptıran sıçanlara eksojen melatonin verilmesinin (bu konuda daha önce yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olarak) kontrol grubuna göre, antioksidan aktivitenin (SOD, GPX, TAS, melatonin) artırdığı, niasine oranla daha ağırlıklı bir antioksidan etki gösterdiğini söyleyebiliriz. Sıçanların egzersiz yapması ile artan MDA düzeyleri, melatonin etkisi ile azalmıştır.

Çeşitli bitkisel ve hayvansal kaynaklarda bulunan niasin, canlı hücrelerde önemli metabolik olaylar üstlenen $NAD^+/NADH$ ve $NADP^+/NADPH$ öncüsüdür (Bogan ve Brenner, 2008). Yapılan bu çalışmada sadece niasin takviyesinin lipit peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisine bakıldığında;

Oksidan durum lehine olan parametrelerde; MDA düzeyleri; melatonin grubuna göre yüksek bulunmuştur. TOS düzeyleri; kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur.

Antioksidan durum lehine olan parametrelerde; SOD düzeyleri; melatonin grubuna göre düşük, niasin+melatonin grubuna göre yüksek bulunmuştur. Katalaz düzeyleri; melatonin grubuna göre düşük bulunmuştur. GPX düzeyleri; kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. GST düzeyleri; kontrol grubuna göre düşük, niasin+melatonin grubuna göre yüksek bulunmuştur. TAS düzeyleri; kontrol ve niasin+ melatonin takviyesi yapılan gruba göre yüksek bulunmuştur. Serum Melatonin düzeyleri; melatonin ve niasin+melatonin grubuna göre düşük bulunmuştur.

Egzersiz yaptırılan sıçanlara eksojen niasin verilmesinin kontrol grubuna göre, antioksidan aktivitenin (GPX, TAS) artırdığı, melatonine oranla daha düşük bir antioksidan etki gösterdiğini söyleyebiliriz.

Çalışmamızda niasin ile melatoninini birlikte verilmesinin lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisine bakıldığında;

Oksidan durum lehine olan parametrelerde; MDA düzeyleri; kontrol ve melatonin grubuna göre yüksek bulunmuştur. TOS düzeyleri; kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur.

Antioksidan durum lehine olan parametrelerde; SOD düzeyleri; diğer gruplara göre düşük bulunmuştur. Katalaz düzeyleri; melatonin grubuna göre düşük bulunmuştur. GPX düzeyleri; kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. GST düzeyleri; kontrol ve niasin grubuna göre düşük bulunmuştur. TAS düzeyleri; kontrol grubuna göre yüksek; niasin takviyesi yapılan grup ve melatonin takviyesi yapılan gruba göre düşük bulunmuştur. Serum Melatonin düzeyleri; kontrol grubuna, niasin grubuna göre yüksek bulunmuştur.

Egzersiz yaptırılan sıçanlara eksojen niasin ile melatoninin birlikte verilmesinin tüm antioksidan parametrelerde sinerjik bir etki oluşturmamıştır. Oksidasyonu gösteren parametrelerin(MDA, TOS) arttığı, GST, Katalaz ve SOD aktiviteleri azaldığı saptanmıştır. Bu durum oksidasyonu önlemek amacı ile bu enzimlerin kullanıldığını göstermektedir. Bu konuda daha önce yapılan çalışmalarla uyumludur (Flores ve ark, 2018; Stacchiotti ve ark,2020).

Hem insan hem hayvan sağlığı açısından çok önemli olan bu konuda, gelecekte yeni deneysel ve klinik çalışmaların yapılacağına inanıyoruz.

