

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AKUT İRTİFA DEĞİŞİMİNE MARUZ KALMIŞ
RATLARDA BAZI HEMATOLOJİK, BİYOKİMYASAL
VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yusuf TÜRKOĞLU

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI (VET.)
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. A. Fatih FİDAN**

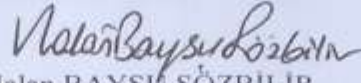
Tez No: 2014 – 017

2014 – AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya (Veteriner) Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak Kabul edilmiştir.

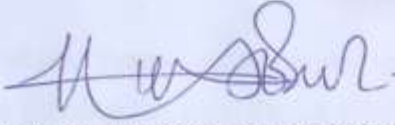
Tez Savunma Tarihi: 23.06.2014



Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Jüri Başkanı



Prof. Dr. Halil SELÇUK BİRİCİK

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

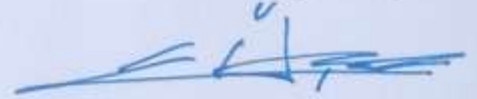


Doç. Dr. A. Fatih FİDAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

Biyokimya (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Yusuf TÜRKOĞLU'nun "Akut İrtifa Değişimine Maruz Kalmış Ratlarda Bazı Hematolojik, Biyokimyasal ve Oksidatif Stres Parametrelerinin Araştırılması" başlıklı tezi 02.07.2014 günü saat 16:00.' da Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Kağan ÜÇOK

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Son yıllarda çeşitli nedenlerle yüksek irtifa bölgelerine giden canlı sayısının artması, irtifa ile ilgili hastalıkların tanı ve tedavisinde deney hayvanı modeli oluşturulmasını gündeme getirmektedir. Oluşturulacak olan bu deney hayvanı modelinin; kontrol gurubuyla karşılaştırılarak, tekrarlanabilirlik ve hipoksi dışında diğer çevresel faktörlerden etkilenmemesi önem taşımaktadır. Yapılan bu çalışmada normobarik hipoksi simülatörü ile hipoksi sağlanarak, yüksek irtifa ile ilgili çalışmaların simülatör ortamına taşınabilirliği amaçlanmıştır.

Yıllar sonra yeniden öğrencisi olmaktan kendimi çok şanslı hissettiğim ve bizlerin yetişmesinde büyük emeği olan değerli hocam Prof.Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında desteklerini her zaman yanımda gördüğüm Doç.Dr. A.Fatih FİDAN, Doç.Dr. Gülcan AVCI, Yrd.Doç.Dr. İsmail KÜÇÜKKURT ile Dr.Vet.Alb.Ümit TARAKÇI ve Uzm.Vet.Alb. Erhan ÖZDEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman sevgileriyle bana güç veren, iyi ve kötü günde hep yanımda olan, verdiğim kararlarda beni destekleyen, sevgili eşim Fatma TÜRKOĞLU, kızım Merve TÜRKOĞLU ve oğlum Ata TÜRKOĞLU'na teşekkür etmeyi zevkli bir görev sayarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

Kapak	i
Kabul ve Onay.....	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar.....	vii
Şekiller ve Resimler	ix
Tablolar	x
Grafikler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler.....	1
1.2. Solunum	3
1.3. Atmosfer ve Atmosfer Basıncı.....	4
1.4. Yüksek İrtifa.....	6
1.4.1. Yüksek İrtifanın Organizmaya Etkisi.....	7
1.4.2. Hipoksik Hipoksi	8
1.4.3. Yüksek İrtifaya Uyum.....	9
1.4.3.1. Solunumun Artması	10
1.4.3.2. Alyuvarların ve Hemoglobinin Artması.....	11
1.4.3.3. Difüzyon Kapasitesinin Artması	13
1.4.3.4. Kalp Debisi ve Kapilleritenin Artması.....	13
1.4.3.5. Dokuların Oksijeni Kullanma Yeteneklerinin Artması	13
1.4.3.6. Kortizol Seviyesinin Artması.....	15
1.5. Serbest Radikaller (Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri-RONS)	15
1.5.1. Süperoksit Radikali	16
1.5.2. Hidrojen Peroksit	16
1.5.3. Hidroksil Radikali	17
1.5.4. Singlet Oksijen	17

1.5.5. Nitrik Oksit (NO)	17
1.6. Serbest Radikallerin Biyolojik Kaynakları	18
1.7. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türlerinin (RONS) Zararları Etkileri.....	20
1.7.1. Membran Lipidleri Üzerine Zararları Etkileri.....	20
1.7.2. Proteinler Üzerine Zararları Etkileri	22
1.7.3. DNA Üzerine Zararları Etkileri	23
1.7.4. Karbonhidratlar Üzerine Zararları Etkileri.....	23
1.8. Antioksidan Savunma Sistemi	24
1.8.1. Enzimatik Antioksidanlar	24
1.8.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	25
1.8.1.2. Katalaz (CAT), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon Redüktaz.....	25
1.8.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	27
1.9. Oksidatif Stres ve Yüksek İrtifa Arasındaki İlişki	27
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
2.1. Deney Hayvanları.....	29
2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	31
2.3. Akut İrtifa Değişimi	31
2.4. Kan Örneklerinin Alınması	33
2.5. Akyuvar Düzeyinin Belirlenmesi.....	34
2.6. Alyuvar Düzeyinin Belirlenmesi.....	34
2.7. Hematokrit Düzeyinin Belirlenmesi	34
2.8. Hemogloblin Düzeyinin Belirlenmesi.....	34
2.9. Malondialdehid Düzeyinin Belirlenmesi	35
2.10. Redükte Glutasyon Düzeyinin Belirlenmesi	36
2.11. Total Antioksidan Statü (TAS) Tayini	37
2.12. Total Oksidan Statü (TOS) Tayini	37
2.13. NOx Düzeyinin Belirlenmesi.....	38
2.14. Glikoz Düzeyinin Belirlenmesi.....	39
2.15. Kortizol Düzeyinin Belirlenmesi	39
2.16. İstatistik Analizler	39

3. BULGULAR	40
3.1. Akyuvar ve Alyuvar Düzeyleri	41
3.2. Hemoglobin Düzeyleri	42
3.3. Hematokrit Düzeyleri.....	43
3.4. Glikoz Düzeyleri	44
3.5. Kortizol Düzeyleri.....	45
3.6. Malondialdehid (MDA) Düzeyleri.....	46
3.7. Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyleri	47
3.8. TAS ve TOS Düzeyleri	48
3.9. Nitrik Oksit Metabolitleri (NOx) Düzeyleri	50
4. TARTIŞMA	51
5. SONUÇ	60
ÖZET	62
SUMMARY	63
KAYNAKLAR	64

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABTS ⁺	2,2'-Azino-Bis-(3-Etilbenzotiazolin-6-Sülfonik) Asit
AMS	Akut Dağ Hastalığı
ARDS	Pulmoner Disfonksiyon
CAT	Katalaz
DPG	2,3-Difosfogliserat
DTNB	5,5'-Dithio-Bis-(2-Nitrobenzoik Asit)
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
Fe ⁺²	Ferröz İyon Kompleksi
Fe ⁺³	Ferrik İyon Kompleksi
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon Peroksidaz
GSSG	Glutatyon Disülfit
H ⁺	Hidrojen İyonu
H ₂ CO ₃	Karbonik Asit
HACE	Yüksek İrtifa Beyin Ödemi
HAPE	Yüksek İrtifa Akciğer Ödemi
Hb	Hemoglobin
HCO ₃ ⁻	Bikarbonat İyonu
Hct	Hematokrit
ICAO	Uluslararası Sivil Havacılık Örgütü
LOOH	Lipit Hidroperoksit
M.E.B	Milli Eğitim Bakanlığı
mb	Milibar
MDA	Malondialdehit
Mn SOD	Mitekondriyal Enzim Süperoksit Dismutaz
mtNOS	Mitokondriyal Nitrik Oksit Sentaz
Na ₂ HPO ₄	Disodyum Fosfat

NAG	N-Asetil-Beta-D-Glikozaminidaz
NEDD	N-(1-Naphthyl) Ethylenediamin
NO _x	Nitrözoksit Metabolitleri
ONOO ⁻	Reaksiyon Peroksinitrit
PCO ₂	Karbondioksit Parsiyel Basıncı
PCO _{2alv}	Karbondioksit Alveolar Parsiyel Basıncı
PH ₂ O	Su Buharı Parsiyel Basıncı
PH ₂ O _{alv}	Su Buharı Alveolar Parsiyel Basıncı
PN ₂	Nitrojen Parsiyel Basıncı
PN _{2alv}	Oksijen Alveolar Parsiyel Basıncı
PO ₂	Oksijen Parsiyel Basıncı
PO _{2alv}	Nitrojen Alveolar Parsiyel Basıncı
PUFA	Poliansatüre Yağ Asitleri
RONS	Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri
rpm	Devir Dakika
SH	Sülfidril Grubu
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAS	Total Antioksidan Statü
TBA	Tiyobarbutirik Asit
TBARS	Tiyobarbütirat Reaktif Maddeler
TCA	Trikarboksilik Asit
TOS	Total Oksidan Statü
VCl ₃	Vanadium Klorür

ŒEKİLLER ve RESİMLER

Sayfa No

Resim 1. Normobarik Yüksek İrtifa Simülatörü Çadır Düzeneği.....	32
Resim 2. Normobarik Yüksek İrtifa Simülatörü Kompansatörü	32
Resim 3. 5000 m İrtifanın Simüle Edilmesi.....	33

TABLÖLAR

Sayfa No

Tablo 1. Deniz Seviyesinde Havanın Bileşimi	5
Tablo 2. Düşük Atmosfer Basıncına Akut Maruz Kalmanın, Alveolar Gaz Konsantrasyonları ve Arteriyel Oksijen Saturasyonuna Etkileri	11
Tablo 3. Standart Rat Yemi İçeriği	30
Tablo 4. Deney Grupları ve Deneme Düzeni	31
Tablo 5. Ölçülen Parametrelere Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri	40

GRAFİKLER

Sayfa No

Grafik 1. Yükseklikle Basınç Arasındaki İlişki	7
Grafik 2. Akyuvar Düzeyleri	41
Grafik 3. Alyuvar Düzeyleri	42
Grafik 4. Hemoglobin Düzeyleri.....	43
Grafik 5. Hematokrit Düzeyleri	44
Grafik 6. Glikoz Düzeyleri.....	45
Grafik 7. Kortizol Düzeyleri	46
Grafik 8. MDA Düzeyleri	47
Grafik 9. Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyleri.....	48
Grafik 10. TAS Düzeyleri.....	49
Grafik 11. TOS Düzeyleri.	49
Grafik 12. NOx Düzeyleri	50

1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Yükselti (irtifa); deniz seviyesinden yaklaşık 1600 m ve daha yüksek ortamlar irtifa olarak tanımlanmaktadır. İrtifanın; 2500 m'ye kadarı hafif, 3500 m'ye kadarı orta, 5500 m'ye kadarı yüksek ve 5500 m'den fazlası ise aşırı yüksek irtifa olarak kabul edilir (Başoğlu ve ark., 2005). Orta ve yüksek irtifada yaşayan yerli insanların sayısı nispeten az olup, yaşamlarını sürdürdükleri irtifa ile ilgili problemle karşılaşmazlar. Ancak birçok kişi akut dağ hastalığı (AMS), daha az sıklıkla da yüksek irtifa akciğer ödemi (HAPE) veya yüksek irtifa beyin ödemi (HACE) ile ilişkili aralıklı hipoksiye maruz kalmaktadır. Hipoksi; ortamdaki oksijen konsantrasyonunun az olması veya ortam normal oksijen konsantrasyonunda iken, dokuya herhangi bir nedenle yeteri kadar oksijen taşınmaması sonucu organların mevcut oksijeni kullanamaması durumudur (Amin ve ark., 1988, Hochachka,1998; Ağaşcıoğlu, 2007). Hipoksi ile ilişkili bu belirtiler (AMS, HAPE, HACE) yüksek yerlere çok hızlı seyahat edenlerde meydana gelmekte ve bazı araştırmacılar hipoksi kaynaklı oksidatif stresle bu belirtilerin gelişmesi arasında bağlantı olduğunu bildirmektedir (Askew, 2002).

Hipoksiye alıştırma çalışmaları, oksijen taşınması ve kullanımını etkileyen bir dizi metabolik, kardiyovasküler ve solunum uyarlamalarını başlatır. Ancak, yüksek irtifaya çıkılarak güçlendirilmiş fiziksel performans elde etmeyi destekleyen yeterince bilimsel veri bulunmamaktadır. Buna rağmen, birçok seçkin sporcu yüksek irtifalarda kontrolsüz çalışma yaparak zaman ve kaynak harcamasına devam etmektedir (Bailey ve Davies, 1997).

Bilimsel araştırmalar yüksek irtifada yapılan egzersizin teorik olarak kan hemoglobin konsantrasyonu artışı, yüksek tamponlama kapasitesi ile iskelet kasının yapısal ve biyokimyasal özelliklerinde gelişmeler sağlayacağı üzerine odaklanmıştır. Ancak, yüksek irtifada yapılan egzersiz tüm yönleriyle yararlı olmayıp bağışıklığın zayıflaması, depresyon ve oksidatif stres aracılı doku hasarının artması gibi sonuçları

da doğurmaktadır. Bu sonuçlar gelecekteki araştırmalarda yüksek irtifanın yararlı yönlerinin yanı sıra zararlı yönleri üzerinde de odaklanılmasını gerektirmektedir (Bailey ve Davies, 1997).

Yüksek irtifada azalmış oksijen basıncına maruziyet Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri (RONS) üretiminin artmasına neden olur. Artmış olan RONS ise lipid, protein, karbonhidrat ve DNA'da oksidatif hasara neden olur. Oksidatif hasarın meydana geliş şiddeti; yükseklik derecesi ile doğru orantılıdır. Geniş bir yelpazede olan RONS üretme sistemleri (mitokondriyal elektron taşıma zinciri, ksantin oksidaz ve nitrik oksit sentaz gibi) yüksek irtifaya maruz kalma sırasında aktive edilir. Yüksek irtifanın diğer bir etkisinde enzimatik ve non-enzimatik antioksidan sistemleri zayıflatmasıdır. Antioksidan besin alımı, irtifanın neden olduğu oksidatif hasarı azaltmada yararlı olmaktadır. Yüksek irtifaya maruziyet ile ilişkili oksidatif hasar, iskemi/perfüzyonda oluşan oksidatif hasara benzerlik göstermektedir (Dosek ve ark., 2007).

Yüksek irtifada hipoksi dışında; fiziksel aktivite, UV ışık ve soğuğa maruz kalma gibi çevresel faktörler de oksidatif hasar düzeyinin artmasına katkıda bulunur (Askew, 2002; Dosek ve ark., 2007).

Son yıllarda çeşitli nedenlerle yüksek irtifalı yerlere giden canlı sayısının artması, irtifa ile ilgili seyahat tıbbı uygulayıcılarının önemini artırmış (Milledge, 2006) ve yüksek irtifa heyecan verici bir laboratuvar halini almıştır. Bu laboratuvarda başlangıçta organizmanın hipoksiye uyumu araştırılırken, son yıllarda irtifa ile ilgili hastalıklar ve bu hastalıklara tedavi bulma amaçlanmaktadır (Scherrer ve ark., 2010).

İnsanların görev, gezi, av, nakil, deney amaçlı veya performans geliştirme çalışmaları gibi farklı maksatlarla çıkmış olduğu irtifalara, insanlara eşlik eden değişik türlerdeki hayvanlar da çıkmak durumunda kalmaktadır. Hayvanların irtifaya maruziyeti sonucu organizmalarında olan değişimlerin insan ve diğer türler ile

benzer olması, irtifa ile ilgili çalışmalarda deney hayvanı kullanılan bir deney modeli oluşturulmasına imkan sağlamaktadır (Bakonyi ve Radak, 2004).

Mevcut çalışmaların birçoğu belirli bir yükseltiye çıkılarak yapılmakta, bu durum tekrarlanabilirlik ve kontrol grubu karşılaştırması yapılmasında yetersizliklere neden olmaktadır. Ayrıca hipoksi dışında diğer çevresel faktörlerin de çalışmayı etkileme olasılıkları mümkün olmaktadır (Green, 2000). Hipoksi ortamının simülatör ile sağlanması, belirli bir irtifa ile ilgili yapılacak çalışmalarda tekrarlanabilirlik ve kontrol grubu karşılaştırması yapılmasına olumlu katkı sağlayacağı değerlendirilmektedir.

Yapılan bu çalışmada akut yüksek irtifa değişimine maruz kalan ratlarda, yüksek irtifanın etkilerinin araştırılması amaçlanmış, çalışmada irtifa değişimine bağlı hipoksi ortamı simülatör ile sağlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilecek bulgular, ileride yapılacak diğer çalışmalar açısından da yararlı olacaktır.

1.2. Solunum

Canlı hücrelerin ana niteliklerinden birisi, içinde bir tip enerjiyi başka bir tipe dönüştürmek için karmaşık ve elverişli bir sistemin bulunmasıdır. Hücrede büyüme, irkilme, hareket, beslenme, tamir ve üremeyi sağlayan kimyasal reaksiyonlar topluca metabolizma olarak adlandırılır (Villem, 1972; Sözbilir Bayşu ve Bayşu, 2008). Metabolizma sırasında karbonhidrat, yağ ve proteinler gibi büyük moleküllerde bulunan potansiyel enerjiden, kinetik enerji ve su elde edilir. Karbonhidrat ve diğer moleküllerin kimyasal enerjilerinin, biyolojik olarak kullanışlı enerji olan fosfat bağlarına dönüşümü hücresel solunum (Biyolojik oksidasyon) ile mitokondrilerde gerçekleşir. Elde edilen kinetik enerjinin, hücreden hücreye veya molekülden moleküle akışı (hidrojen atomu veya elektron) ile canlılığın devamı sağlanır (Villem, 1972). Metabolizmada son hidrojen alıcısı oksijen olup, reaksiyon su ve karbondioksit oluşumu ile sonlanır (Villem, 1972; Demirsoy, 1985; Noyan, 1989).

Canlıların oksijen kullanıp karbondioksit, su ve enerjinin biyolojik olarak kullanılabilir şekli olan ATP'yi oluşturma süreci solunum olarak ifade edilir (Villem, 1972). Vücutta çok az oksijen depo edildiği (kanda oksihemoglobin, kasta oksimiyoglobin) için, metabolizmanın devam etmesi hücrelere kesintisiz oksijenin sağlanmasına bağlıdır (Villem, 1972; Demirsoy, 1985). Hücrelere kesintisiz oksijeni sağlamak için hayvanların organizasyon derecesine göre yardımcı organlar gelişmiştir (Demirsoy, 1985). Yüksek omurgalılarda bu yardımcı organ akciğerdir (Demirsoy, 1985; Noyan, 1989). Omurgalı canlıların karalarda yaşayan kısmı (sürüngenler, kuşlar, memeliler gibi) enerji metabolizması için ihtiyaç duyduğu oksijeni, akciğer solunumu ile atmosferik oksijenden karşılar (Villem, 1972; Noyan, 1989; Başaran, 2005).

Solunumun amacı dokulara oksijen sağlamak ve karbondioksiti dokudan uzaklaştırmaktır. Bu amacı gerçekleştirmek için gelişen olaylar dizisi; (1) Atmosferik hava ile akciğer alveolleri arasında gaz alışverişi, (2) Alveoller ile kan arasında oksijen ve karbondioksit difüzyonu, (3) Dokular ve kan arasında oksijen ve karbondioksit difüzyonudur (Guyton ve Hall, 1996).