KAYNAKLAR

- Açıkada C, Ergen E.** Sporda Beslenme, Ankara, Büro-Tek Ofset ve Matbaacılık, 1990, 154–158.
- Adebowale T, Oso A, Liu H, Tossou M, Chen J.** Effect of Dietary Niacin Supplementation on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Hematology, and Lipoprotein Concentrations of Young Turkeys, *Meleagris gallopavo*. *The Journal of Poultry Science*, 2019, 56, 112-119.
- Aebi H.** Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 1984, 105, 121-126
- Afshari F, Ghosh S, Khazaei M, Kieffer TJ, Brownsey RW, Laher I.** Exercise restores endothelial function independently of weight loss or hyperglycaemic status in db/dbmice. *Diabetologia* 2008, 51, 1327–1337
- Aguilo A, Tauler P, PilarGuix M, Villa G, Cordova A, Tur JA, Pons A.** Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2003, 14, 319-325.
- Ağırbaş Ö.** Yoğun egzersiz stresi oluşturulan ratlarda melatonin ve askorbik asidin kaslarda oluşan DNA hasarı ve oksidatif stres üzerine etkileri. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Spor ve Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı (Doktora), Erzurum Atatürk Üniversitesi 2013, 124
- Akkuş İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları Konya, 1995, 68
- Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG.** Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem Journal*, 2001, 357(3), 593–615.
- Alonso M, Collado PS, Gallego G.** Melatonin inhibits the expression of the inducible isoform of nitric oxide synthase and nuclear factor kappa B activation in rat skeletal muscle. *Journal of Pineal Research* 2006, 41, 8-14
- Archer S.** Measurement of nitric oxide in biological models. *The FASEB Journal*, 1993, 7(2) 349-360.
- Arendt J.** Melatonin. *Clinical Endocrinol* 1988, 29, 205-229

Aslan R, Şekeroğlu MR. Egzersize Bağlı Lipit Peroksidasyonu Ve Antioksidan Statü Çalışmalarında Sonuçlara Etkili Faktörler. *Spor Hekimliği Dergisi* 1996, 31, 145-152

Astrand PO, Rodahl K. Textbook of Work Physiology. Third Edition, Mc Graw Hill Comp. 1988, 299-320, 327-330, 556-562

Atalay M, Oksala NK, Laaksonen DE, Savita K, Chitose N, Jani L, Sashwati R, Osmo H, Sen CK. Exercise training modulates heat shock protein response in diabetic rats. *Journal of Applied Physiology* 2004, 97, 605-611.

Aydemir T, Kuru K. Purification and partial characterization of catalase from chicken erythrocytes and the effect of various inhibitors on enzymeactivity. *Turkish Journal of Chemistry* 2003, 27 (1), 85-97

Azzi A, Stocker A. Vitamin E: non-antioxidan roles. *Progress in Lipit Research* 2000, 39, 231-255

Banerjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti S. Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2003, 253, 307-312.

Beck WR, Botezelli JD, Pauli JR, Ropelle ER, Gobatto CA. Melatonin Has An Ergogenic Effect But Does Not Prevent Inflammation and Damage In Exhaustive Exercise. *Scientific Reports* 2015, 16(5), 18065

Blair SN, LaMonte MJ, Nichaman MZ. The evolution of physical activity recommendations: how much is enough?. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2004, 79, 913–920

Blanchard B, Pompon D, Ducrocq C. Nitrosation of melatonin by nitric oxide and peroxynitrite. *Journal Pineal Resarch* 2000, 29, 184-192.

Bogan KL, Brenner C. Nicotinic acid, nicotinamide, and nicotinamide riboside: a molecular evaluation of NAD⁺ precursor vitamins in human nutrition. *Annual Review of Nutrition* 2008, 28, 115-130

Borges LS, Dermargos A, Junior E, Weimann E, Lambertucci RH, Hatanaka E. Melatonin decreases muscular oxidative stress and inflammation induced by strenuous

exercise and stimulates growth factor synthesis. *Journal of Pineal Research* 2015, 58(2), 166-172

Brzezinski A. Mechanisms of disease: melatonin in humans. *The New England Journal of Medicine* 1997, 336, 186-195

Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics *Elsevier* 5. Th Edition. 2010

Canto C, Houtkooper RH, Pirinen E, Youn DY, Oosterveer MH. The NAD⁺ precursor nicotinamide riboside enhances oxidative metabolism and protects against high-fat diet induced obesity. *Cell Metabolism* 2012, 15(6), 838–847

Carr AC, Carr BZ, Frei B. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (Vitamin C) and α -Tocopherol (Vitamin E). *Circulation Research* 2000, 87, 349-354.

Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 1993, 49(3), 481–493.

Child RB, Wilkinson DM, Fallowfield JL, Donnelly AE. Elevated Serum Antioxidant Capacity And Plasma Malondialdehyde Concentration In Response To A Simulated Half-Marathon Run. *Medicine & Science Sports & Exercise*, 1998, 30, 1603–1607.