Solunumda başlıca etkili olan gazlar oksijen, karbondioksit, su buharı ve nitrojendir. Bu gazların her birinin difüzyon hızı, aynı gazın tek başına oluşturduğu basınç (parsiyel basınç) ile doğru orantılıdır. Gazların bir ortamdan diğer ortama geçişinde temel etken, aynı gazın iki ortam arasındaki parsiyel basınç farkı büyüklüğüdür (Guyton ve Hall, 1996).

1.3. Atmosfer ve Atmosfer Basıncı

Yerkürenin etrafını saran ve çeşitli gazların karışımından meydana gelen katman atmosfer olarak adlandırılmaktadır. Atmosferin bileşimi tüm dünyada ve yüksekliklerde aynı olup oksijen, nitrojen, karbondioksit, argon ve küçük miktarlarda diğer gazlardan oluşur. Atmosferde en yüksek orana sahip gaz yaklaşık olarak % 78 oranı ile nitrojen ve % 21 oranı ile oksijendir. Diğer gazların oranı ise yaklaşık olarak

% 1'dir (Milledge, 2006). Dört farklı ortamdanda meydana gelen atmosferin yeryüzüne en yakın olan katmanı Troposfer'in kalınlığı ortalama 11 km (Ekvatorda 18 km, kutuplarda ise 8 km) olup atmosfer (hava)'i oluşturan gazların % 75'i bu katta bulunur (Çınar, 2008; M.E.B., 2008). Tablo 1'de deniz seviyesindeki havanın bileşimi verilmiştir (M.E.B., 2008).

Tablo 1. Deniz Seviyesinde Havanın Bileşimi.

Gazlar	Hacimce (%)
N ₂	78.084
O ₂	20.946
Ar	0.934
CO ₂	0.035
Diğer soy gazlar	0,002428
CH ₄	0,00015
H ₂	0,00005
NO	0,0000251
CO	0,00001
O ₃	0,000002
SO ₂	0,00000002
Su buharı ve toz havada değişik oranlarda bulunur.	

Dünyayı kuşatan gazların yer çekimi etkisine bağlı olarak bir ağırlığı vardır. Atmosferin maddeler üzerinde kendini bir basınç olarak gösterdiği bu ağırlığa atmosfer (hava) basıncı denmektedir (Dönmez, 1984; Erol, 1993; Abay, 2009; Oruç ve ark., 2009).

Hava kütleinin 45° kuzey enleminde, 15°C sıcaklıkta, deniz seviyesinde, 1 cm²'lik alan üzerinde yaptığı basınç normal basınç olarak adlandırılır. Normal basınçtan yüksek olana yüksek basınç, düşük olana ise alçak basınç denir. Normal basınç değeri 1013 mb ya da 760 mmHg'dir (Abay, 2009; Oruç ve ark., 2009). Deniz seviyesinde solunan havadaki gazların hava içindeki oranına göre parsiyel basınçları

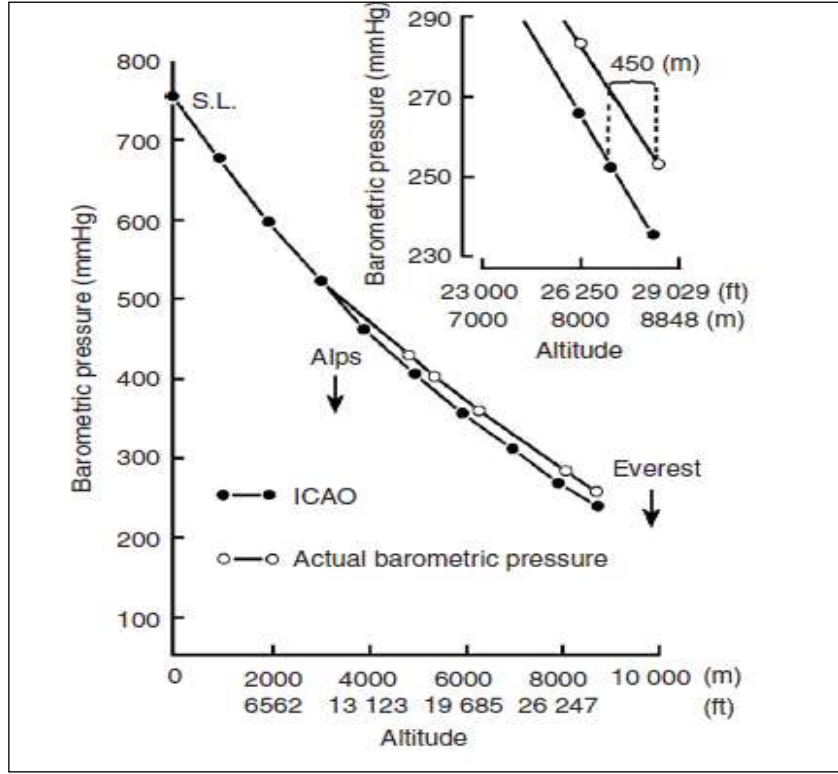
ise; P_{N_2} 597,5 mmHg, P_{O_2} 158,4 mmHg, P_{CO_2} 0,3 mmHg ve P_{H_2O} 3,8 mmHg olur (Noyan, 1989; Guyton ve Hall, 1996).

Deniz seviyesinde alveol havasındaki gazların oranı % 75 azot, % 14 oksijen, % 5 karbondioksit ve % 6 su buharı şeklindedir (Demirsoy, 1985; Guyton ve Hall, 1996). Bu gazların alveolar havadaki parsiyel basıncı ise; $P_{N_{2alv}}$ 569,2 mmHg, $P_{O_{2alv}}$ 103,4 mmHg, $P_{CO_{2alv}}$ 40,2 mmHg ve $P_{H_2O_{alv}}$ 47,1 mmHg'dir (Demirsoy, 1985; Noyan, 1989; Guyton ve Hall, 1996).

Alveollerde oksijen parsiyel basınç farkından dolayı vücut sıvısına, karbondioksit ise dış ortama geçer. Havadaki yaklaşık 159 mmHg'lik oksijen basıncı alveollerde 104 mmHg'ye düşer. Akciğerlerden dokulara giden kanın oksijen basıncı 100 mmHg, dokulardan dönen kanın oksijen basıncı 40 mmHg ve dokulardaki oksijen basıncı ise 0-40 mmHg'dir (Demirsoy, 1985).

1.4. Yüksek İrtifa

Deniz seviyesinden yükseldikçe azalan yer çekimi etkisi ile havanın birim hacimdeki molekül miktarı azalmakta (Aksoy, 2003), buna bağlı olarak da hava basıncı deniz seviyesinden yükseldikçe azalmaktadır (Abay, 2009). İrtifa ile ilişkili azalan hava basıncına paralel olarak, solunan havanın yoğunluğu ve dolayısıyla oksijen miktarı da azalmaktadır (Milledge, 2006). Canlıların yüksek irtifa ile ilgili yaşadığı problem, irtifa artışına ters orantılı olarak oluşan basınç düşmesine bağlı oksijen azlığıdır (Milledge, 2006). Grafik 1'de Uluslararası Sivil Havacılık Örgütü (ICAO)'nün hazırladığı standart atmosfere göre yükseklikle basınç arasındaki ilişki gösterilmektedir (Milledge, 2006).



Grafik 1. Yükseklikle Basınç Arasındaki İlişki.

1.4.1. Yüksek İrtifanın Organizmaya Etkisi

Deniz seviyesinden yükseldikçe, solunan havadaki oksijen içeriğindeki azalmaya alveoler oksijen basıncı ve arteriyel oksijen saturasyonundaki düşüş eşlik eder. (Silbernağl ve Despopulos, 1985; Guyton ve Hall, 1996). Arteriyel oksijen saturasyonunda değişim olması solunum fonksiyonlarında değişim olduğunun göstergesi olarak kabul edilmektedir (Beall, 2000).

Solunum fonksiyonlarında 1500 m irtifaya kadar ölçülebilir düzeyde belirgin değişimler ortaya çıkmamakla (Çoksevim ve ark., 2002) birlikte, 2000 m'den itibaren PO_2 'de düşme nedeniyle solunumda zorlanma başlamaktadır (Mazıcıoğlu ve ark., 1999). Hipoksi olarak da tanımlanan bu durum, doku düzeyinde oksijen eksikliğine neden olur (Noyan, 1989; Butterfield ve Mazzeo, 1996; Şeren, 2007; Sözbilir Bayşu ve Bayşu, 2008).

Hipoksi; sıcak, soğuk, hava kirliliği, gürültü gibi çevresel streslerin en iyi bilinenlerindedir. Organizmada fizyolojik ve hücrel birçok sürecin işleminde son derece önemli olan oksijenin, normal düzeyin altına düşüşü birçok düzensizliği beraberinde getirmektedir. (Kvetnanský ve ark., 1998). Oksijen yetersizliğinin sebeplerine göre; Hipoksik Hipoksi, Anemik Hipoksi, Stagnant Hipoksi, Histotoksik Hipoksi gibi sınıflandırılan hipoksinin yüksek irtifa ile ilgili olanı, hipoksik (hipobarik) hipoksidir (Silbernagl ve Despopulos, 1985).

1.4.2. Hipoksik Hipoksi

Vücutta biyolojik oksidasyon, belirli düzeyde oksijen basıncına ihtiyaç gösterir. Çeşitli nedenlerden dolayı alveol havasında oksijen basıncının düşük ve kanın oksijenle doymamış olması hipoksik hipoksi olarak tanımlanır (Silbernagl ve Despopulos, 1985; Astrand ve Rodahl, 1986; Noyan, 1989; Şinoforoğlu, 2002; Ağgön, 2006). Hipoksik hipoksi özellikle yüksek yerlerde kendini gösterir (Noyan, 1989).

Yüksek irtifanın organizmada meydana getirmiş olduğu değişimler ve bu değişimlerin araştırılması oldukça eski yıllara dayanmakta olup, ilk bilgiler 16'ncı ve 17'nci yüzyılda Güney Amerika'nın yüksek irtifalı yerlerine giden İspanyol misyonerlerin kendi deneyimlerini anlatmasından elde edilmiştir. İlk modern bilgiler ise, Thomas Ravenhill (15 000 feet yükseklikte bulunan maden ocağının sağlık memuru)'in dağ hastalığını tanımlaması (Rodway ve ark., 2003) ve Paul Berth'in 1878 yılında bu hastalığın başlıca nedeni olarak barometrik basınçtaki düşmeye bağlı hipobarik hipoksi olduğunu belirtmesidir (Astrand ve Rodahl, 1987; Atış, 2004).

Günümüzde insanlar farklı nedenlerle hipoksiye maruz kalmaktadır. Örneğin; Birçok insan hava yolu taşımacılığını kullanarak uzak ülkelere seyahat etmektedir. Çıkkılan irtifaya bağlı olarak kabin basıncının ortalama 1524-2438 m irtifaya eşdeğer ve solunan oksijenin % 15-17 oranlarında oluşu (Cramer ve ark., 1996), yolcuların

bazen ara vermeksizin 16 saat süre ile hipoksiye maruz kalmasına neden olmaktadır (Peacock, 1998).

Daha önce birkaç dağcının yılda belirli aralıklarla gittiği yüksek irtifalı yerlere, (>2500 m) şimdilerde (Milledge, 2006) milyonlarca insan çeşitli (iş, gezi, eğlence ve sportif) faaliyetler için gitmektedir (Tabak, 2000; Mazııcıoğlu ve ark., 2001). Diğer yandan, sporcu performansının geliştirilmesi amacıyla uygulanan irtifa antrenmanları da çıkılan irtifaya bağlı olarak sporcuların bir süre hipoksiye maruz kalmasına neden olmaktadır (Akın, 2007).

Yüksek irtifalarda yaşayanlarda birtakım tıbbi rahatsızlıklar görülmekle birlikte, acil tıbbi rahatsızlıklar daha çok yüksek irtifalara kısa sürede çıkanlarda gelişmektedir. Yüksek irtifalarda ortaya çıkan ve hayati tehdit oluşturabilen başlıca rahatsızlıklar Akut Dağ Hastalığı (AMS), Yüksek İrtifa Akciğer Ödemi (HAPE) ve Yüksek İrtifa Serebral Ödemi (HACE)'dir (Krieger ve de la Hoz, 1999; Schoene ve ark., 2000; Tabak, 2000; Mazııcıoğlu ve ark., 2001; Milledge, 2006).

1.4.3. Yüksek İrtifaya Uyum

Yüksek irtifaya bağlı hipoksi, kan oksijen taşıma sistemi için önemli bir sorundur ve kan oksijen afinite ayarlamaları canlının hipoksiye dayanımına önemli ölçüde katkı sağlamaktadır (Samaja ve ark., 2003). Omurgalı hayvanlar irtifa ile ilişkili aerobik hayatı kısıtlayan oksijen düşüşüne tahammül gösterebilecek uyum mekanizmaları geliştirebilmektedir (Monge ve Leon-Velarde, 1991; Weber, 1995; Samaja ve ark., 2003).

Organizmanın hipoksiye uyumu, hipoksiye maruz kalma derecesi ve şekline bağlıdır. Örneğin; 8800 m yükseklikte bulunan bir pilot üzerine ani kabin basıncı kaybı şeklindeki irtifaya bağlı hipoksi etkisi ile buna eşdeğer yüksekliğe karşılık gelen irtifaya çıkan dağcının üzerine olan hipoksinin etkisi farklıdır. Pilot yaklaşık iki dakika içinde bilinç kaybına uğrarken, yavaş yavaş bu yüksekliğe çıkan dağcıda

bilinç kaybı şekillenmez. Bunun nedeni yüksekliğe yavaş çıkmaya bağlı gelişen uyumdur (Milledge, 2006).

Organizmada çok uzun sürede gelişen uyum adaptasyon olarak adlandırılır. Adaptasyon, hemoglobin (Hb) molekülünün yapısında değişikliğe bağlı ve hemoglobinin oksijene afinitesini artıran değişimlerdir.

Kısa süreli uyum ise Aklimatizasyon olarak adlandırılan diğer etkileşimler olup (Weber, 2007), hafif (2500 m) ve daha yüksek irtifada azalan alveoler oksijen parsiyel basıncıyla ilişkili olarak başlamaktadır (McArdle ve ark., 2007). Aklimatizasyonda; solunumun artması, kalp atımının artması, alkali rezervlerinin azalması, plazma hacminin azalması sonucu hematokrit (Hct) yükselmesi ve hemoglobin konsantrasyonunun artması (Zorba ve ark, 1995; Şeren, 2007) ile kortizol salınımına bağlı glikoz artışı gibi organizmada bir dizi değişiklikler şekillenir (Milledge, 2006). Aklimatizasyon birkaç hafta içinde gerçekleşmekte ve deniz düzeyine inildikten birkaç hafta sonra ise kazanılan bu değişiklikler kaybedilmektedir (Ergen, 1992; Şeren, 2007).

1.4.3.1. Solunumun Artması

Azalan oksijen parsiyel basıncı, kanda yetersiz oksijen saturasyonuna ve dolayısıyla vücuttaki bütün dokulara yetersiz oksijen tedarik edilmesine neden olur. Bunu telafi etmek için organizmanın denediği ilk yol, ventilasyon değerini (akciğerlere gelen ve giden toplam hava miktarı) nefes frekansını çoğaltarak artırmaktır (Harvey ve ark., 1994; Şeren, 2007). Çok düşük PO_2 'ye ani maruz kalınması, alveolar ventilasyonu % 60 oranında artırır (Guyton ve Hall, 2001; Ağgön, 2006). Organizmada solunum artırılarak PCO_{2alv} 'nin azaltılması, PO_{2alv} 'nin artması amaçlanır (Milledge, 2006).

Tablo 2. Düşük Atmosfer Basıncına Akut Maruz Kalmannın, Alveolar Gaz Konsantrasyonları ve Arteriyel Oksijen Saturasyonuna Etkileri (parantez içindeki değerler aklimatize değerlerdir) (Guyton ve Hall, 1996).

Yükseklik (metre)	Barometrik Basınç (mmHg)	Havada PO ₂ (mmHg)	Alveolde PO ₂ (mmHg)	Alveolde PCO ₂ (mmHg)	Arteriyel O ₂ Saturasyonu (%)
0	760	159	104 (104)	40 (40)	97 (97)
3 000	523	110	67 (77)	36 (23)	90 (92)
6 000	349	73	40 (53)	24 (10)	73 (85)
9 000	226	47	18 (30)	24 (7)	24 (38)
12 000	141	29			
15 000	87	18			

Düşük oksijen konsantrasyonuna dayanımda, uzun sürede yavaş olarak yüksek irtifaya çıkılması, hızlı olarak yüksek irtifaya çıkılmasından daha etkilidir. Bunun nedeni beyin sapındaki solunum merkezinin 2-3 gün içinde arteriyel PCO₂ ve Hidrojen İyonu (H⁺) değişikliğine karşı duyarlılığının 4/5'ini kaybetmesidir. Normal durumda karbondioksit azalması solunumu inhibe ederken, kronik oksijen azalması alveoler ventilasyonu çok daha fazla artırır (Guyton ve Hall, 1996).

1.4.3.2. Alyuvarların ve Hemoglobinin Artması

Yükseklığe uyumda en önemli değişimlerden birisi de hemoglobin ve hematokrit artışıdır. Bu artış ile kanın oksijen doygunluğu yaklaşık 4500 m yüksekliğe kadar korunur. Ancak kısa sürede gelişen bu artış, alyuvar veya hemoglobin konsantrasyonunda olan gerçek bir artış şeklinde olmayıp, kan plazma hacmindeki azalmadan kaynaklanan bir artıştır. Gerçek anlamda alyuvar artışı için Eritropoetin tarafından kemik iliğinin uyarımı gereklidir (Milledge, 2006).

Dolaşım sistemindeki total alyuvar kitlesi dar sınırlar içinde dzenlenir. Dolaşımda doku oksijenlenmesini sağlayacak kadar yeteri miktarda alyuvar daima bulunurken, kan akımına engel olacak kadar fazla sayıya ulaşması da sınırlandırılır. Bu dzenlemede alyuvar üretiminin kontrolü eritropoetin ile sağlanır ve dzenlemenin temelini kanın dokulara oksijen taşımadaki fonksiyonel yeteneği oluşturur. Dokulara giden oksijenin azalmasına neden olan her koşul (hemoraji, hipoksi, v.b.) alyuvar üretiminin hızını artırır. Havadaki oksijen miktarının büyük oranda azaldığı çok yüksek yerlerde dokulara yetersiz oksijen taşınır ve alyuvar yapımı belirgin olarak artar (Guyton ve Hall, 1996). Hayvanlarda alyuvar artışının uyarılması, deniz seviyesinde düşük oranda oksijen içeren bir kabinde bekleterek deneysel olarak da sağlanabilir (Villey, 1972).

Eritropoetin yokluğunda alyuvar üretimi stimülasyonunda etkisiz olan hipoksi, eritropoetin sistemi fonksiyonel iken eritropoetin yapımında belirgin artışa neden olur. İnsan ve hayvanlar düşük oksijene maruz kaldıklarında dakikalar içinde artan eritropoetin miktarı, 24 saatte maksimum düzeye ulaşır (Noyan, 1989; Guyton ve Hall, 1996).

Uzun süre yüksekte kalınca kanın alyuvar miktarı artar, kan viskozitesinin artması bunu sınırlar (Silbernag ve Despopulos, 1985). Ayrıca yükseklerde yaşayanlarda hemoglobin, barometrik basınçtaki düşme ile ters orantılı olarak artmaktadır (Akgün, 1993; Şeren, 2007). Tam aklimatizasyon geliştiğinde hematokrit % 40-45'den % 60'a, hemoglobin ise 15 g/dl (% 15)'den 20g/dl (% 20)'ye çıkar. Ayrıca kan hacmi çoğu kez % 20-30 oranında artığı için dolaşımdaki hemoglobin total artışı % 50 veya daha fazladır. Hemoglobin ve kan hacmindeki bu artışlar yavaş gelişir, ilk iki hafta içinde hiç değişiklik olmaz bir ay sonra yarım, ancak aylar sonra tam artış olur (Guyton ve Hall, 2001; Ağgön, 2006). Hemoglobin sentezi ile alyuvar yapımı birbiriyle kesin ilişkili değildir (Villey, 1972; Başaran, 2005).

1.4.3.3. Difüzyon Kapasitesinin Artması

Oksijenin pulmoner membranlardan difüzyon kapasitesi egzersizle üç kat artabilir. Difüzyon kapasitesindeki bu artış yüksek irtifada görülüp, üç nedene bağlıdır; (1) Pulmoner kan hacmindeki büyük miktarda artışa bağlı kapiller alan ve oksijenin kana difüzyon yüzeyinin genişlemesi, (2) Akciğer hacminin artması ile alveoller membran yüzey alanının genişlemesi, (3) Pulmoner arteriyel basınçtaki yükselmeden ileri gelir. Bu basınç artışı kanı normalden daha çok sayıdaki alveoller kapiller içine yöneltir. Kan normal koşullarda perfüzyonu iyi olmayan akciğerlerin üst bölümlerine yöneltilir (Guyton ve Hall, 2001; Ağgön, 2006). Ancak pulmoner basınçta olan artış her zaman faydalı olmayıp, akut pulmoner ödem oluşumuna neden olabilmektedir (Milledge, 2006).

1.4.3.4. Kalp Debisi ve Kapilleritenin Artması

Yüksek irtifaya çıkıldığında kalp debisi aniden % 30 artar, ancak bu artış kanın hematokrit değerinin yükselmesiyle normale döner. Dolaşımında adaptasyonu sağlayan diğer bir durum ise dokudaki kapillerite sayısının artmasıdır (Guyton ve Hall, 2001; Ağgön, 2006). Kapillerite artışı çok yüksek irtifada doğup büyüyenlerde görülür (Guyton ve Hall, 1996).

1.4.3.5. Dokuların Oksijeni Kullanma Yeteneklerinin Artması

Akciğerlerde oksijenle yüklenmiş olan hemoglobin, dokulara geldiğinde gevşek olarak bağlandığı oksijeni serbest bırakır. Kanda oksijenin hemoglobinle birleşmesi ve hemoglobinden ayrılması, ortamdaki oksijen ile belirli oranda da karbondioksitin yoğunluğuyla denetlenir. Oksijenin hemoglobinden ayrılmasında doku hücrelerinde meydana gelen karbonik ve laktik asitlerin ortama bıraktığı Hidrojen İyonu (H^+) miktarı önem taşır.

Dokularda oluşan karbondioksit suyla tepkimeye girerek Karbonik Asit (H_2CO_3)'i oluşturur, bu ise kanın asitliğini artırır. Alyuvarlarda bulunan Karbonik Anhidraz enzimi H_2CO_3 'ü, H^+ ve Bikarbonat iyonu (HCO_3^-)'na ayrıştırır. Ortamda çoğalan H^+ da hemoglobinle birleşerek, hemoglobinin oksijene olan ilgisini azaltır (Bohr etkisi). Bohr etkisi nedeniyle ortamda bulunan H^+ 'nin miktarına bağlı olarak hemoglobinden oksijen serbest bırakılır. Bu durum, oksijene gerek görülen bölgelerde (CO_2 'nin fazla olduğu) oksijenin hemoglobinden serbest bırakılmasını sağladığı için, çok düzenli bir oksijen yayılımını sağlar. Hipoksik hipokside oksijen azlığı refleks yoluyla solunumu artırmakta, artan solunum ise vücuttan bol miktarda karbondioksit atılmasına neden olmaktadır. Bu durum ortamın asit oranını düşürmekte, esasen az olan oksijenden de dokular Bohr etkisine bağlı olarak yararlanamamaktadır (Demirsoy, 1985; Noyan, 1989).

Oksijenin hemoglobinden ayrılmasında etkili olan bir diğer faktör, alyuvarlarda oluşan fosfat bileşiklerinin yani; 2,3-difosfogliserat (DPG)'ın miktarıdır. Alyuvarlarda hemoglobin molekülü sayısı kadar DPG molekülü vardır. DPG oksijenini bırakmış olan hemoglobine bağlanarak (oksihemoglobine bağlanmaz) hemoglobinin oksijene afinitesini azaltır (Demirsoy, 1985; Noyan, 1989; Guyton ve Hall, 1996; Şeren, 2007). Birkaç saatten fazla süren hipoksik koşullarda alyuvarlar DPG sentezini artırır. Artmış olan DPG hemoglobinle birleşerek hemoglobinin oksijene ilgisini azaltır ve doku hücrelerine yüksek oranda (DPG artışının olmadığı duruma kıyasla 10 mmHg daha yüksek PO_2 'de) oksijen geçişini sağlar. 4500 m yükseklikte bu etki ile dokulara verilen oksijen miktarı % 10-20 oranında artırılır. Ancak aşırı DPG varlığı, alveolar oksijenin parsiyel basıncının azaldığı durumlarda (yüksek irtifa kaynaklı hipokside) akciğerlerde hemoglobin ile oksijenin birleşmesine de engel olarak, yararlı olduğu kadar zararlı etki oluşturmaktadır (Guyton ve Hall, 1996; Şeren, 2007).

1.4.3.6. Kortizol Seviyesinin Artması

Kortizol; stres durumunda ACTH tarafından uyarılan Adrenal Korteks'ten salınan ve proteinlerin karbonhidratlara dönüşümünü uyaran hormondur (Demirsoy, 1985; Sözbilir Bayşu ve Bayşu, 2008). Bu hormon kan şekerini artırır, yağdan ve proteinden karbonhidrat yapımı ile karaciğerde glikojen depolanmasını hızlandırır, glikozun oksidasyonunu önler (Demirsoy, 1985; Başaran, 2005; Sözbilir Bayşu ve Bayşu, 2008).

1.5. Serbest Radikaller (Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri-RONS)

Dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız ve çok etkin moleküller Serbest Radikal olarak isimlendirilir (Halliwell, 1991; Floyd 1993; Abdollahi ve ark., 2003; Valko ve ark., 2007). Serbest radikaller stabil olmayan ve reaktif moleküllerdir. Diğer moleküllere elektron verebildiklerinden ya da onlardan elektron alabildiklerinden dolayı vücutta indirgeyici veya yükseltgeyici olarak davranırlar (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Flora, 2007). Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (McCord, 1993; Gülbahar, 2007; Atmaca, 2009) ve süperoksit, hidroksil, lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir (Cochrane, 1991; Valko ve ark., 2006; Demirayak, 2007; Valko ve ark., 2007).

Bu radikaller dışında yer alan ve membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilen hidrojen peroksit (H_2O_2), eşleşmemiş elektrona sahip olmadığından radikal olarak adlandırılmaz (McCord, 1993). Ayrıca, normal oksijenden daha hızlı bir biyolojik molekül olan Singlet Oksijen de radikal olarak adlandırılmaz (Halliwell, 1991). Bu moleküller organizmada radikal olmayıp radikal oluşumuna öncülük eden moleküllerdir (Acker, 2005; Aditi ve ark., 2007; Ağaşcıoğlu, 2007). Biyolojik sistemlerde reaktif oksijen türleri dışında nitrojenin katıldığı serbest radikaller de oluşur (Çaylak, 2011).

Serbest radikal teriminin Singlet Oksijen, H₂O₂ ve Nitrik Oksit (NO) gibi reaktif ancak radikal olmayan türlerin ifadesi için kullanılması doğru değildir. Bunun yerine daha genel olan Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri (RONS) teriminin kullanılması daha uygundur (Bast ve ark., 1991). RONS, dış orbitallerinde paylaşılmamış bir elektron ile bir oksijen atomu bulunan moleküllerdir. Oksijenin indirgenmesi ya da oksijene iyonize radyasyonun etkimesi ile meydana gelirler (Halliwell ve Gutteridge,1989; Flora, 2007).

1.5.1. Süperoksit Radikali

Moleküler oksijen kolayca bir elektron kazanarak, bir tane eşleşmemiş elektronu bulunan süperoksit radikalini oluşturur (Bast ve Goris, 1989; McCord, 1993, Delibaş ve Özcankaya, 1995). Süperoksit radikali tüm aerobik hücrelerde (Jalal ve Fuller, 1993; Demirayak, 2007) hem çevresel etkenler, hem de organizmada enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikalidir. Esas önemi, hidrojen peroksit kaynaklık etmesi ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (Ünal, 1999; Demirayak, 2007).

1.5.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Süperoksit radikaline bir elektron transferi (süperoksit dismutasyonu) ya da moleküler oksijene iki elektronun eklenmesi (indirgenme) ile meydana gelir (Flora, 2007). Aerobik canlılarda süperoksitin daha az zararlı H₂O₂'e çevrilmesi, katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan Süperoksit Dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir (Jalal ve Fuller, 1993; Ünal, 1999; Kılınç ve Kılınç, 2002; Demirayak, 2007).

Mitochondriyal H₂O₂ yapımı ilk kez 1966'da Jensen tarafından saptanmış olup (Kavas, 1989), bundan sonra yapılan çalışmalar mitochondriyal hidrojen peroksitin çoğunluğunun süperoksit radikallerinin dismutasyonundan meydana geldiğini

göstermektedir (Kavas, 1989). Net yük taşımadığı için biyolojik zarlardan kolayca geçebilen hidrojen peroksidin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin sebebi metal iyonlarının (demir ve bakır gibi) varlığında hidroksil radikalının öncüsü gibi davranmasıdır (Kılınç ve Kılınç, 2002; Demirayak, 2007).

1.5.3. Hidroksil Radikali

Hidrojen peroksidin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi (Fenton Reaksiyonu) veya hidrojen peroksidin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucu (Haber-Weiss Reaksiyonu) hidroksil radikali meydana gelir (Wheler ve Salzman, 1990; Ames ve ark., 1993; Frei ve ark., 1998; Kılınç ve Kılınç, 2002; Demirayak, 2007). Hidroksil radikali oluşumu metal iyon bağımlı bir reaksiyondur ve bilinen en reaktif oksijen radikalidir (McCord, 1993; de Silva ve Aust, 1993; Gutteridge, 1994; Delibaş ve Özçankaya, 1995). İn vivo oluşan bir hidroksil radikali hemen her moleküle saldırır ve oluştuğu yerde de büyük hasara neden olur (Halliwell, 1987; Cheeseman ve Slater, 1993; Jialal ve Fuller, 1993; Demirayak, 2007; Tekkes, 2006).

1.5.4. Singlet Oksijen

Oksijenin elektronlarından birinin dışarıdan enerji alarak kendi dönüş yönünün tersi yönde bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesinde oluşur. Ayrıca, süperoksit radikalının nitrik oksit ile reaksiyonu veya hidrojen peroksidin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir (Cross ve ark., 1987; Ames ve ark., 1993; Wright ve ark., 2002; Mercan, 2004; Demirayak, 2007).

1.5.5. Nitrik Oksit (NO)

Biyolojik sistemlerde reaktif oksijen türleri dışında nitrojenin katıldığı serbest radikaller de oluşur. Reaktif nitrojen türleri olarak adlandırılan bu radikallerin en önemlisi nitrik oksittir. Nitrik oksit (NO), bir atom azot ile bir atom oksijenin

eşleşmemiş elektronlarını vererek birleşmesinden meydana gelmesi nedeniyle radikal tanımına uymaktadır (Çaylak, 2011). Paylaşılmamış elektron hem nitrojen hem de oksijen atomu üzerinde delokalize olması nedeni ile bilinen diğer radikallere göre reaktivitesi baskılandığında oldukça uzun ömürlüdür (Kılınç ve Kılınç, 2002; Demirayak, 2007). Bu lipofilik serbest radikal, damar endotel hücrelerinde Nitrik Oksit Sentaz enzimi aracılığı ile L-arjininden sentezlenir (Cochrane, 1991; Southorn ve Powis, 1998; Kılınç ve Kılınç, 2002; Demirayak, 2007).

1.6. Serbest Radikallerin Biyolojik Kaynakları

RONs oksijen metabolizması ile ilişkilidir. Aerobik organizmalarda oksijenin her yerde bulunması nedeniyle RONS farklı yapılardan kaynak alır (Özcan, 2011). Aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Oksijenin redüksiyonu ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün olan süperoksit radikali açığa çıkar. Bu radikalın spontan ya da enzimatik dismutasyon reaksiyonu ile ikinci ara ürün olan hidrojen peroksit oluşur. Yine süperoksit radikalının yer aldığı bir dizi reaksiyon sonucu, özellikle mitokondri içinde bir diğer serbest radikal olan hidroksil radikali meydana gelir (Kavas, 1989).

Serbest radikaller metabolizmada mitokondri ve mitokondri harici oksijenaz enzimleri (ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, siklooksijenaz, miloperoksidaz, glikoz oksidaz, lipooksijenaz ve nitrik oksit sentaz gibi) aracılığı ile oluşur (Acker, 2005; Aditi ve ark., 2007; Ağaşcıoğlu, 2007).

Soluduğumuz oksijen organizmada metabolize edilirken; % 85-90'ı mitokondride elektron transfer zinciri tarafından, kalan % 10-15'i ise kimyasal oksidasyon reaksiyonları ve oksidaz-deoksidaz enzimleri tarafından kullanılır. Elektron transfer zincirinin son bölümünde, sitokrom oksidaz enzimi 4 indirgenmiş sitokrom molekülünün her birinden 1 elektron alır ve onları oksijene ekleyerek suya dönüşmesini sağlar. Bu olay, mitokondride elektron transfer zincirinin kullandığı oksijenin % 95-98'inin kullanılması anlamına gelir. Geriye kalan % 2-5'lik oksijen

ise RONS şeklinde isimlendirilen metabolitlere indirgenir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Demirayak, 2007). Süperoksit radikalleri ve ardından H_2O_2 bu reaksiyon sonucu oluşur. Mitokondriyal solunum zincirinde oksijen metabolizmasının ilk ürünü süperoksit radikali mitokondri membranı içinde oluşur. Elektron transport zincir kompleksi I (NADH dehidrogenaz) ve III (ubisemiquinone) süperoksit radikallerinin çoğunun üretildiği yerdir. Radikallerin üretiminden sonra Mitokondriyal Süperoksit Dismutaz (Mn-SOD) tarafından bu radikaller daha az zararlı olan H_2O_2 'ye dönüştürülür (Çanakçı ve ark., 2005). Mitokondri ayrıca Mitokondriyal Nitrik Oksit Sentaz (mtNOS) ile serbest gaz olan NO sentezleyebilme özelliğine sahiptir (Çanakçı ve ark., 2005).

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda; ksenobiyotiklerin oksidasyonu, oksijenin redüksiyonu, membrana ilişkin sitokrom p-450 ve b-5 gibi sitokromların yağ asitleri oksidasyonu da serbest radikaller oluşur (Yu, 1994; Çelik, 2005).

Araşidonik asit metabolizması da reaktif oksijen türlerinin üretildiği önemli bir kavşaktır. Fagositik hücrelerin uyarılması, membran siklooksijenaz, fosfolipaz ve protein kinaz enzimlerinin aktivasyonu araşidonik asit salınımına neden olur. Araşidonik asidin siklooksijenaz ve lipooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu sırasında serbest radikaller oluşur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerinin her ikisi de aktiviteleri için peroksitlere ihtiyaç duyar. (Akkuş, 1995; Çelik, 2005).

Canlılığın devamının zorunlu bir parçası olan RONS sayısız enzimatik tepkime ve biyolojik fonksiyonlar için gereklidir. Ancak, her bir radikalın yapısı ve etkili olduğu yere göre hücrel hedefler risk altındadır (Kavas, 1989). Çoğu olayda serbest radikal üretimi, pato-mekanizmanın bir parçasıdır ve pek çok ksenobiyotiğin toksisitesi, serbest radikal üretimi ile ilgilidir (Abdollahi ve ark., 2003).

1.7. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türlerinin (RONS) Zararlı Etkileri

Serbest radikaller biyolojik sistemlerdeki zararlı etkilerini oksidatif atağa meyilli olan lipidler, proteinler, DNA ve karbonhidratlar gibi hücrenel komponentlerde hasara yol açarak yapar (Cheeseman, 1993; Barber ve Haris, 1994; Delibaş ve Özcankaya, 1995).

1.7.1. Membran Lipidleri Üzerine Zararlı Etkileri

RONS'un biyolojik sistemlerdeki en önemli etkileri lipidler üzerine olanıdır. Bu olay lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve kısaca; hücrelerdeki membran fosfolipidlerinin yükseltgenerek peroksit türevlerine dönüşmesi olarak tanımlanır (Wills, 1987; Draper, 1990; Comporti, 1993; Yarsan, 1998). Bu olayda etkili olan RONS süperoksit ve hidroksil grubudur (Wills, 1987; Burton ve Traber, 1990; Dikshith, 1990; Draper, 1990; Yarsan, 1998).

RONS poliansatüre yağ asitlerine (PUFA) etkiyerek, lipid peroksidasyonuna yol açar. Membran kolestrol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilir. Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin PUFA metilenik karbonlarından hidrojen atomu çıkarmak için yaptıkları atakla başlar. Demir lipid peroksidasyonunda zincir reaksiyonun başlangıcında önemli rol oynar (Kavas, 1989; Jesberger ve Richardson, 1991; Delibaş ve Özcankaya, 1995; Behn ve ark., 2007;). Bu basamakta Lipid Radikali meydana gelir. Gelişme aşaması olarak isimlendirilen ikinci dönemde ise, birinci aşamada meydana gelen lipid radikali moleküler oksijen ile birleşerek hızla Lipid Peroksit (LOO[•]) radikaline dönüşür (Donaldso, 1994; Çavdar ve ark., 1997). Lipit peroksit radikali diğer lipitlerle zincir reaksiyonu başlatır ve Lipit Hidroperoksit (LOOH)'ler oluşur (Çavdar ve ark., 1997). Süperoksit radikalının lipid hidroperoksitlerle reaksiyonu ile yeni radikal reaksiyonları başlayabilir.

Bu reaksiyonla lipid peroksitler, oluştukları yerden uzak bölgelerde hasara sebep olabilirler (Delibaş ve zcankaya, 1995). Bu ikinci aşama bir zincir tepkimesi şeklinde gelişir. Sonuçta oluşan ürün diğer yağ asitleriyle de tepkimeye girerek, başlangıç aşamasında olduğu gibi ortasında karbon atomu bulunan lipid radikallerini meydana getirir. Oluşan bu gruplar da tekrar yeni lipid peroksit radikallerini oluşturur. Gelişme aşamasındaki tepkimeler sürekli şekilde devam eder. Doymamış yağ asitlerinin miktarına bağlı olarak, lipid hidroperoksitlerin şekillenmesi de devam eder (Donaldso, 1994). Ayrıca Singlet Oksijen de hücre membranındaki PUFA'lar ile doğrudan reaksiyona girerek lipit peroksitlerin oluşmasına yol açar (Halliwell, 1991).

Hücre membranlarında bol miktarda PUFA bulunur ve bunlar özellikle beyinde serbest radikal ataklarına yatkındır (Penzes, 1993). Bu nedenle sinir lifleri etrafındaki miyelin kılıfın peroksidasyonu nörolojik bir hastalık nedeni olabilmektedir (Cheeseman, 1993; Barber ve Haris, 1994; Delibaş ve zcankaya, 1995; Demirayak, 2007).