Cimen B, Uz A, Cetin I, Cimen L, Cetin A. Melatonin Supplementation Ameliorates Energy Charge and Oxidative Stress Induced by Acute Exercise in Rat Heart Tissue. *Acta Cardiologica Sinica*, 2017, 33(5), 530-538.

Cooper CE, Vollaard NBJ, Choueiri T, Wilson MT. Exercise, Free Radicals And Oxidative Stress. *Biochemical Society Transactions*, 2002, 30(2), 280-285

Delibaş N, Özcankaya R. Serbest Radikaller. *SDÜ Tıp Dergisi* 1995, 2 (3), 11-17.

DiMartino C, Pallotta ML. Mitochondria-localized NAD biosynthesis by nicotin amide mono nucleotide adenylyl transferase in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) heterotrophic tissues. *Planta*, 2011 1428-1436

Dormandy TL. An Approach to free radicals. *The Lancet* 1983, 1010-1013

Duthie GG, Wahle KWJ, James WPT. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutrition Research Reviews* 1989, 2, 51-62

Escames G, Ozturk G, Otalora BB, Pozo M, Madrid J, Reiter JJ, Serrano E, Concepción M, Castroviejo DA. Exercise and Melatonin in Humans: Reciprocal Benefits. *Journal of Pineal Research* 2012, 52(1), 1-11

Faranak I, Banafshe H, Ahmad S. Niacin and Oxidative Stress: A Mini-Review *Journal of Nutritional Medicine and Diet Care* 2016, 2(14) 1-6

Favero G, Stacchiotti A, Castrezzati S, Bonomini F, Albanese M, Rezzani R, Rodella LF. Melatonin Reduces Obesity and Restores Adipokine Patterns and Metabolism in Obese (ob/ob) Mice. *Nutrition Research* 2015, 35(10), 891-900.

Feng L, Li SQ, Jiang WD, Liu Y, Jiang J, Wu P, Zhao J, Kuang SY, Tang L, Tang WN, Zhang YA, Zhou XQ. Deficiency of dietary niacin impaired intestinal mucosal immune function via regulating intestinal NF- κ B, Nrf2 and MLCK signaling pathways in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Fish Shellfish Immunologia* 2016, 49, 177-193

Flores ML, Nieto NL, Moreira OC, Iglesias DS. Effects of Melatonin on Sports Performance: A Systematic Review. *Journal of Exercise Physiology* 2018, 21(5), 121-138

Foote CS, Shook FC, Abakerli RB. Characterization of singlet oxygen. *Methods in Enzymology* 1984, 105 36-47.

Foss ML, Keteyian SJ. Fox's Physiological Basis for Exercise and Sport, 6th ed. WCB/Mc Graw-Hill, 1998

Fukuwatari T, Ohsaki S, Fukuoka S. Phthalate esters enhance quinolinate production by inhibiting α -amino-beta-carboxymuconate-epsilon-semialdehyde decarboxylase (ACMSD), a key enzyme of the tryptophan pathway. *Toxicological Sciences* 2004, 81 (2), 302-308

Galecka E, Jacewicz R, Mrowicka M. Antioxidative enzymes--structure, properties, functions. *Polski Merkurusz Lekarski* 2008, 25, 266-268.

Ganji SH, Kashyap ML, Kamanna VJ. Niacin Inhibits Fat Accumulation, Oxidative Stress, and Inflammatory Cytokine IL-8 in Cultured Hepatocytes: Impact on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Metabolism: Clinical and Experimental* 2015, 64(9), 982-990.

Gornicka M, Drywien M, Frackiewicz J, Debski B, Wawrzyniak A. Alpha-Tocopherol May Protect Hepatocytes Against Oxidative Damage Induced by Endurance Training in Growing Organisms. *Advances in Clinical and Experimental Medicine* 2016, 25(4), 673–679

Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species. The evolution of a concept. *Redox Biologia* 2015, 6, 524–551

Gronowska-Senger A, Gornicka M, Kotodziejska K. Tocopherol acetate vs. oxidative stress induced by physical exercise in rats. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2009, 59, 263-269.