PUFA oksidasyonu kısa zincirli alkoller, aldehitler ve alkanlar gibi çeşitli ürünler verir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehid grubundan Malondialdehit (MDA)'dir (Araneda ve ark., 2005). MDA oksidatif stresi gösteren biyokimyasal bir göstergedir (zden, 2008). Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA hücre membranlarında iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanması, iyon geçirgenliği ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girerek mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojenik etki oluşturabilir (Porter, 1984; Niki, 1987; Kavas, 1989; Placer ve ark., 1990; Kalender ve ark., 2004; Mercan, 2004; Valko ve ark., 2006; Valko ve ark., 2007).

Plazma membranında ve organelde lipid peroksidasyonu serbest radikallerin daha önce sözü edilmiş tüm kaynakları tarafından stimüle edilebilir ve metal varlığı peroksidasyonun şiddetini artırır (Kavas, 1989). Membran yağ asitlerinin

peroksidasyonundan sonra ortamda kısa zincirli yağ asitlerinin varlığı membran permeabilitesini ve mikroviskoziteyi ciddi boyutlarda etkiler (Kavas, 1989; Cheeseman, 1993; Barber ve Haris, 1994; Delibaş ve Özcankaya, 1995; Demirayak, 2007).

Lipid peroksidasyonu birçok yolla kantitatif olarak belirlenebilir. Bunlardan biri alkanlar gibi son ürünlerin (etan, pentan) soluk havasında ölçülmesi olduğu gibi, bir diğer yöntem de ana yıkım ürünü olan MDA'nın miktarının ölçümüdür (Bhuyan ve ark., 1991; Babizhayev ve Costa, 1994; Delibaş ve Özcankaya, 1995).

1.7.2. Proteinler Üzerine Zararlı Etkileri

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden ne derece etkileneceği amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Proteinin hücrel lokalizasyonuna ve radikal toksisite gücüne göre de protein harabiyetinin boyutları değişebilir. Hemoproteinlerin geniş bir spektrumu serbest radikaller tarafından harap edilebilir. Önemli bir sitoplazmik hemoprotein olan katalaz, süperoksit radikali tarafından inhibe edilir (Kavas, 1989).

Doymamış ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. (Kavas, 1989).

Proteinlerin tiyol gruplarının oksidasyonu; enzim fonksiyonunda kayıp, membran iyon ve metabolit transportunda bozulma, kontraktıl fonksiyonda bozulma ile sonuçlanır (Cheeseman, 1993; Barber ve Haris, 1994; Delibaş ve Özcankaya, 1995, Demirayak, 2007).

Akciğer sürfaktanının peroksidasyonu; atelektazi ve pulmoner disfonksiyona (ARDS) yol açar (Cheeseman, 1993; Barber ve Haris, 1994; Delibaş ve Özcankaya, 1995; Demirayak, 2007).

Aşırı hidrojen peroksitin miyoglobin ve hemoglobine etkimesi; serbest demir iyonlarının açığa çıkmasına neden olur. Açığa çıkan serbest demir iyonları ise lipid peroksidasyonunu uyandır (Davies, 1990).

1.7.3. DNA Üzerine Zararlı Etkileri

Hücre yaşamında RONS'un en önemli etkileri başta DNA olmak üzere hücresel biyomoleküllere zarar vermesidir (Çanakçı ve ark., 2005). Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda oluşan serbest radikaller, hem intraorganel hem de sitozolik reaksiyonları başlatabilirler. Nükleer membranda açığa çıkmış olan radikallerin varlığında özellikle DNA serbest radikal harabiyetine maruz kalır (Kavas, 1989).

Nitrik oksit, oksidan özelliği nedeniyle savunma sisteminin bir parçası olarak görev yapar. Fakat aşırı miktarda NO üretimi sonucu oluşan peroksinitrit; lipidler, DNA ve metallerle reaksiyona girerek enzim fonksiyonlarının bozulmasına ve DNA mutasyonuna neden olur (Üstün, 2005).

1.7.4. Karbonhidratlar Üzerine Zararlı Etkileri

İnflamatuvar hücre kaynaklı RONS'un oluşturduğu harabiyetten en çok etkilenen ekstrasellüler doku komponentleri kollojen ve hyaluronik asittir. Ekstrasellüler sıvılar çok az miktarda SOD içerdiğinden, serbest radikallerin eser miktarları bile bu kompartmanda büyük harabiyete yol açabilir. Süperoksit radikalının jelasyonu engellemesi sonucu kollajen harap olur. Eklemden sinoviyal sıvının viskozitesini sağlayan hyaluronik asit, süperoksit radikali tarafından depolimerize edilebilir (Kavas, 1989). Bağ dokunun dayanıklılığının sağlanmasında etkin rol oynayan hyaluronik asit, özellikle süperoksit grubundan etkilenerek bağ doku sıvısının akışkanlığının kaybolmasına neden olur (Kaneko, 1980).

1.8. Antioksidan Savunma Sistemi

Vücutta oluşan RONS belli bir denge dahilinde oluşmaktadır. Bu denge vücudun savunma sisteminin bir parçasıdır. Hücrede mitokondriyal solunumda, hücrenin sinyal mekanizmasında ve bakterileri fagosite etmek gibi fonksiyonlarda RONS yaşamsal öneme sahiptir. Hücrelerin koruyucu mekanizması olarak ortaya çıkarılan RONS karaciğerde detoksifikasyon için, nötrofiller tarafından patojenleri yok etmek için kullanılır (Imlay, 2003; Apel ve Hirt, 2004).

Hücrenel harabiyetle sonuçlanabilecek RONS reaksiyonları sonsuz olarak sürebildiği gibi, RONS'u ortadan kaldıracı bir dizi bileşiklerle bu reaksiyonlar sona erdirilebilir. (Kavas, 1989). Radikallerin etkisiyle ortaya çıkabilecek oksidatif hasarları önlemek amacıyla canlı sistem tarafından gerçekleştirilen pek çok korunma mekanizması vardır (Diplock ve ark., 1998; Mates, 2000; Mercan, 2004). Canlı hücrede bulunan lipid, protein, DNA ve karbonhidrat gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar, bu olaya da antioksidan savunma denir (Çavdar ve ark., 1997). Antioksidan savunma mekanizmaları enzimatik ve enzimatik olmayan yollardan oluşur (Mates, 2000; Mercan, 2004). İntrasellüler antioksidanlar ve antioksidan enzimler, hücrenin redoks dengesinin değişmesine neden olan stres uyaranlarına karşı korumada son derece önemlidir (Flora, 2007). Öncelikli antioksidan savunma enzimatik olarak yapılmaktadır. Sonraki savunma hattı ise ekstrasellüler nonenzimatik antioksidanlarla yapılan savunmadır (Diplock ve ark., 1998; Valko ve ark., 2007).

1.8.1. Enzimatik Antioksidanlar

En önemli enzimatik antioksidanlar; Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) ve Glutasyon Redüktazdır (Imlay, 2003; Apel ve Hirt 2004).

1.8.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD çok etkili bir hücre içi enzimatik antioksidandır. Bu enzim süperoksit radikallerinin, daha az toksik etkili H_2O_2 'ye dönüşmesini katalize etmektedir. Ayrıca SOD'un diğer bir fonksiyonu da dehidrataz enzimler (dihidroksi asit dehidrataz, akonitaz, 6-fosfoglikonat dehidrataz ve fumaraz A ve B) üzerinden süperoksit radikallerinin inaktivasyonunu sağlamaktır (Diplock ve ark., 1998; Mates, 2000; Mercan, 2004; Valko ve ark., 2006; Valko ve ark., 2007).

SOD'lar, metalloprotein yapısında enzimlerdir. Memeli hücrelerinde, bakır-çinko ve manganez içeren iki ayrı tipte enzim belirlenmiştir (Kavas, 1989; Çavdar ve ark., 1997; Sayan ve ark., 2000). Bu enzimlerden Cu-Zn SOD sitoplazmada, Mn SOD mitokondride bulunur (Siems ve ark., 1994; Delibaş ve Özçankaya, 1995).

SOD'un etkinliğini engelleyen maddeler lipid peroksidasyonunu hızlandırır (Kaya ve ark., 1998; Mates, 2000; Mercan, 2004). Akciğer dokusunda SOD bulunmaz, bu nedenle süperoksit gruplarına akciğer dokusu aşırı derecede duyarlılık gösterir (Vural, 1984; Kaya ve ark., 1998; Mercan, 2004; Ranjbar ve ark., 2004;).

SOD enzim sistemi antagonistik olmaktan çok, organizmayı serbest radikal harabiyetine karşı koruyucu bir sistemdir (Kavas, 1989).

1.8.1.2. Katalaz (CAT), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon Redüktaz

CAT ve peroksidazlar, H_2O_2 'nin konsantrasyonunu düşürmeye yardım ettikleri için serbest radikal temizleyicileri olarak kabul edilirler (Kavas, 1989). CAT tüm aerobik canlılarda bulunur ve hücrede peroksizomlarda yerleşir. CAT, H_2O_2 'yi su ve moleküler oksijene çevirir. O kadar etkili bir enzimdir ki bir dakika gibi kısa bir sürede 6 milyon H_2O_2 'yi su ve oksijene dönüştürebilir (Valko ve ark., 2006). Bu enzimin aktivitesi, ortamdaki H_2O_2 konsantrasyonunun çok fazla arttığı durumlarda belirgin olarak artmaktadır. Ortamdaki H_2O_2 konsantrasyonunun düşük olduğu

hallerde ise H_2O_2 'yi substrat olarak kullanan diğerk enzimler (GSH-Px gibi) devreye girer (Agar ve ark., 1986).

Hücrede normal koşullarda oluşan H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda GSH-Px önemli bir fonksiyona sahiptir. (Çavdar ve ark., 1997). CAT, H_2O_2 'ye spesifiktir, diğerk organik peroksitlere etki etmez. Selenyum bağımlı GSH-Px, H_2O_2 'nin ve organik hidro peroksitlerin Glutatyon (GSH) tarafından indirgenmesini katalize eden birçok peroksidazdan biridir. GSH-Px hidrojen donörü olarak GSH'ı kullanılır (Siems ve ark., 1994; Delibaş ve Özçankaya, 1995).

CAT ve GSH-Px benzer etkili olmasına rağmen, hücre içindeki yerleşim yerleri ve etki yerleri bakımından farklılık göstermektedirler. CAT peroksizomlarda daha etkili iken, GSH-Px başlıca sitozol ve mitokondride daha etkilidir (Özden, 2008).

GSH; H_2O_2 'yi, lipid peroksitleri, disülfiteri, askorbat ve serbest radikalleri indirgeyebilir. GSH'ın peroksitler ve disülfitlerle reaksiyonundan GSH'ın okside formu olan Glutatyon Disülfid (GSSG) oluşur. Glutatyon Redüktaz, kofaktör olarak NADPH'ı kullanarak (Kavas, 1989) GSSG'den GSH üretimini sağlar (Kehrer ve Lund, 1994; Delibaş ve Özçankaya, 1995).

Lipid peroksitler, indirgenmiş GSH'a bağımlı selenyumlu bir enzim olan GSH-Px tarafından lipid alkollere çevrilerek inaktive edilir. Ancak gerek süperoksit gruplarıyla fazla miktarda lipid peroksitlerin şekillendirilmesi, gerek selenyum eksikliği ve gerekse ortamdaki glutatyonun tükenmesine neden olabilen maddelerin bulunması, lipid hidroperoksitlerinden serbest lipid grupların oluşmasına yol açar. Serbest lipid grupları da, doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur (Diplock ve ark., 1998).

1.8.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Hücre dışı sıvılarda enzimatik antioksidan sistemin aktivitesi hücre içi sıvılara göre sınırlıdır. Bu nedenle hücre dışı savunmadan E ve C vitaminleri, transferin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, gibi antioksidanlar sorumludur. Hücre dışı ortamda antioksidan etkinlik, metal iyonlarının serbest radikal reaksiyonlara girmelerini önlemekle sağlanır. (Çavdar ve ark., 1997).

Örneğin; albumin vucutta birçok fonksiyonuna ek olarak bakır iyonunu bağlama yeteneğine de sahiptir. Böylece bakır iyonuna bağlı lipit peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder (Çavdar ve ark., 1997).

1.9. Oksidatif Stres ve Yüksek İrtifa Arası İlişki

Organizmada serbest radikallerin oluşumu ile bunların etkilerinin engellenmesi bir denge halindedir. Bu dengenin radikaller lehine bozulması organizmada Oksidatif Stres olarak tanımlanan etkinin oluşmasına neden olur. Oksidatif stres RONS'un üretim düzeyinin artması veya antioksidan kapasitenin azalmasına bağlı olarak oluşur (Bakonyi ve Radak, 2004).

Oksidatif stres, hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonu ile sonuçlanan serbest radikal üretimi ve vücudun antioksidan mekanizmalar ile kendini savunması arasındaki orantısızlık olarak da tanımlanır (Gordon ve Himmelfarb, 2004).

Birçok nedenden ötürü plazma membranı, serbest radikal reaksiyonları için kritik bir yerdir. Ekstrasellüler olarak açığa çıkan serbest radikaller, hücrenin diğer kompartmanları ile reaksiyona girebilmek için ya önce plazma membranını geçmelidir, ya da toksik reaksiyonlarını membranda başlatmalıdır. Bu nedenle membranda bulunan fosfolipidler, glikolipidler, gliseridler, steroller gibi doymamış yağ asitleri ve kolay okside olabilen amino asitleri içeren transmembran proteinleri serbest radikal harabiyetine açıktır (Kavas, 1989).

Çok sayıda yapılan çalışma, insan ve hayvanlarda irtifa artışı ile paralel olarak lipidler, DNA, proteinler ve karbonhidratlarda oksidatif hasar olduğunu göstermektedir (Bakonyi ve Radak, 2004). Yapılan diğer çalışmalar ise hipoksiye maruz kalmış canlıların kan ve dokularında, oksidatif stres belirleyicilerinin (serbest radikallerin) üretiminde artış olduğunu bildirmektedir (Bailey ve Davies, 1997; Schmidt ve ark., 2002). Ayrıca oksidatif stres oluşumunda antioksidan kapasitenin araştırıldığı çalışmalar, antioksidan kapasitenin içerik ve aktivite açısından irtifa artışına bağlı olarak azaldığını, antioksidan takviyesinin oksidatif hasarı önlemede olumlu sonuç verebileceği bildirilmektedir (Schmidt ve ark., 2002; Bakonyi ve Radak, 2004).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları

Araştırma Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarları ile AKÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirilmiştir. Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulunun AKÜHADYEK-216-13 referans no, 04.04.2013 tarih ve 49533702/309 sayılı izni ile hayvan denemelerine başlanmıştır.

Çalışmada AKÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde en az 3 nesil 1000 m irtifada doğmuş annelerden elde edilen, ortalama 3 aylık, ağırlıkları 260-310 gr arasında değişen 24 adet erkek “Wistar-albino” rat kullanılmıştır. Hayvanların seçiminde sağlık durumlarının iyi olmasına ve daha önce herhangi bir deneyde kullanılmamış olmalarına özen gösterilmiştir. Araştırmadan 15 gün önce gözlem altına alınan deneklerin deney ortamına adaptasyonu sağlanmıştır.

Denekler 12 saat karanlık, 12 saat aydınlıkta kalacak şekilde ve her bir kafeste 3 rat olacak şekilde ayrılmışlardır. Denekler içeriği Tablo 3’de verilen standart rat yemi ile beslenmiş ve su ad libitum olarak verilmiştir. Yemleme gün içinde saat 09⁰⁰ ile 19⁰⁰ da olmak üzere iki kez yapılmıştır.

Tablo 3. Standart Rat Yemi İçeriği. (Bil-Yem (2006))

Analiz sonuçları			
Kuru Madde	(En az)	%	88
Ham Protein	(En az)	%	23
Ham Selüloz	(En çok)	%	7
Ham Kül	(En çok)	%	8
HCl'de Çözülmüş Kül	(En çok)	%	2
NaCl	(En çok)	%	1
Metabolik Enerji	(En az) (kcal/kg)	%	2600
Makro Elementler			
Kalsiyum	(En az-En çok)	%	1,0-2,5
Fosfor	(En az)	%	0,9
Sodyum	(En az-En çok)	%	0,5-1
Mikro Elementler			
Mangan	(En az mg/kg)	%	10
Çinko	(En az mg/kg)	%	4
Amino Asitler			
Lysine	(En az)	%	1,0
Methionin	(En az)	%	0,3
Sistin	(En az)	%	0,1
Vitaminler			
Vitamin A	(En az IU/kg)		400
Vitamin D ₃	(En az IU/kg)		300
Vitamin B ₂	(En az mg/kg)		5
Vitamin B ₁₂	(En az mg/kg)		20
Vitamin E	(En az IU/kg)		30
Vitamin K ₃	(En az IU/kg)		1

2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deney grupları ve deneme dzenini Tablo 4’de gsterildiği üzere her grupta 12 rat olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır.

Tablo 4. Deney Grupları ve Deneme Dzenini.

Deney Grupları	Uygulama
Kontrol Grubu (K) (n=12)	En az 3 nesil 1000 m irtifada doğmuş annelerden elde edilmiş ve standart rat yemi ile 15 gún boyunca beslenmiştir.
Yüksek İrtifa Grubu (Yİ) (n=12)	En az 3 nesil 1000 m irtifada doğmuş annelerden elde edilmiş ve rat yemi ile 15 gún boyunca beslenmiştir. 15 gún sonunda denekler normobarik yüksek irtifa simülatörüne alınarak, 5000 m irtifanın simüle edildiği ortamda 12 saat (saat 08: ⁰⁰ ile 20: ⁰⁰ arası gündüz) akut irtifa değişimine maruz bırakılmıştır.

2.3. Akut İrtifa Değişimi

Yüksek irtifa grubundaki denekler 15 günlük beslenme sürecinden sonra dışarıdan gözlenebilen ve Resim 1, 2 ve 3’de gsterildiği üzere çadır düzeneği içerisinde CAT 12 Normobarik Yüksek İrtifa Simülatörü (Colorado Altitude Training, USA) ile, 5000 m irtifanın simüle edildiği ortamda 12 saat (saat 08:⁰⁰ ile 20:⁰⁰ arası gündüz) akut irtifa değişimine maruz bırakılmıştır.

Resim 1. Normobarik Yüksek İrtifa Simülatörü Çadır Düzenegi.



Resim 2. Normobarik Yüksek İrtifa Simülatörü Kompansatörü.



Resim 3. 5000 m İrtifanın Simüle Edilmesi.



2.4. Kan Örneklerinin Alınması

Deney protokolünün tamamlanmasının ardından her iki gruptaki denekler 10 mg/kg Xylazine HCl ve 50 mg/kg Ketamin HCl enjeksiyonu ile genel anestezi altına alınmıştır. Daha sonra tekniğine uygun olarak göğüs kafesleri açılmıştır. Çalışır durumda iken kalpten 5 ml'lik heparinli enjektörlerle, ortalama 6-9 ml kan alınarak heparinli tüplere aktarılmış ve tüpler soğuk zincir altında zaman kaybetmeden laboratuvara getirilmiştir.

Alınan kan örneklerinin 3'er ml'si akyuvar, alyuvar, hemoglobin, hematokrit düzeylerinin ölçülmesi ile MDA ve redükte GSH tayininde kullanılmak üzere ayrılmıştır. Geriye kalan kan örnekleri Nüve NF 1000 R model santrifüj cihazı ile 3500 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrılmıştır. Plazmalar 1,5 ml'lik eppendorf tüplere alınarak, biyokimyasal parametreler inceleninceye kadar derin

dondurucuda (-30 °C) korunmuştur. Plazma örneklerinde Total Antioksidan Statü (TAS), Total Oksidan Statü (TOS), Nitrik Oksit Metabolitleri (NOx) ile glikoz ve kortizol miktarlarının analizleri yapılmıştır.

2.5. Akyuvar Düzeyinin Belirlenmesi

Deney gruplarından alınan kan örneklerinde akyuvar sayımı; veteriner maksatlı kan sayım cihazı ile (Abacus Junior Vet-5 marka, 260140 seri numaralı, Macaristan menşeyli hematoloji analizör) yapılmıştır.

2.6. Alyuvar Düzeyinin Belirlenmesi

Deney gruplarından alınan kan örneklerinde alyuvar sayımı; veteriner maksatlı kan sayım cihazı ile (Abacus Junior Vet-5 marka, 260140 seri numaralı, Macaristan menşeyli hematoloji analizörü) yapılmıştır.

2.7. Hematokrit Düzeyinin Belirlenmesi

Deney gruplarından alınan kan örneklerinde hematokrit düzeyinin belirlenmesi; veteriner maksatlı kan sayım cihazı ile (Abacus Junior Vet-5 marka, 260140 seri numaralı, Macaristan menşeyli hematoloji analizörü) yapılmıştır.

2.8. Hemoglobin Düzeyinin Belirlenmesi

Deney gruplarından alınan kan örneklerinde hemoglobin düzeyinin belirlenmesi; veteriner maksatlı kan sayım cihazı ile (Abacus Junior Vet-5 marka, 260140 seri numaralı, Macaristan menşeyli hematoloji analizörü) yapılmıştır.

2.9. Malondialdehid Düzeyinin Belirlenmesi

Prensip

Serbest radikaller sonucu oluşan peroksidasyon ürünlerinden MDA tayini, Draper ve Hadley'in (1990) çift kaynatma yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Metod yağ asitlerinin peroksidasyonunda bir son ürün olan MDA'nın, TBA (Tiyobarbiturik Asit) ile reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümde maksimum absorbands vermesi prensibine dayanmaktadır.

Reaktifler

- % 10'luk TCA (Trikarboksilik Asit) çözeltisi: 10 gr TCA distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanır.
- % 0,675'lik TBA (Tiyobarbiturik Asit) çözeltisi: 0,675 gr TBA distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanır.

Yöntemin uygulanışı

Tam kan örneklerinden alınan 0,5 ml numune, 2,5 ml % 10'luk TCA ile temiz vida kapaklı deney tüpünde karıştırılarak 95 °C'de 15 dk kaynatılmıştır. Daha sonra hemen soğutularak 4 °C'de 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernatanttan 1 ml alınmış ve üzerine % 0,675'lik TBA'dan 0,5 ml eklenerek 15 dk kaynatılmış ve hemen soğutulmuştur. Soğutmayı takiben en geç 45 dk içerisinde, Shimadzu UV-1601 marka spektrofotometrede, 532 nm dalga boyunda distile suya karşı absorbands değeri okunarak, elde edilen değerler dilüsyon katsayısı ile çarpılmış ve nanomol/ml biriminde MDA miktarı belirlenmiştir.

2.10. Redükte Glutasyon Düzeyinin Belirlenmesi

Prensip

Redükte Glutasyon tayini, Beutler ve ark., (1963)'nın yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Metod EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit)'lı kanın distile su ile hemolizi sonrasında, sülfidril grubu (SH) taşımayan tüm proteinlerinin çöktürülerek, elde edilen berrak sıvıda sülfidril gruplarının DTNB (5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoik asit)) ile reaksiyonu sonucu oluşan sarı rengin 24 saat içerisinde spektrofotometrede 412 nm'de ölçümü prensibine dayanmaktadır.

Reaktifler

- Çöktürücü çözelti: 1,67 g metafosforik asit, 0,2 g EDTA, 30 g Sodyum Klorür (NaCl) distile suda eritilerek 100 ml'ye tamamlandı.
- Fosfat çözeltisi: 0,3 M Disodyum Fosfat (Na₂HPO₄) distile su ile hazırlandı.
- DTNB (Ellman's ayıracı): 40 mg DTNB (5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoik asit)) % 1 sodyumsitrat, 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

Yöntemin uygulanışı

EDTA'lı tüm kandan 200 µl alındı. Üzerine 1,8 ml distile su eklenerek hemoliz gerçekleştirildi. 3 ml çöktürücü çözelti ile hemolizat karıştırıldı. 5 dk bekleme sonrası, karışım Whatman süzgeç kağıdından (N.42) süzüldü. Örnek numuneden elde edilen süpernatantın 2 ml'si başka tüpe aktarıldı. Üzerine 8 ml fosfat çözeltisi, 1 ml DTNB ayıracı eklendi. Blank için 2 ml çöktürücü çözelti (3 kısım çöktürücü çözelti + 2 kısım distile su), 8 ml fosfat çözeltisi ve 1 ml DTNB ayıracı tüpe alınarak hazırlandı. Standart için, 40 mg GSH çözeltisi taze olarak hazırlandı. Spektrofotometrede 412 nm'de blanka karşı standart numunelerin optik dansiteleri okundu. Sonuçlar mg/dl tüm kan olarak hesaplandı.

2.11. Total Antioksidan Statü (TAS) Tayini

Ölçüm Erel'in (2004) geliştirdiği metoda göre, numune ve ayıraçlar karıştırıldıktan 5 dakika sonra spektrofotometrede kinetik okuma yapılarak gerçekleştirildi. Metot, numunede bulunan antioksidanların, kullanılan ayıraçlardaki koyu yeşil renkli ABTS⁺ (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) radikal katyonunu indirgeyerek ABTS molekülüne dönüştürmesi esasına dayanmaktadır. Numunede bulunan antioksidan miktarına bağlı olarak değişebilen ABTS⁺ radikalinin ABTS'ye indirgenme oranı attıkça, koyu yeşil olan renk açılmaya, beyazlamaya başlamakta; spektrofotometrede 660 nm'de okunan absorbans değerlerinin değişimi numunede bulunan total antioksidan düzeyleri ile ilişkilendirilmektedir. Ölçüm genelde TAS analizlerinde kullanılan, bir vitamin E analogu olan ve Trolox Equivalent olarak adlandırılan standart antioksidan solüsyonu kullanılarak kalibre edilmekte, ölçülen TAS düzeyleri mmol Trolox Equivalent/l olarak okunmaktadır.

2.12. Total Oksidan Statü (TOS)Tayini

Ölçüm yine Erel'in (2005) geliştirdiği metoda göre, numune ve ayıraçlar karıştırıldıktan 3-4 dk sonra spektrofotometrede end-point okuma yapılarak gerçekleştirildi. Metod, numunede bulunan oksidanların analizde kullanılan ayıraçtaki ferröz (Fe⁺²) iyon komplekslerini ferrik (Fe⁺³) forma okside ederek dönüştürme esasına dayanmaktadır. Oksidasyon reaksiyonu sonucu miktarı artan ferrik iyonlar, reaksiyonun asidik ortamında bulunan kromojen ile renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Oluşan rengin yoğunluğu numunede bulunan oksidan maddelerin toplam miktarına bağlı olarak değişmektedir. Bu değişimler spektrofotometrede 560 nm'de okuma yapılarak belirlenmektedir. TOS analizi H₂O₂ ile kalibre edilir ve sonuçlar H₂O₂ equivalent litre (µmol H₂O₂ Equiv./l) olarak ifade edilmektedir.

2.13. NO_x Düzeyinin Belirlenmesi

NO yarı ömrü çok kısa olan bir madde olup oksidasyon ile stabil metabolitleri olan nitrat ve nitrite dönüşür. NO seviyesi genellikle bu metabolitlerin tespiti ile değerlendirilir (İnan ve ark., 2005). Bu nedenle plazma örneklerinde, nitrik oksit miktarı Miranda ve ark., (2001)'nın "Vanadium klorür (III)-Griess Reaksiyonu" yöntemi ile belirlenmiştir (Miranda ve ark., 2001; Bülbül, 2003).

Prensip

Vanadium klorür'ün 37 °C'de ortamdaki nitratı nitrite dönüştürmesi ve Griess reaksiyonu olarak adlandırılan, nitritin asidik ortamda primer bir aromatik amin olan sülfanilamit ile diazotizasyonu ve N-(1-naphthyl) ethylenediamin (NEDD) ile renkli bir azo türevi oluşturması esasına dayanır.

Reaktifler

- Vanadium klorür (VCl₃) çözeltisi: 400 mg Vanadium klorürün 50 ml hidroklorik asitte çözdürülmesiyle hazırlanır.
- Sülfanilamit çözeltisi: 2 g sülfanilamitin % 2'lik hidroklorik asit ile 100 ml'ye tamamlanması ile hazırlanır.
- NEDD çözeltisi: Distile su ile hazırlanmış % 0,1'lik NEDD çözeltisidir.

Yöntemin uygulanışı

Plazmadan alınan 100 µl örnek üzerine, 100 µl Vanadium klorür çözeltisinden eklenmiş, bunun üzerine seri halde 50 µl sülfanilamit ve 50 µl NEDD çözeltileri ilave edilmiştir. Örnekler 37 °C'de 30 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra Multiscan Spectrum (Thermo) kültür plağı okuyucusuna yerleştirilerek 550 nm'de absorbans değerleri okunmuştur.

2.14. Glikoz Düzeyinin Belirlenmesi

Glikoz düzeyi Biolabo firması tarafından üretilen ticari kit kullanılarak, Shimadzu UV-1601 marka spektrofotometrede tayin edilmiştir.

2.15. Kortizol Düzeyinin Belirlenmesi

Kortizol düzeyi Cusabio tarafından üretilen ticari kiti kit kullanılarak kullanılarak, “Chemwell® 2910” marka otoanalizörde yapılmıştır.

2.16. İstatistik Analizler

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler SPSS 10,0 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Verilerin ortalamaları \pm standart hatalarıyla ifade edilmiştir. Gruplar arasındaki istatistiksel farkları saptamak için Student's t testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$ değerleri seçilmiştir (Özdamar, 2003).

3. BULGULAR

Çalışmamızda oluşturulan 2 deneme grubundan alınan kan örneklerinde; akyuvar, alyuvar, hemoglobin, hemotokrit, glikoz, kortizol, MDA, GSH, total antioksidan statü (TAS), total oksidan statü (TOS) ve nitrik oksit metabolitleri (NO_x) düzeyleri tayin edilmiştir. Bu göstergelerin araştırma süresi sonundaki düzeylerine ait bulguların istatistiksel değerleri ve karşılaştırması Tablo 5’de sunulmuştur.

Tablo 5. Ölçülen Parametrelere Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri.

Parametre	Kontrol Grubu	Akut İrtifa Değişimi Grubu	% Değişim
Akyuvar (10 ⁹ /l)	4,17±0,34	4,74±0,29	+12
Alyuvar(10 ¹² /l)	8,77±0,16	8,83±0,09	+0,67
Hemoglobin (g/dl)	14,05±0,35	14,17±0,21	+0,84
Hematokrit (%)	41,23±0,62	43,95±0,36*	+6,18
Glikoz (mg/dl)	109,61±9,52	143,98±9,86*	+31,35
Kortizol (µg/dl)	2.74±0,13	3.07±0,09	+12,04
MDA (nmol/l)	8,16±0,86	12,02±1,90*	+47,30
GSH (µmol /l)	104,47±9,75	98,81±8,00	-5,72
TAS (mmol Trolox Equiv./l)	1,28±0,07	1,08±0,09	-18,51
TOS (µmol hidrojen peroksit Equiv./l)	15,84±0,53	21,52±1,49*	+44,98
NO x (µmol /l)	19,28±0,55	20,34±1,08	+5,21

*: P < 0,05

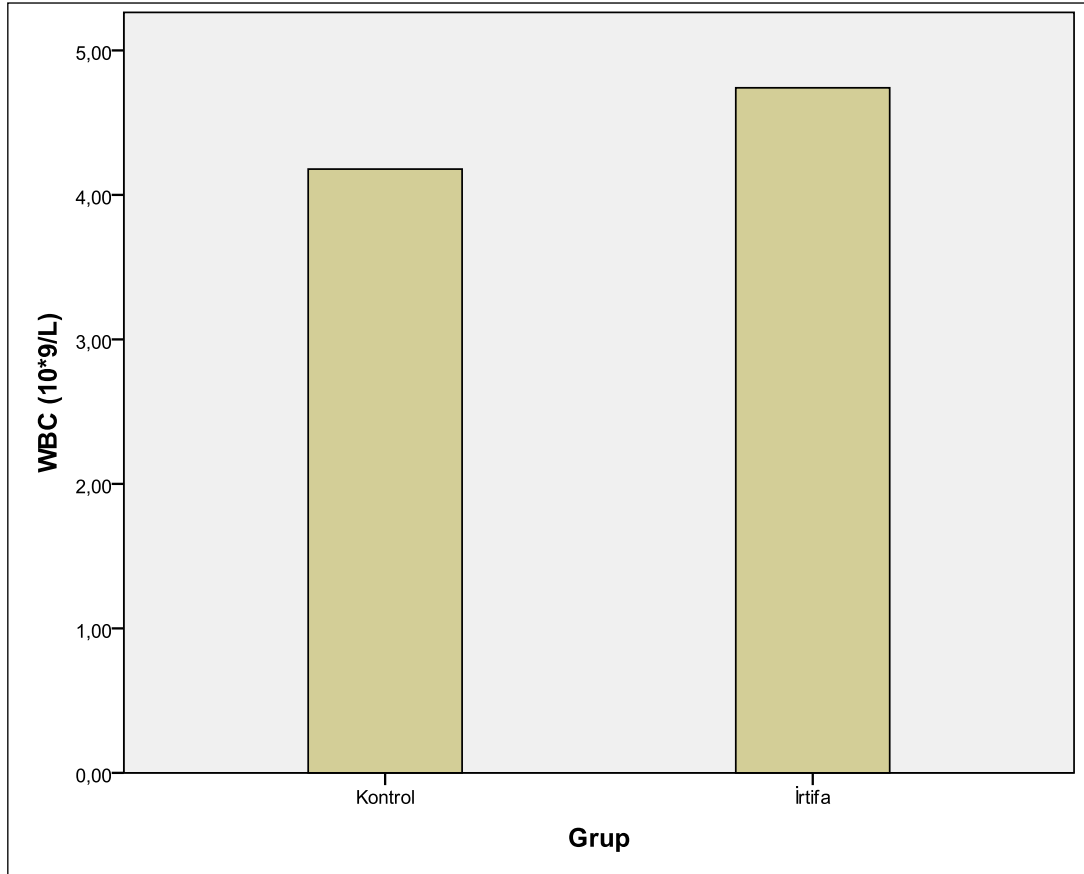
Yüzde Değişim (%) = 100 [Ci – Ck] / Ck Formülüyle hesaplanmıştır.

Ci : Yüksek İrtifa Grubunda Elde Edilen Değer.

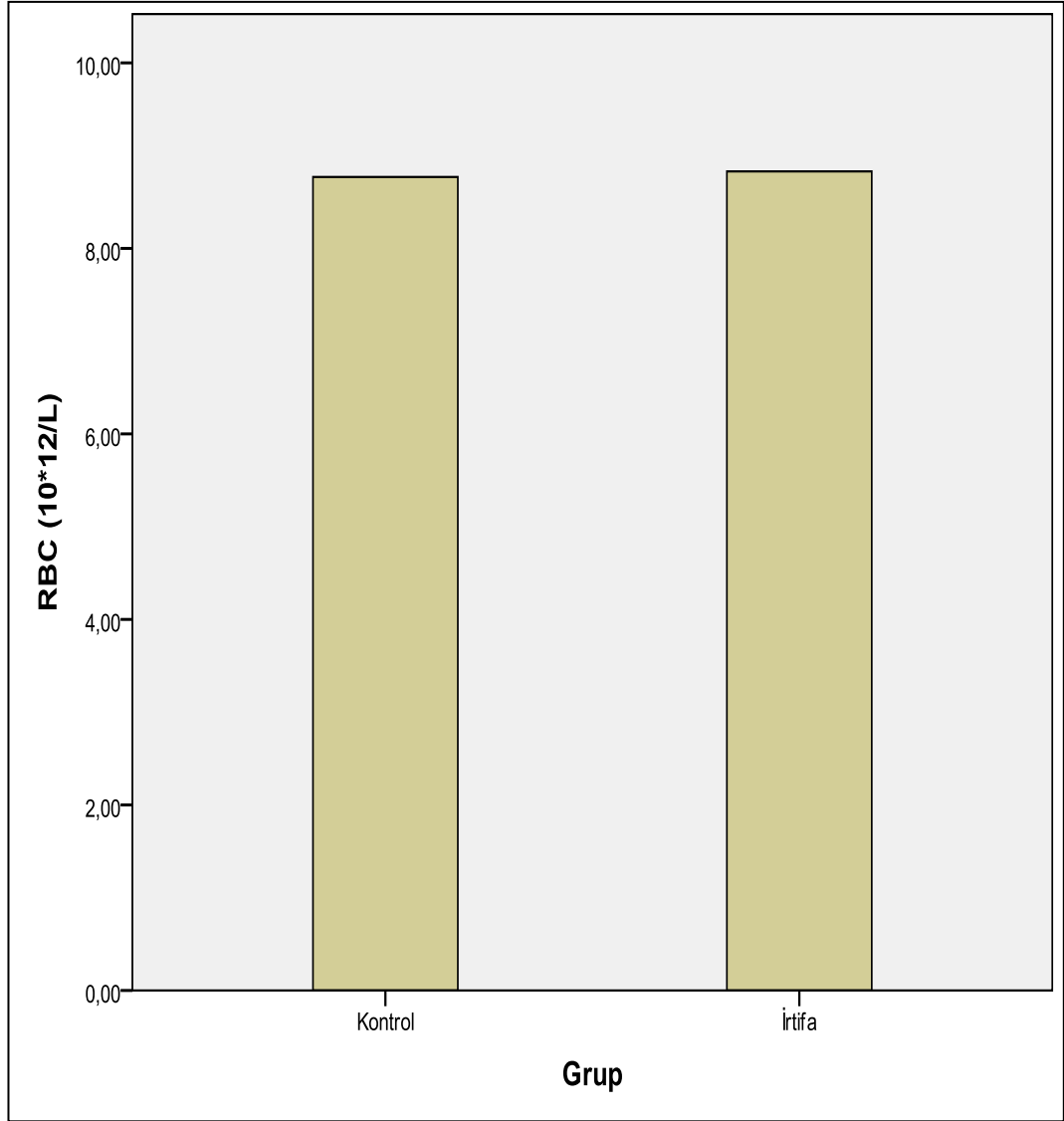
Ck : Kontrol Grubunda Elde Edilen Değer.

3.1. Akyuvar ve Alyuvar Düzeyleri

Çalışmamızda kontrol ve yüksek irtifa gruplarındaki deneklere ait akyuvar ve alyuvar düzeyleri Grafik 2, Grafik 3 ve Tablo 5’de belirtilmiştir. Grafik 2 ve Tablo 5’de görüldüğü gibi yüksek irtifa grubunda akyuvar düzeyi kontrol grubuna göre % 12 artmıştır. Yine Grafik 3 ve Tablo 5’de görüleceği gibi yüksek irtifa grubunda alyuvar düzeyi kontrol grubuna göre % 0,67 oranda artış göstermiştir. Fakat gerek akyuvar düzeylerinin gerekse alyuvar düzeylerinin yüksek irtifa grubunda kontrol grubuna göre artması istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir.