Gumieniczek A, Hopkala H, Wojtowicz Z, Nikolajuk J. Changes in antioxidant status of heart muscle tissue in experimental diabetes in rabbits. *Acta Biochimica Polonica* 2002, 49, 529-535

Güler D. Egzersiz ve Besinler bedray yayıncılık istanbul 2018 nisan

Gülyaşar T. Sıçanlarda adriamycin kardiyotoksitesinin eser element, kan parametreleri ve serbest radikaller bakımından incelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul, İstanbul Üniversitesi, 2003, 84

Günay M, Şıktar E, Şıktar E, Yazıcı M. Egzersiz ve Kalp. Ankara, Gazi Kitabevi 2008, 202-203

Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine some problems and concepts. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1986, 311, 659-671

Halliwell B, Gutteridge, JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1990, 280, 1-8.

Halliwell B, Aruoma O. DNA Damage by Oxygen-Derived Species. Its Mechanism and Measurement in Mammalian Systems. *FEBS Letters*, 1991, 281(1-2), 9-19.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Minireview Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation An update. *FEBS Letters*, 1992, 307(1), 108-112.

Halliwell B, Chirico S. Its mechanism, measurement and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1993, 57, 715-725

- Hara M, Mitsushi A, Suzuki T, Reiter RJ.** Tissue changes in glutathione metabolism and Lipit peroxidation induced by swimming are partially prevented by melatonin. *Pharmacology Toxicology* 1996, 78, 308-312.
- Hargreaves M.** Skeletal muscle metabolism during exercise in humans. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2001, 27, 225-228
- Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR.** Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 2005, 45, 51-88
- Hruskewvyez AM.** Lipit peroxidation and mtDNA dejeneration. A hypothesis. *Mutation Resarch* 1992, 275, 243-248
- Jacob S, Poeggeler B, Weishaupt JH.** Melatonin as a candidate compound for neuroprotection in amyotrophic lateral sclerosis (ALS): High tolerability of daily oral melatonin administration in ALS patients. *Journal of Pineal Research* 2002, 33, 186-187.
- Jones DP.** Redefining oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling* 2006; 8: 1865-1879
- Kayalı R, Çakatay, U.** Basic mechanisms of protein oxidation. *Cerrahpasa Journal. Medicine* 2004;35:83–89.
- Kayserilioglu A, Çavuşoğlu H,** Egzersiz testleri ve yorumu: Pratik Yaklaşım. Coper CB, Storer TW ed. Yüce Yayınları, İstanbul, 2003, 96-143
- Kirsch M, De Groot H.** NAD(P)H, a directly operating antioxidant? *The FASEB Journal* 2001, 15(9), 1569–1574
- Kirkland JB, Rawling JM.** Niacin. In: Rucker, RB, Zempleni J, Suttie JW, McCormick DB, editors. Handbook of vitamins. *New York: Marcel Dekker* 2001, 213–254
- Kumar KV, Naidu MUR.** Effect Of Oral Melatonin On Exercise-Induced Oxidant Stress In Healthy Subjects. *Indian Journal of Pharmacology* 2002, 34, 256-259
- Kumral A, Tugyan K, Gonenc S, Genc K, Genc S, Sonmez U.** Protective effects of erythropoietin against ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and oxidative stress in the developing C57BL/6 mouse brain. *Developmental Brain Research* 2005, 160, 146–156.

Kwon WY, Suh GJ, Kim KS, Jung YS, Kim SH, Lee R, You KM, Park M. Niacin And Selenium Attenuates Brain Injury After Cardiac Arrest By Upregulating Dj-1-Akt S1gnaling. *Critical Care Medicine* 2018, 46(1), 125

Lee IM. Dose-response relation between physical activity and fitness: even a little is good; more is better. *The Latest Medical Research, Reviews, and Guidelines* 2007, 297, 2137–2139

MacRae HSH, Mefferd KM. Dietary antioxidant supplementation combined with quercetin improve scycling time trial performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism.* 2006, 16, 405-419

Maiese K, Li F, Chong ZZ. Erythropoietin in the brain: can the promise to protect be fulfilled? *Trends Pharmacology Science* 2004, 25, 577-583.

Maldonado MD, Manfredia M, Ribas-Serna J, Garcia-Moreno H, Calvo JR. Melatonin administrated immediately before an intense exercise reverses oxidative stress, improves immunological defenses and Lipit metabolism in football players, *Physiology&Behavior* 2012, 105, 1099–1103

Malone WF. Studies evaluating antioxidants and beta carotene as chemopreventives. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1991, 53, 305-313.