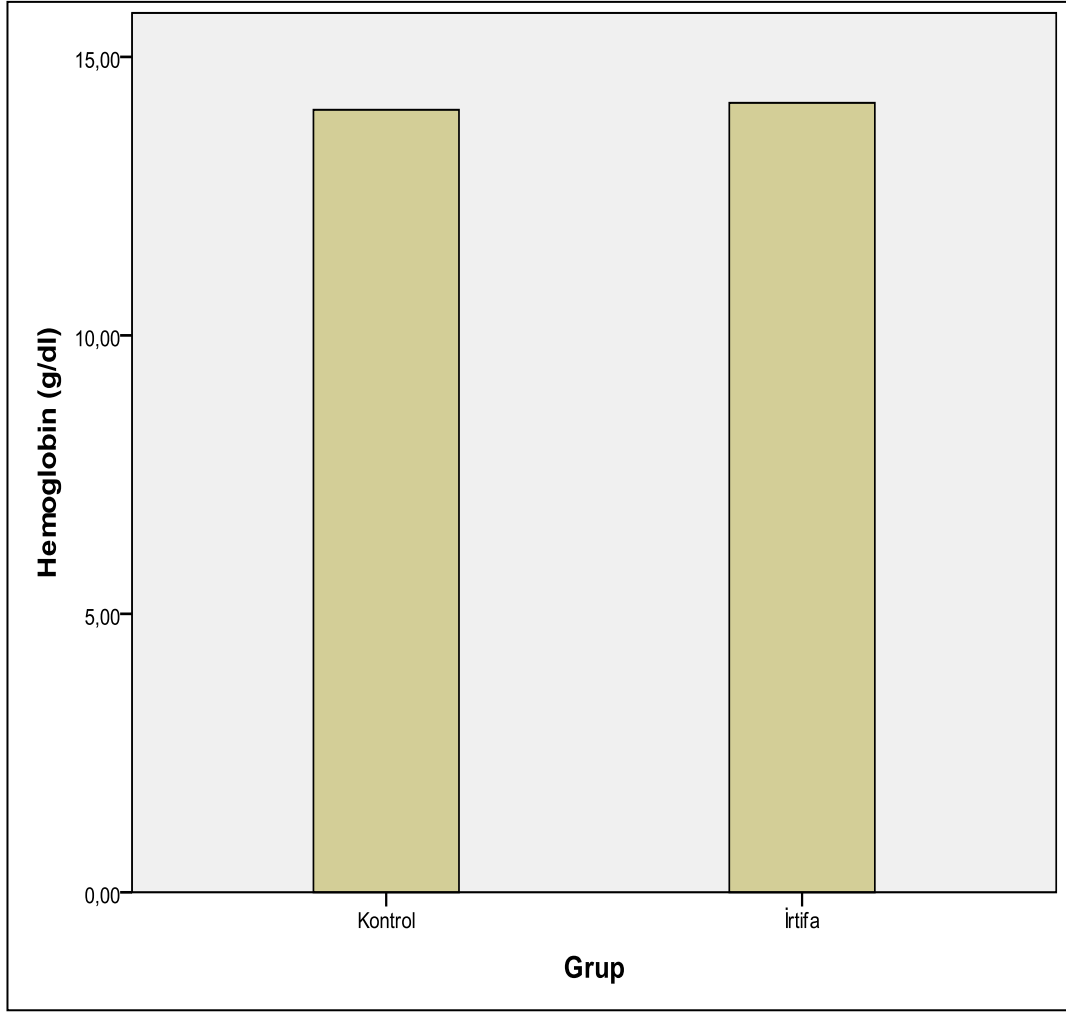
Grafik 2. Akyuvar Düzeyleri.



Grafik 3. Alyuvar Düzeyleri.

3.2. Hemoglobin Düzeyleri

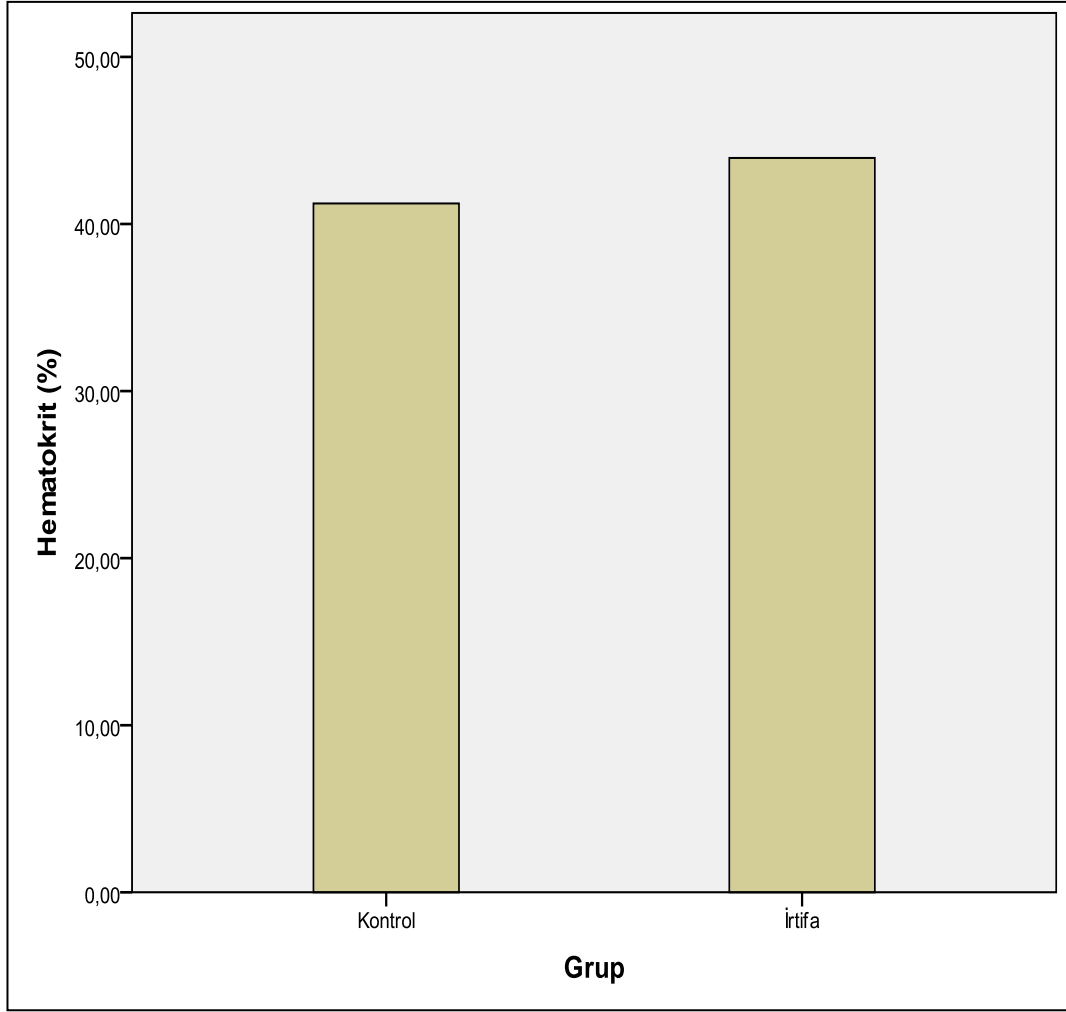
Çalışmamızda kontrol ve yüksek irtifa gruplarındaki deneklere ait hemoglobin düzeyleri Grafik 4 ve Tablo 5’de belirtilmiştir. Grafik 4 ve Tablo 5’de görüldüğü gibi yüksek irtifa grubunda hemoglobin düzeyi kontrol grubuna göre % 0,84 oranda artış göstermiştir. Fakat bu değişim istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir.



Grafik 4. Hemoglobin Düzeyleri.

3.3. Hematokrit Düzeyleri

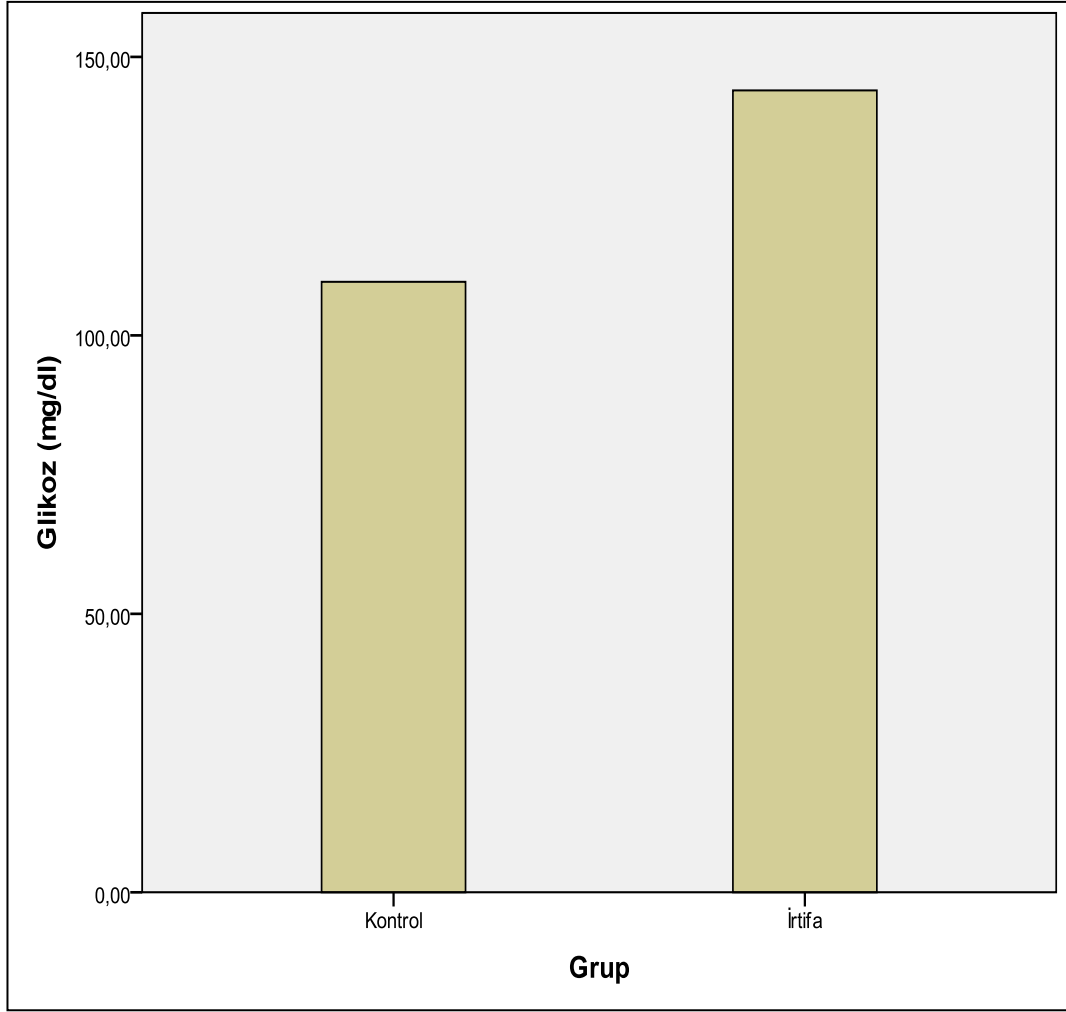
Çalışmamızda kontrol ve yüksek irtifa gruplarındaki deneklere ait hematokrit düzeyleri Grafik 5 ve Tablo 5’de belirtilmiştir. Grafik 5 ve Tablo 5’de görüldüğü gibi yüksek irtifa grubunda hematokrit düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) bir artış göstermiştir. Yüksek irtifa grubunda hematokrit düzeyi kontrol grubuna göre % 6,18 oranda artmıştır.



Grafik 5. Hematokrit Düzeyleri.

3.4. Glikoz Düzeyleri

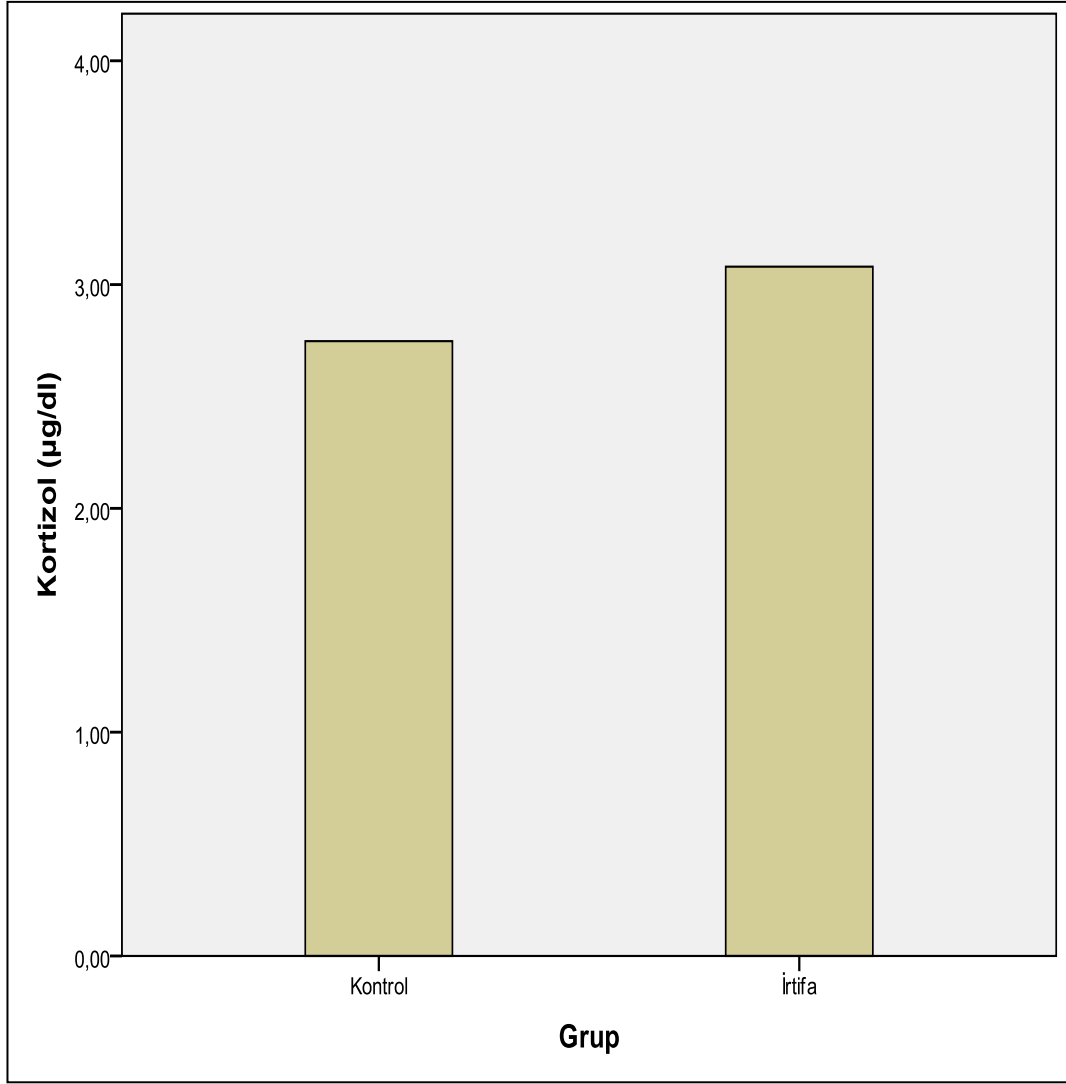
Çalışmamızda kontrol ve yüksek irtifa gruplarındaki deneklere ait glikoz düzeyleri Grafik 6 ve Tablo 5’de belirtilmiştir. Grafik 6 ve Tablo 5’de görüldüğü gibi yüksek irtifa grubunda glikoz düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) bir artış göstermiştir. Yüksek irtifa grubunda glikoz düzeyi kontrol grubuna göre % 31,35 oranında artmıştır.



Grafik 6. Glikoz Düzeyleri

3.5. Kortizol Düzeyleri

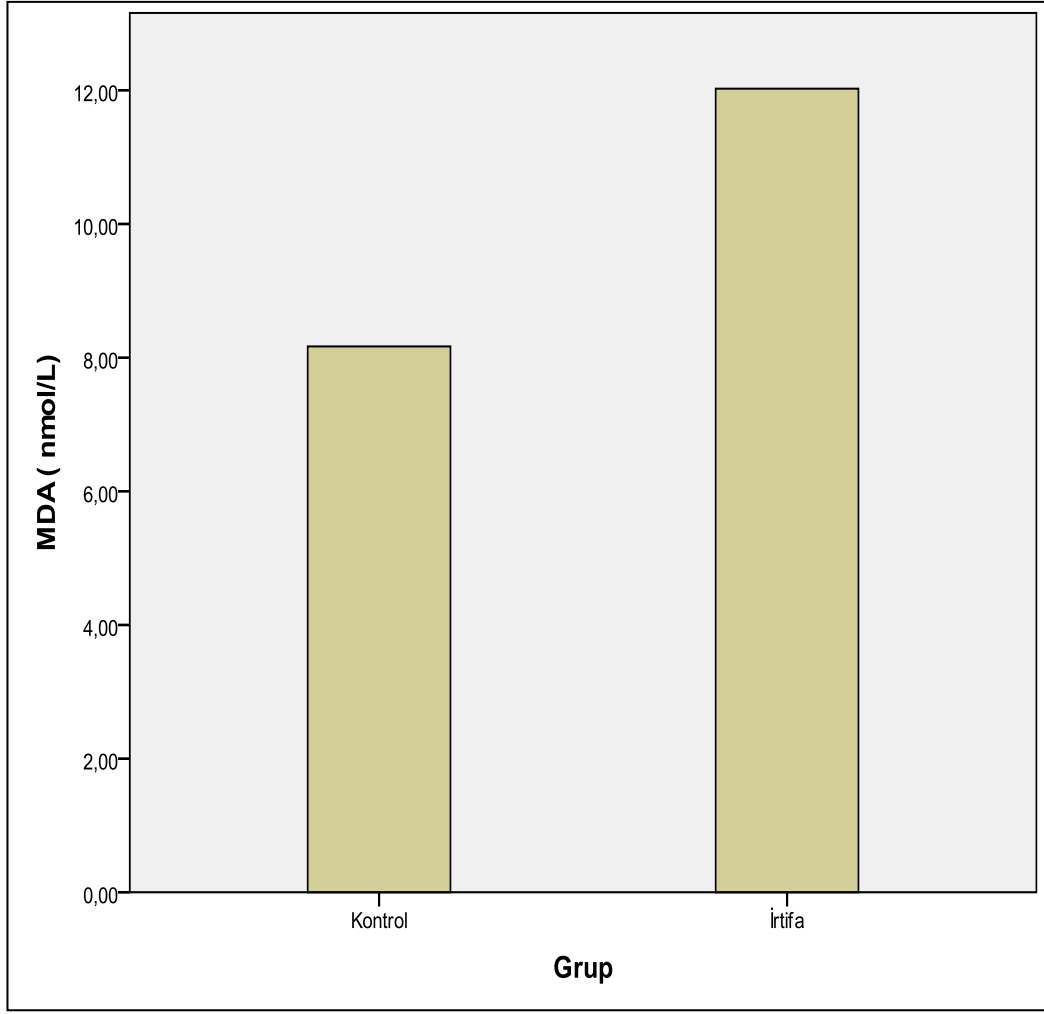
Çalışmamızda kontrol ve yüksek irtifa gruplarındaki deneklere ait kortizol düzeyleri Grafik 7 ve Tablo 5’de belirtilmiştir. Grafik 7 ve Tablo 5’de görüldüğü gibi yüksek irtifa grubunda kortizol düzeyi kontrol grubuna göre % 12,04 oranda artma göstermiştir. Fakat bu değişim istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir.