Marshall KA, Reiter RJ, Poeggeler B. Evaluation of the antioxidant activity of melatonin in vivo. *Free Radical Biology & Medicine* 1996, 21, 307-315.

Mastorakos G, Pavlatou M, Kandarakis E, Chrousos CP. Exercise and the stres system. *Hormones (Athens, Greece)* 2005, 4, 73-89

Mohn A, Catino M, Capanna R, Giannini C, Marcovecchio R, Chiarelli F. Increased Oxidative Stress in Prepubertal Severely Obese Children: Effect of a Dietary Restriction-Weight Loss Program. *The Journal of Clinical Endocrinology&Metabolism* 2005, 90(5), 2653–2658

Moslen MT. Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis, *Free radicals in diagnostic medicine*, Ed. D. Armstrong Plenum Press, NewYork 1994, 1-15

Murphy MP, Packer MA, Scarlett JL, Martin SW. Peroxynitrite: A biologically significant oxidant. *Gen Pharmacol* 1998, 31, 179-186.

Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *The Japanese Journal of Physiology* 1996, 46, 15-32

Ochoa JJ, Diaz-Castro J, Kajarabille N, Garcia C, Guisado IM, De Teresa C, Guisado R. Melatonin supplementation ameliorates oxidative stress and inflammatory signaling induced by strenuous exercise in adult human males. *Journal of Pineal Research* 2011, 51(4), 373-380

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for Lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 1979, 95(2), 351-358.

Olek RA, Ziolkowski W, Kaczor JJ, Greci L, Popinigis J, Antosiewicz J. Antioxidant Activity of NADH and Its Analogue - An In Vitro Study. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 2004, 37 (4), 416-421

Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan Biyokimyası, 2. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2006, 573-685

Orlowski M, Karkowsky A. Glutathione metabolism and some possible functions of glutathione in the nervous system. *International Review of Neurobiology* 1976, 19, 75-121

Ortiz-Franco M, Planells E, Quintero, B, Acuna-Castroviejo D, Rusanova I, Escames G, Molina-Lopez J. Effect of Melatonin Supplementation on Antioxidant Status and DNA Damage in High Intensity Trained Athletes. *International Journal of Sports Medicine* 2017, 38(14), 1117–1125

Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1967, 70(1), 158-169.

Pialoux V, Mounier R, Ponsot E, Rock E, Mazur A, Dufour S, Richard R, Richalet JP, Coudert J, Fellmann N. Effects of exercise and training in hypoxia on antioxidant/pro-oxidant balance. *European Journal of Clinical Nutrition* 2006, 60(12), 1345-1354

Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F. Melatonin: a peroxyl radical scavenger more effective than vitamin E. *Life Sciences* 1994, 55, 271-276.

Pingitore A, Pereira Lima GP, Mastorci F, Quinones A, Iervasi G, Vassalle C. Exercise and Oxidative Stress Potential Effects of Antioxidant Dietary Strategies in Sports. *Nutrition* 2015, 31(7-8), 916-922.

Poeggeler B, Saarela S, Reiter RJ, Tan DX, Chen LD, Manchester LC, Barlow-Walden LR. Melatonin-a highly potent endogenous radical scavenger and electron donor: new aspects of the oxidation chemistry of this indole accessed in vitro. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1994, 738, 419-420.

Powell KE, Paluch AE, Blair SN. Physical activity for health: What kind? How much? How intense? On top of what?. *Annual Review Public Health* 2011, 32, 349-365

Pozo D, Reiter RJ, Calvo JR, Guerrero JM. Physiological concentrations of melatonin inhibit nitric oxide synthase in rat cerebellum. *Life Sciences* 1994, 55, 455-460.

Quan X, Wang J, Liang C, Zhenga H, Zhanga L. Melatonin inhibits tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in skeletal muscle cells *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015,463(4), 1102-1107.

Radak Z, Sasvari M, Nyakas C, Pucsok J, Nakamoto H, Goto S. Exercise precondition in against hydrogen peroxide induced oxidative damage in proteins of rat myocardium. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2000, 376, 248–251.

Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite-induced membrane Lipit peroxidation: The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1991,288(2), 481-487.