Grafik 7. Kortizol Düzeyleri.

3.6. Malondialdehid (MDA) Düzeyleri

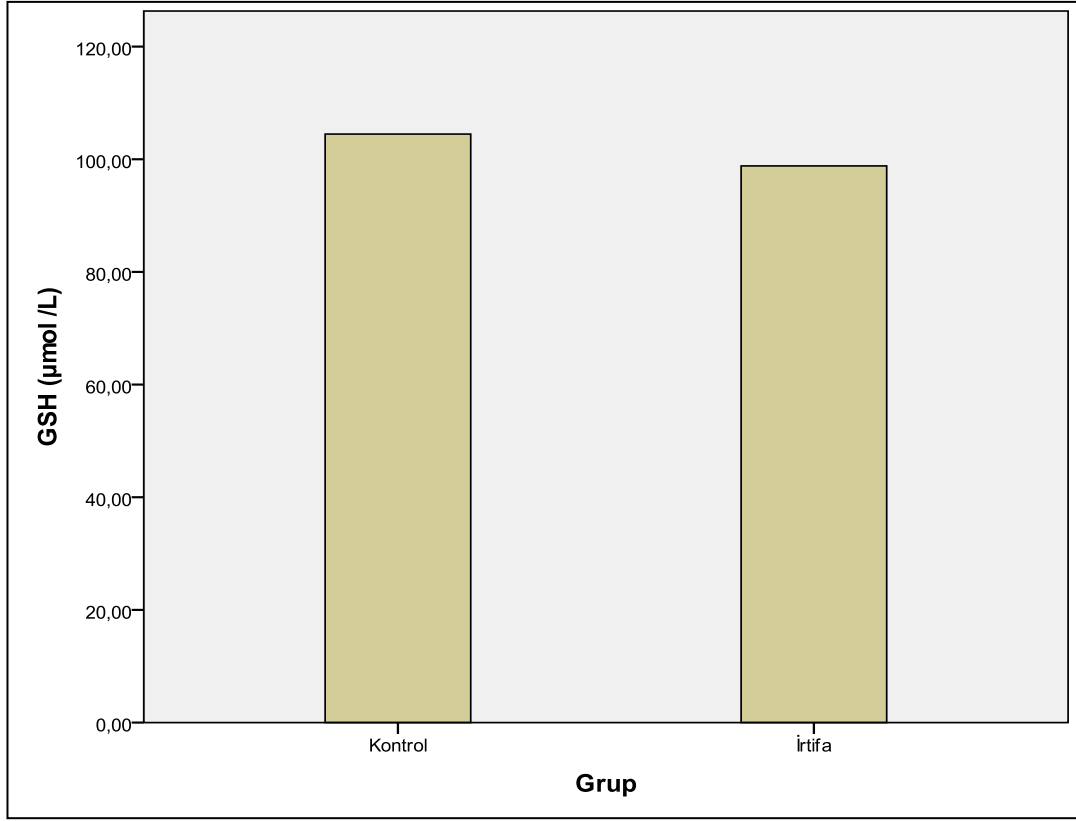
Lipid peroksidasyonu göstergelerinden MDA düzeyleri Grafik 8 ve Tablo 5’de belirtilmiştir. Grafik 8 ve Tablo 5’de görüldüğü gibi yüksek irtifa grubunda MDA düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) bir artış göstermiştir. Yüksek irtifa grubunda MDA düzeyi kontrol grubuna göre % 47,30 oranında artmıştır.



Grafik 8. MDA Düzeyleri.

3.7. Redükte Glutatyon (GSH) Düzeyleri

Çalışmamızda kontrol ve yüksek irtifa gruplarındaki deneklere ait GSH düzeyleri Grafik 9 ve Tablo 5’de belirtilmiştir. Grafik 9 ve Tablo 5’de görüldüğü gibi GSH düzeyleri karşılaştırıldığında yüksek irtifa grubunda GSH düzeyi kontrol grubuna göre % 5,72 oranda azalma göstermiştir. Fakat bu değişim istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir.

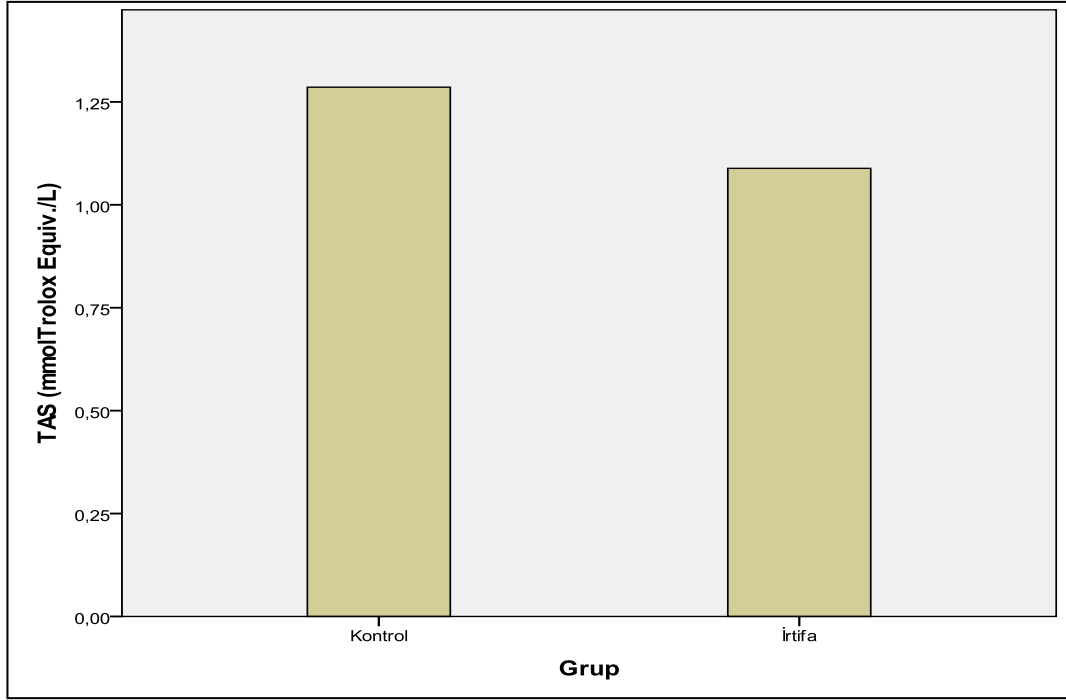


Grafik 9. Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyleri.

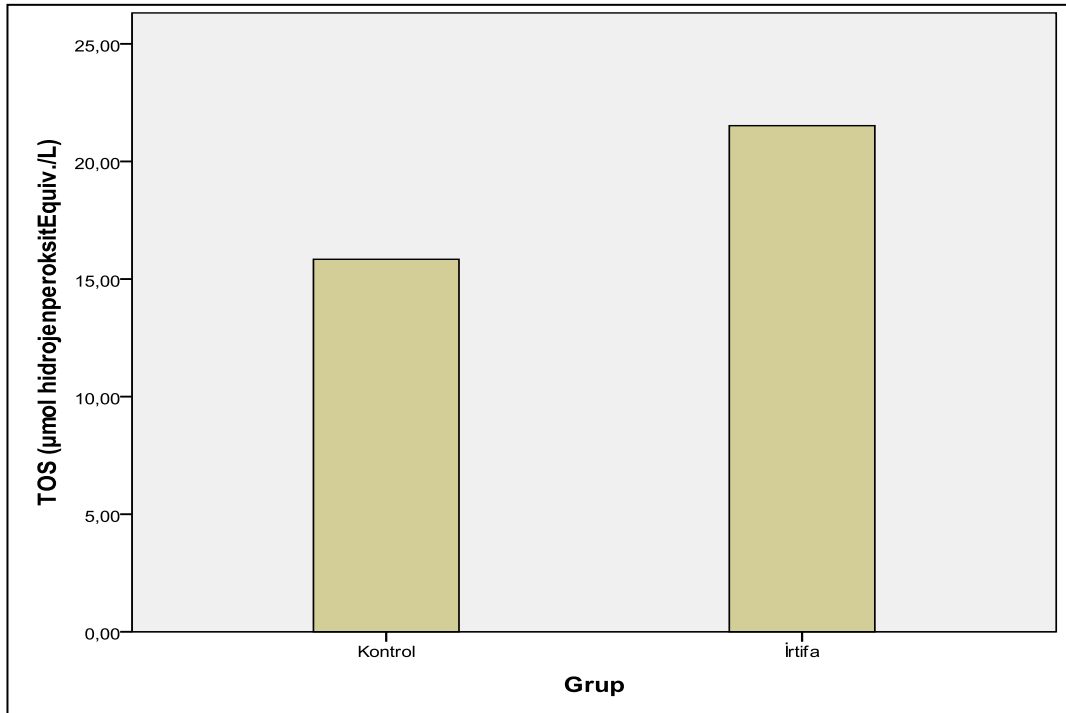
3.8. TAS ve TOS Düzeyleri

Oksidan antioksidan dengesi belirlemek amacıyla yapılan, total antioksidan statü (TAS) ve total oksidan statü (TOS) analizleri sonucu elde edilen sonuçlar Grafik 10, Grafik 11 ve Tablo 5’de belirtilmiştir.

Grafik 10 ve Tablo 5’de görüldüğü gibi yüksek irtifa grubunda TAS düzeyi kontrol grubuna göre % 18,51 oranında azalmıştır. Fakat bu değişim istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Yine Grafik 11 ve Tablo 5’de görüleceği gibi yüksek irtifa grubunda TOS düzeyi kontrol grubuna göre % 44,98 oranda artma göstermiştir. Yüksek irtifa grubunda TOS düzeyinin kontrol grubuna göre artışı istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bulunmuştur.



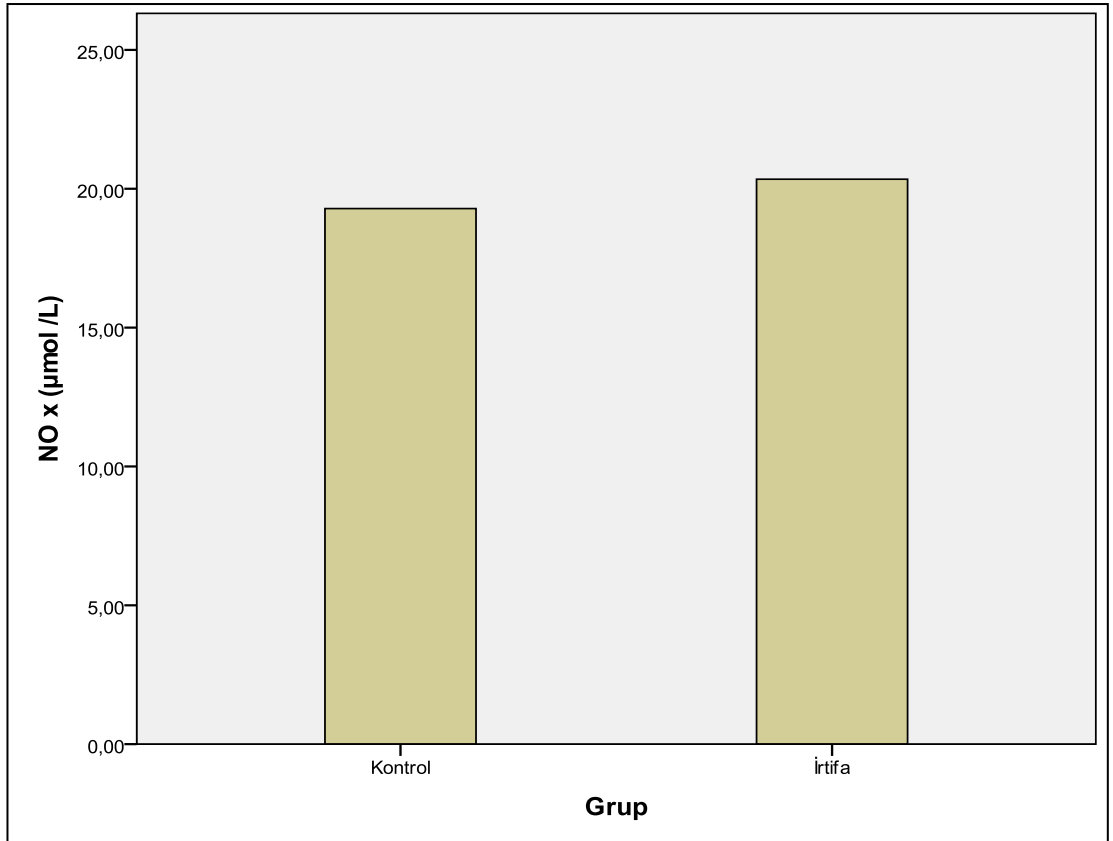
Grafik 10. TAS Düzeyleri.



Grafik 11. TOS Düzeyleri

3.9. Nitrik Oksit Metabolitleri (NOx) Düzeyleri

Deneme gruplarını oluşturan ratlarda nitrik oksit metabolitleri (NOx)'nin düzeyleri Grafik 12 ve Tablo 5'de belirtilmiştir. Grafik 12 ve Tablo 5'de görüldüğü gibi yüksek irtifa grubunda NOx düzeyi kontrol grubuna göre % 5,21 oranında artmıştır. Fakat bu değişim istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir.



Grafik 12. NOx Düzeyleri.

4. TARTIŞMA

Çalışmamızda iki gruba ayrılan ratlardan kontrol grubunu oluşturan deneklere hiçbir uygulama yapılmamıştır. Yüksek irtifa grubundaki denekler ise normobarik hipoksik çadır düzeneği içerisinde CAT 12 Normobarik Yüksek İrtifa Simülatörü kullanılarak (Colorado Altitude Training, USA,) 5000 m yüksekliğin simüle edildiği ortamda 12 saat (saat 08:⁰⁰ ile 20:⁰⁰ arası) akut irtifa değişimine maruz bırakılmıştır.

Yükseğe çıkıldıkça atmosferin fizyolojik kuşağı içinde (düşük, orta ve ekstrem yükseklikler) vital fonksiyonlar belirgin şekilde etkilenmektedir (Çoksevrim ve ark., 2002). Deniz seviyesinde veya 1000 m den daha düşük rakımda yaşayanlar, 1000 m ve üzeri bir yükseklikte yaşamak ve efor harcamak zorunda kaldıklarında irtifa ile oluşan bir takım problemlerle karşılaşmaktadırlar (Ergen, 1993; Şeren, 2007).

Yükseklığe bağlı barometrik basınçtaki düşüş hipoksi probleminin temelini oluşturur. Çünkü barometrik basıncın düşmesi ile orantılı olarak oksijen parsiyel basıncı da azalır. Oksijen parsiyel basıncı deniz seviyesinde 159 mmHg iken 15000 metrede 18 mmHg olur (Guyton ve Hall, 2001). Hipoksi, oksijenin parsiyel basıncındaki azalma ile karakterize olup, dokuların yeterince oksijenlenmemesi, doku hasarları ve hücre ölümleri ile sonuçlanan ciddi bir stres kaynağıdır (Akın, 2007). Dokunun ihtiyaç duyduğu oksijeni yeterli düzeyde alamaması ya da kullanamaması durumunda dokular, hipoksik koşullar altında çalışmaya başlar (Astrand ve Rodahl, 1986; Şinforoğlu, 2002; Ağgön, 2006).

Hematolojik ölçümlerin değerlendirilmesinde yaş ve cinsiyetin yanında biyolojik farklılıklar ile yaşanan rakımında önemi vardır. Yüksek rakımın sebep olduğu hipoksik çevre bariz şekilde hematolojik adaptasyonlara neden olmaktadır (Şimşek ve ark., 2005).

Yüksek irtifadan etkilenen hematolojik parametrelerden birisi akyuvarlardır. Organizmayı savunmakla görevli olan akyuvar hücreleri kırmızı kemik iliklerinde

üretirler. Vücudun koruma sisteminin hareketli üniteleri olup, vücudu yabancı organizmalara ve mikroplara karşı korurlar. Vücutta akyuvar sayısı sabah en düşük, akşam en yüksek değerdedir. Fiziksel aktivite, güneşte aşırı süre kalma ve yüksek yerlere çıkma da akyuvar düzeyini etkileyen diğer etmenlerdir (Demiriz, 2013).

Rietjens ve ark., (2002), 7 erkek, 4 bayan, toplam 11 olimpik atlet üzerinde yaptıkları çalışmada, deneklerden sezon sonrasında ve yüksek irtifada (2600 m) kan örnekleri almışlar, ancak akyuvar hücrelerinde anlamlı bir değişikliğe rastlamamışlardır. Bununla birlikte Sarada ve ark., (2002) hipoksi kaynaklı oksidatif stresin azaltılmasında selenyumun rolünün araştırıldığı bir çalışmada; akyuvar sayısında artış tespit etmişlerdir. İri ve Şeren, (2007) de yüksek irtifanın dağcılarının bazı fizyolojik parametrelere ve bağışıklık sistemine akut etkilerini araştırdığı çalışmada yüksek irtifa (2800 m) sonucu alınan kan örneklerinde akyuvar sayısında önemli bir artış olmadığını bildirmektedirler.

Yüksek irtifaya çıkıldıkça alyuvar sayısında iki tip artış görülür birincisinde alyuvarların gerçek sayısında bir artma yoktur. Yüksekliğe sürekli çıkışlarda suyun damar dışına çıkması ve akciğerler yoluyla sıvı kaybı nedeniyle, kan plazmasında azalmaya bağlı hematokrit değerinde yükselme oluşur. Böylece kandaki alyuvar miktarı relatif olarak artmış gibi görülür. Bu mekanizma yüksekliğe çıkışların ilk 48 saati içinde kendisini gösterir. Diğer yandan ikinci mekanizma ile alyuvarların gerçek miktarında bir artma olur. Böbreklerden eritropoetin salgılanması alyuvar sayısı ve kandaki hemoglobin konsantrasyonunun artmasını sağlar (Karaca, 2011). Aynı zamanda hemoglobinden oksijenin daha kolay ayrılmasını sağlamak amacıyla alyuvar 2,3 difosfo gliserat içeriği de artar (Sayan ve ark., 2000).

Eritropoetin yokluğunda alyuvar üretiminin stimülasyonunda hipoksi hemen hemen etkisizdir. Eritropoetin sistemi fonksiyonel iken, hipoksi eritropoetin yapımında belirgin artışa neden olur, eritropoetin de hipoksi düzelineye kadar alyuvar yapımını artırır (Noyan, 1989; Guyton ve Hall, 1996). Uzun süre yüksekte kalınca kanın alyuvar miktarı artar, ancak kan viskozitesinin artması bunu sınırlar (Silbernagl ve Despopulos, 1985). Vilee, (1972) alyuvar artışının uyarılmasının

deniz seviyesinde fakat düşük oranda oksijen bulunan bir kabinde deneysel olarak sağlanabileceğini, Faulkner, (1967) alyuvar ve hemoglobindeki artmanın yüksekliğe çıkıldıktan 2-3 hafta kadar sonra meydana geldiğini ve deniz düzeyine döndükten sonra birkaç gün içerisinde normale döndüğünü bildirmektedir.