Rahman M, Kwon HS, Kim MJ, Go HK, Oak MH, Kim DH. Melatonin supplementation plus exercise behavior ameliorate insulin resistance, hypertension and fatigue in a rat model of type 2 diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother* 2017, 92, 606-614

Reiter RJ. Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Reviews* 1991, 12, 151-180

Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1993, 26, 1141-1155

Reiter RJ, Carneiro RG, Oh S. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Hormone and Metabolic Research* 1997, 29, 363-372.

Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *Journal of Pineal Research* 2016, 61, 253-278

Sayed R, Ortiz M, Diaz-Casado M, Aranda-Martínez P, Fernández-Martínez J, Librero AG, Escames G, López L. Lack of NLRP3 Inflammasome Activation Reduces Age-Dependent Sarcopenia and Mitochondrial Dysfunction, Favoring the Prophylactic Effect of Melatonin. *The Journals of Gerontology*, 2019, 74(11), 1699-1708.

Salucci S, Battistelli M, Baldassarri V, Burini D, Falcieri E, Burattini S. Melatonin Prevents Mitochondrial Dysfunctions and Death in Differentiated Skeletal Muscle Cells. *Microscopy Research and Technique*, 2017, 80(11):1174-1181.

Sauve AA. NAD⁺ and vitamin B3: from metabolism to therapies. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2008, 324(3), 883-893

Scott C. Misconceptions about aerobic and anaerobic energy expenditure. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2005, 2, 32-37

Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Medical Review* 1996, 27, 41-50

Sies H, Sharov VS, Klotz LO, Briviba K. Glutathione peroxidase protects against peroxy nitrite-mediated oxidations: a new function for selenoproteins as peroxy nitritereductase. *The Journal of Biological Chemistry* 1997, 272, 27812–27817

Sindhu RK, Koo JR, Roberts CK, Vaziri ND. Dysregulation of hepatic superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in diabetes: response to insulin and antioxidant therapies. *Clinical and Experimental Hypertension*, 2004, 26(1), 43-53

Sousa CV, Sales MM, Rosa TS, Lewis JE, Andrade RV, Simoes HG. The Antioxidant Effect of Exercise: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medical* 2017, 47(2), 277-293

Southorn PA, Powis G. Free Radicals in Medicine. II. Involvement in Human Disease. *Mayo Clinic Proceedings*, 1988, 63(4), 390-408.

- Stacchiotti A, Favero G, Rodella LF.** Impact of Melatonin on Skeletal Muscle and Exercise. *Cells* 2020, 9(2), 288.
- Sugden D.** Melatonin biosynthesis in the mammalian pineal gland. *Experientia* 1989, 45, 922-932
- Sun Y, Oberley LW, Li Y.** A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry* 1988, 34(3), 497-500.
- Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ.** Melatonin: A potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine Journal* 1993, 1, 57-60.
- Teixeira HD, Meneghini R.** Chinese hamster fibroblasts over expressing CuZn superoxide dismutase undergo a global reduction in antioxidants and an increasing sensitivity of DNA to oxidative damage. *BiochimJournal* 1996, 315, 821-825
- Trionfante CP, Davis GR, Farney TM, Miskowiec RW, Nelson AG.** A Preexercise Dose of Melatonin Can Alter Substrate Use During Exercise. *International Journal Of Exercise Science* 2017, 10 (7), 1029-1037
- Uwe D.** Melatonin deficiencies in women. *Maturitas* 2002, 41(1), 85-104.
- Vidoni ED, Johnson DK, Morris JK.** Dose-Response of Aerobic Exercise on Cognition: A Community-Based, Pilot Randomized Controlled Trial. *PLoS One* 2015, 10, 0131647
- Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS.** Prescribing exercise as preventive therapy. *The Canadian Medical Association Journal* 2006, 174, 961–974
- Wheeler CR, Salzman JA, Elsayed NM, Omaye ST, Korte DW.** Automated Assays for Superoxide Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase and Glutathione Reductase Activity. *Analytical Biochemistry* 1990, 184, 193-199.
- White A, Estrada M, Walker, K, Wisnia P, Filgueira G, Valdes F, Araneda O, Behn C, Martinez R.** Role of exercise and a scorbate on plasma antioxidant capacity in thorough bred racehorses. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A Molecular and Integrative Physiology* 2001, 128, 99-104.

Yang Y, Wu T, He K, Fu Z G. Effect of aerobic exercise and ginsenosides on Lipid metabolism in diet-induced hyperlipidemia mice. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 1999, 20(6), 563-565

Yazıcı A. Üniversite öğrencisi kız ve erkeklerde aerobik izotonik, anaerobik izotonik ve anaerobik izotonik egzersizlerin üreme ve stres hormonları üzerine etkisi. Fizyoloji Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 1997, 75

Yazıcı C, Köse K. Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004, 13(2) 56-65

Yıldız SA. Aerobik ve anaerobik kapasitenin anlamı nedir?. *Solunum* 2012, 14, 1-8

Young GS, Jacobson EL, Kirkland JB. Water Maze Performance in Young Male Long-Evans Rats Is Inversely Affected by Dietary Intakes of Niacin and May Be Linked to Levels of the NAD⁺ Metabolite cADPR. *Journal Nutrition* 2007, 137(4), 1050-1057.

Ziaadini F, Aminae M, MahsaRastegar M.M, Abbasian S, Memari AH. Melatonin Supplementation Decreases Aerobic Exercise Training Induced-Lipid Peroxidation and Malondialdehyde in Sedentary Young Women. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 2017, 67(3) 225–232

EKLER

Ek 1. ADÜ-HADYЕК Kararı



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(ADÜ-HADYЕК)



Aydın 23.Mart, 2018

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2018 Yılı III. Oturum
Sayı : 64583101/2018/039
Proje Başlığı : Egzersiz Yaptırılan Ratlarda Melatonin ve Niasin Desteğinin Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Sisteme Etkisi.
Proje Yürütücüsü : Aslıhan KARUL
Proje Ekibi : Adem KESKİN

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötusu kullanılması
İnsan embriyosu ve fötusu dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması : İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışma; Deney Hayvanları Kullanım sertifikası alındıktan sonra yapılması Şartıyla uygun görülmüştür.

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan

Prof. Dr. Pınhan DOST
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Nail SONMEZ
Üye

Prof. Dr. Deniz ÇOBAN
Üye

Prof. Dr. Yücel KOCA
Üye

Doç. Dr. Evrim DEREELİ FİDAN
Üye

Vet. Hek.Dr. Sertan AKTAŞ
Üye

Vet. Hek. Dr. Biçgül ÜNAL
Üye

(Toplantıya Katılmadı)
Yurdagül ALTINBAŞ
Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : Keskin Adem
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Erzurum 07.04.1978
E-mail : ademkeskin78@gmail.com
YabancıDil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Tıp)	
Y. Lisans	Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya	23.07.2014
Lisans	Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	11.06.2005
ÖnLisans	Atatürk Üniversitesi S.H.M.Y. Okulu Radyoloji Bölümü	06.08.1999

SERTİFİKA

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Aydın Adnan Menderes Üniversitesi HADYEK Nisan 2018

KATILDIĞI PROJE

Egzersiz Yaptırılan Ratlarda Melatonin ve Niasin Desteğinin Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Sisteme Etkisi ADÜ-BAP TPF 19011 Proje kabul tarihi: 28.03.2019

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Erzurum'daki Nondiyabetik ve Gestasyonel Diyabetik Gebelerin Glukoz, Lipit, Demir (Fe) ve Krom (Cr) Seviyelerinin Sağlıklı Gruplara Göre Değişimlerinin İncelenmesi

DOKTORA TEZİ

Egzersiz Yaptırılan Ratlarda Melatonin ve Niasin Desteğinin Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Sisteme Etkisi

MESLEKİ DENEYİM

Yıl	Kurum	Unvan
2020-	Aydın Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi	Radyoloji Teknisyeni
2017-2020	Söke Fehime-Faik Kocagöz Devlet Hastanesi	Radyoloji Teknisyeni
2014-2017	Bursa Dr. Ayten Bozkaya Spastik Çocuklar Hastanesi	Radyoloji Teknisyeni
2008-2014	Erzurum Nene Hatun Kadın Doğum Hastanesi	Radyoloji Teknisyeni
2001-2008	Erzurum Numune Hastanesi	Radyoloji Teknisyeni
2001-2001	Hınıs Devlet Hastanesi	Radyoloji Teknisyeni
1999-2001	Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi	Radyoloji Teknisyeni