Akgün, (1993) yüksek irtifada gerçek hemoglobin yapımı ve artışının yavaş olacağını, zaman alacağını ve deniz düzeyine döndükten sonra da hemen kaybolmayıp daha uzun süre devam edeceğini bildirmiştir. Cerretelli, (1976) 4 ay süre ile yüksek irtifada (5350 m) kalındıktan sonra, hemoglobin konsantrasyonunda artışın % 12 dolayında olduğunu belirtmektedir. Akdağ, (1990) sürekli Erzurum’da yaşayan 7-14 yaşlarındaki sağlıklı 718 çocukta hematokrit değerlerini deniz seviyesi değerlerinden daha yüksek bulmuştur. Özcan, (1992) Yapmış olduğu çalışmada 15 günlük yüksek irtifa kampından sonra, kamp öncesi ortalama hematokrit miktarının anlamlı olarak arttığını bildirmektedir. Sarada ve ark., (2002) Hipoksi kaynaklı oksidatif stresin azaltılmasında selenyumun rolünün araştırıldığı bir çalışmada; hipoksiye maruz kalmış grupta hemoglobin konsantrasyonu ve kırmızı kan hücresi sayısında artış tespit etmişlerdir. Green ve ark., (2000) 5 erkek dağcı üzerinde yüksek irtifaya çıkmadan önce, yüksek irtifada (6194 m) ve dönüşte testler yapmışlardır. Tırmanıştan sonra hemoglobin konsantrasyonunda istatistiksel açıdan anlamlı artış bulmuşlardır. Boutellier ve ark., (1990) 6 erkek dağcı üzerinde yapmış oldukları araştırmada 5200 m’de 5 hafta kaldıktan sonra, deniz seviyesindeki değerlere göre hemoglobin’in % 20,5 ve hematokrit’in % 23 arttığını bildirmişlerdir. Yüksek irtifadan ayrıldıktan 10-12 gün sonra hemoglobin değerlerinin hala tırmanış öncesi kontrol değerlerinden % 13 fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Ingjer ve Myhre, (1992) 7 seçkin erkek kros kayakçısına 1900 m’de 3 hafta boyunca antrenman yaptırmışlardır. Araştırmalarının sonucunda hemoglobin ve hematokrit değerlerinde anlamlı artış bulmuşlardır.

Bu çalışmada bizim elde ettiğimiz bulgulara göre Yüksek irtifa grubunda alyuvar düzeyi kontrol grubuna göre % 12 artmıştır. Yine yüksek irtifa grubunda alyuvar düzeyi kontrol grubuna göre % 0,67 oranda artma göstermiştir. Çalışmamızda yüksek irtifa grubunda hemoglobin düzeyi kontrol grubuna göre %

0,84 oranda artma göstermiştir. Fakat gerek akyuvar düzeylerinin gerekse alyuvar ve hemoglobin düzeylerinin yüksek irtifa grubunda kontrol grubuna göre artması istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Bununla birlikte çalışmamızda yüksek irtifa grubunda hematokrit düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) bir artış göstermiştir. Yüksek irtifa grubunda hematokrit düzeyi kontrol grubuna göre % 6,18 oranda artmıştır. Bu bulgular değerlendirildiğinde yaptığımız çalışmada ratların 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalması sonucunda; akyuvar, alyuvar sayıları ile hemoglobin düzeylerinde anlamlı değişiklikler saptanmamasına karşın hematokrit düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır.

Bizim çalışmamızda irtifaya bağlı hipoksiye yanıt olarak gelişen eritropoetin salınımı ile stimüle edilen eritropoetik cevabın ortaya çıkmasında 12 saatlik uygulamanın yeterli olmadığı görülmektedir. Bununla birlikte istatistiksel önemi olmasa da akyuvar, alyuvar sayıları ile hemoglobin düzeylerinde artışın strese bağlı salınan kateşolaminlerin dalakta bulunan adrenerjik reseptörleri uyarması ya da sempatik sinirlerin uyarımı ile kan depo eden bir organ olan dalağın kasılmasına neden olması, sonuçta hematokrit değeri yüksek kanın dolaşıma verilmesi sonucu gerçekleştiği düşünülmektedir.

Dış ve iç etmenlerin zorlamasıyla fizyolojik durumunun ağır yük altına girmesi sonucu organizma, fizyolojik ve davranışsal tepki verir. Stres yaratan durumlarda vücutta sempatik sinir sisteminin aktivitesi ve hormonal değişimler ile kan glikoz düzeyinin yükselmesi gibi fizyolojik ve biyokimyasal pek çok faktörde değişimler olmaktadır (Avcı ve ark., 2008). Strese yol açan durumlar; hipotalamo-hipofizer-adrenal aksinin uyarılmasına bağlı olarak plazma ACTH ve kortizol salınımını 10 katına kadar artırabilmekte (Kay ve ark.; 1985; Ali ve ark., 2006) ve strese bağlı olarak kanda düzeyi artan kortizol gibi kan glikokortikoidleri ise çevresel değişimlere gösterilen tepkinin iyi bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Rijnberkve ark., 1997; Fazio ve ark., 2005). Bununla birlikte, şayet stres yaratan etken çok şiddetli değil ve etkinin süresi uzamışsa, glikokortikoid sekresyonu yavaş yavaş azalarak normal düzeye dönerken vücutta da fizyolojik adaptasyon meydana gelmektedir (Noyan, 1993).

Kortizol, metabolizmanın ana efektörüdür. Stres sırasında salgılanan kortizolün en önemli etkilerinden birisi, stres süresince pek çok inflamatuvar aracının üretimini ve biyolojik etkilerini kısmen baskılamasıdır (Kocatürk, 2000). Kortizol epinefrin ve glukagonun etkilerini potansiyelize ederek hiperglisemiye neden olur. Glikoneogenezi aktive eder. Periferde yağ dokusunda ve kaslarda insülinin reseptörlerine bağlanmasını engeller. Kortizol ayrıca lipolizi stimüle eder ve glikozun yağ dokusu tarafından alınımını engeller. Sonuç olarak enerji için uygun ve kullanışlı kaynak oluşturur ve hepatik glikoneogeneze substrat sağlar (Ayköse, 2006). Streste görülen hipergliseminin; stres sonucu kanda düzeyi artan kortizolün, karaciğerde glikojenolizis ya da sempatoadrenal aktivitedeki artışa bağlı olarak kortizolün sekonder etkisinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Ali ve Al-Qarawi, 2002). Yağ asidi oksidasyonunu artıran bu hormon sayesinde açlık ve stresli durumlarda gereken enerji glikoz yerine yağ asitlerinden sağlanır, hücrelerde glikoz kullanımı azaltılarak glikoz seviyesi yükseltilir, vücudun glikojen seviyesi korunmuş olur (Başaran, 2005; Sözbilir Bayşu ve Bayşu, 2008). Birçok çalışmada değişik stres faktörlerine bağlı olarak hayvanlarda kortizol düzeyinin arttığı bildirilmiştir (Çingi ve ark., 2012)

Richalet ve ark (2010) Yüksek irtifaya bağlı hipoksi etkisine hipotalamik faktörlerin hormonal yanıtının incelendiği bir çalışmada, 4350 yükseklikte 3-4 günlük irtifa uygulamasının noradrenalin ve kortizol düzeyleri yükselttiğini bildirmişlerdir. Vats ve ark., (1999) Hipoksik strese maruz bırakılan sıçanlarda yapılan bir çalışmada; sıçanlar 7620 m ye simüle edilen bir hypobarik ortamda (1, 7, 14, 21 gün) 6 saat boyunca tutulmuş ve hemoglobin, kan şekeri, karaciğer-kas-plazma glikojen seviyesi, plazma protein seviyesi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda; birinci günün sonunda karaciğer glikojen içeriğinde üç kat artış olmuştur. Ayrıca kas glikojen seviyesinde artış olmuş, glikojen seviyesindeki bu artış sonraki günlerde normale dönmüştür.

Bizim yaptığımız bu çalışmada Yüksek irtifa grubunda kortizol düzeyi kontrol grubuna göre % 12,04 oranda artma göstermiştir. Fakat bu değişim istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Diğer yandan yüksek irtifa grubunda glikoz düzeyi

kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$) bir artış göstermiştir. Yüksek irtifa grubunda glikoz düzeyi kontrol grubuna göre % 31,35 oranında artmıştır.

Bu bulgular değerlendirildiğinde, yaptığımız çalışmada ratların 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalmasının istatistiksel anlamlılıkta da olmasa da % 12,04 oranında kortizol düzeyini artırdığını ortaya koymuştur. Bu bulgu diğer literatürlerle uyumlu olup 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalmanın hayvanlarda stres kaynağı olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte yüksek irtifa grubunda glikoz düzeyi kontrol grubuna göre % 31,35 oranında anlamlı artışı, özellikle yüksek irtifaya kısa süreli maruziyet gibi stres durumlarında kortizolün plazma glikoz düzeylerini artırması nedeniyle, glikozun bir stres göstergesi olarak yararlı olabileceği yönündeki bildirimle (Sanhoury ve ark., 1991; Avcı ve ark., 2008) uyumaktadır. Streste görülen hipergliseminin; stres sonucu kanda düzeyi artan kortizolün, karaciğerde glikojenolizis ya da sempato-adrenal aktivitedeki artışa bağlı olarak kortizolün sekonder etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Stresin yol açtığı olumsuz etkilere karşı homeostazisin sürdürülmesi, organizmanın gösterdiği otonom, hormonal, metabolik ve immunolojik yanıtlara bağlıdır (Avcı ve ark., 2008). Aerobik organizmalarda normal oksijen metabolizması sonucu açığa çıkan serbest oksijen radikalleri yarı ömürleri çok kısa olmasına rağmen, son derece reaktif olan ve dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunduran atom ya da moleküllerdir (Akkuş, 1995). Organizmada çevresel kirleticiler, hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma, organik yanık madde ve yanmış gıdaların alımı, sigara dumanı, iyonize edici radyasyon ve yüksek irtifa gibi faktörler radikal oluşumu ve serbest radikal reaksiyonlarını artırarak oksidatif strese yol açar (Stevenson ve ark., 1994; Dündar ve Aslan, 2000). Yüksek irtifaya bağlı azalmış oksijen basıncına maruziyet sonucu oluşan oksidatif stres, RONS üretiminin artmasına neden olur. Artmış RONS lipidler, proteinler ve DNA üzere olumsuz etki göstererek oksidatif hasara neden olduğu bildirilmektedir (Kumar, 1999; Ilavazgan, 2001; Sarada ve ark., 2002; Maiti, 2006; Dosek ve ark, 2007).

Radak ve ark., (1994) 4000 m irtifaya aralıklı maruz bırakılan sıçanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada, hem hızlı hem de yavaş çalışan kaslarında (soleus ve tibialis) Mitokondrial SOD (Mn-SOD) düzeylerinde düşüş, lipid peroksidasyon düzeylerinde artış olmuştur. Bulgular oksijene daha fazla ihtiyaç duyacağı değerlendirilen soleus kasta daha belirgin olmuştur. Nakanishi ve ark.'nın, (1995) antioksidan enzimler üzerine hipobarik hipoksinin etkilerini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, sıçanlar 5500 m yüksekliğe eşdeğer hipoksik ortamda 21 gün tutulmuştur. Yapılan incelemede serum, kalp, akciğer, karaciğer ve böbrek MDA düzeylerinin tüm sıçanlarda arttığı bildirilmiştir. Kumar ve ark., (1999) birbirini takip eden 5 gün boyunca günde 6 saat boyunca 7576 m simüle edilmiş hipoksik ortamda tutulan ratlarda kan glutatyon düzeyinin azaldığını ve plazma MDA seviyesinin de arttığını, ağızdan glutamat takviyesinin MDA konsantrasyonunu önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Ilavazgan ve ark., (2001) Albino erkek sıçanlarda hipoksi kaynaklı oksidatif hasarına karşı E vitamini desteğinin etkisini araştırıldığı bir çalışmada, albino sıçanlar 15 gün, günde 6 saat boyunca 7576 m (25 000 ft) yüksekliğe simüle edilen ortamda tutulmuş ve hipoksiye bağlı alyuvar deformabilite endeksi araştırılmıştır. Yapılan inceleme sonucunda hipoksiye maruz kalan sıçanlar da kan GSH düzeyi azalırken, plazma MDA düzeyi iki kat artmış; E vitamini takviyesi plazma MDA düzeyinde azalış, kan GSH düzeyinde artış sağlamıştır. Schmidt ve ark., (2002) 24 gün boyunca orta rakımlı irtifaya maruz bırakılan 40 erkekte; serumda Lipidhidroperoksit ve MDA düzeyi arttığını bildirmişlerdir. Sarada ve ark., (2002) Hipoksi kaynaklı oksidatif stresin azaltılmasında selenyumun rolünün araştırıldığı bir çalışmada; hipobarik bir basınç odasında hipoksiye maruz bırakılan erkek albino sıçanlarda; doku ve plazma GSH ve GSH-Px düzeylerinde azalma, bununla birlikte plazma protein ve selenyum içeriğinde azalma, plazma MDA düzeyinde artış kaydetmişlerdir. Hayvanlara selenyum takviyesi ile plazma MDA düzeyinde önemli bir azalma, plazma ve doku GSH ve GSH-Px düzeylerinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Magalhaes ve ark., (2004) 4 saat boyunca 5500 m yüksekliğin simüle edildiği hipoksik ortamda bulunan insanlarda oksidatif hasar düzeyleri araştırdıkları çalışmada; toplam GSH seviyesinde önemli azalma, GSSG yüzdesinde önemli ölçüde artış olmuştur. GSH sistemindeki değişiklik doğrultusunda, Lipid peroksidasyonu göstergelerinden Tiyobarbütirat Reaktif

Maddeler (TBARS)'in ve protein oksidasyonu (SH protein grupları) artmış, total antioksidan seviyesi (TAS) azalmıştır. Elde edilen sonuçlar hipobarik hipoksinin plazmada oksidatif stres ve hasar belirteçlerinin yükünü artırdığını göstermektedir. Yine Magalhaes ve ark. (2004) yapmış oldukları bir diğer çalışmada dört gruba (*Plasebo verilen kontrol (KP) ve plasebo verilen hipoksi (HP) grubu ile glutatyon verilen kontrol (KG) ve glutatyon verilen hipoksi (HG) grubu*) ayrılan 40 fare 7000 m yüksekliğe eşdeğer hipobarik hipoksiye 24 saat maruz bırakılmışlardır. Elde edilen sonuçlarda KP gruba kıyasla HP grupta, GSSG, TBARS, sülfidril protein grupları (SH), N-asetil-beta-D-glikozaminidaz (NAG) ve HSP70 protein okside oranı artmış, toplam GSH oranı önemli bir düşüş göstermiştir. Benzer bulgular HG grupta da gözlenmiştir.

Bu çalışmada lipid peroksidasyonu göstergesi olarak ölçülen MDA düzeyleri Yüksek irtifa grubunda kontrol grubuna göre % 47,30 oranında anlamlı ($p < 0.05$) bir artış göstermiştir. GSH düzeyleri karşılaştırıldığında ise yüksek irtifa grubunda kontrol grubuna göre % 5,72 oranda azalma göstermiştir, fakat bu değişim istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Oksidan antioksidan dengeyi belirlemek amacıyla yapılan TAS, TOS analizleri sonucu elde edilen bulgular değerlendirildiğinde yüksek irtifa grubunda TAS düzeyi kontrol grubuna göre % 18,51 oranında azalmıştır. Fakat bu değişim istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Diğer yandan yüksek irtifa grubunda TOS düzeyi kontrol grubuna göre % 44,98 oranda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) artma göstermiştir.

Bu bulgular değerlendirildiğinde yaptığımız çalışmada ratların 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalmasının MDA ve TOS anlamlı olarak artırdığı görülmektedir. Diğer yandan ratların 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalması istatistiksel anlamda olmasa da GSH ve TAS düzeyinin azalmasına neden olmuştur. Yukarıda sözü geçen literatürler ışığında yüksek irtifada oksijen seviyesi düştüğünden MDA seviyesinin artması ve antioksidanların azalması beklenmektedir. Dolayısıyla çalışmada elde edilen bulgular diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Çalışmamız, ratların 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalmalarının hayvanlarda şiddetli oksidatif strese neden olduğunu ortaya koymaktadır.

NO'nun lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve enzim fonksiyonlarının bozulması gibi zararlı etkilerinin yanı sıra, antioksidan ve oksidatif hasarı azaltma gibi koruyucu ve düzenleme etkilerinin de bulunduğu bildirilmektedir (Altıntaş, 2006). NO serbest gazdır, biyolojik membranlardan kolay geçebilir. Süperoksit radikalleri NO'ya yüksek afinite duyarlar. NO ve süperoksit radikalleri arasındaki reaksiyon peroksinitrit (ONOO-) oluşmasına neden olur (Çanakçı ve ark., 2005) NO sağlık ve hastalık durumlarında önemli ve karışık role sahip serbest radikaldir. NO çok sayıda otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların patogenezinde yer almakta, dokular için hem zararlı hem de yararlı etkileri bulunmaktadır (Kendall ve ark., 2001; Lai ve ark., 2005). NO doğrudan ya da peroksinitrit oluşumu yoluyla oksidan etki gösterme özelliği nedeniyle bakteri, virüs, parazit ve tümör hücrelerine karşı sitotoksik ve sitostatik etki yaparak savunma sisteminin bir parçası olarak görev yapar. Endotel kaynaklı NO damar tonusunun ve kan basıncının fizyolojik düzenleyicisidir, vasküler düz kaslarda gevşemeye yol açarak vazodilatasyona neden olur. Solunum sisteminde bronş kaslarında gevşeme sonucu bronkodilatatör etki oluşturur. Sinir sisteminde nörotransmitter olarak rol oynamasına karşın fazla miktarda üretilmesi halinde nörotoksik etki gösterir (Üstün, 2005). Maiti ve ark., (2010) 6100 m nin simüle edildiği ortamda 3, 7, 14, ve 21 gün boyunca hipoksiye maruz bırakılmış ratların beyinlerinde NO, nörodejeneratif hasar ve DNA parçalanması araştırılmıştır. Sonuç olarak hipoksiye maruziyetten sonra NO, DNA parçalanması ve nörodejenaratif hasarın arttığı tespit edilmiştir. Maiti ve ark., (2006) Sıçan beyinde hipoksi sonucu oluşan oksidatif stresi inceledikleri araştırmada sıçanlar 3 ve 7 gün boyunca 6100 m ye eşdeğer ortamın simüle edildiği ortamda tutularak oksidatif stres parametreleri ölçülmüştür. İnceleme sonucunda beyinde serbest radikal üretimi artışını gösteren nitrik oksit, lipid peroksidasyonu ve laktat dehidrogenaz seviyesinde artış saptanmışlar.

Çalışmamızda deneme gruplarını oluşturan ratlarda nitrik oksit metabolitleri (NOx)'nin düzeyleri yüksek irtifa grubunda kontrol grubuna göre % 5,21 oranında artmıştır. Fakat bu değişim istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Elde edilen bu bulgu istatistiksel anlam içermese de bulgular diğer çalışmalarla benzerlilik göstermektedir

5. SONUÇ

Normobarik Yüksek irtifa simülatörü kullanılarak, en az 3 nesil 1000 m irtifada doğmuş annelerden elde edilen ratların, 5000 m yüksekliğin simüle edildiği ortamda 12 saat akut irtifa değişimine maruz bırakılarak akut irtifa değişiminin etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada;

- Deneklerin 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalması akyuvar, alyuvar sayıları ile hemoglobin düzeylerinde anlamlı olmayan artışlara neden olsa da hematokrit düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Gelişen bu durumun strese bağlı salınan kateşolaminlerin dalakta bulunan adrenerjik reseptörleri uyarması ya da sempatik sinirlerin uyarımı ile dalağın kasılmasına neden olması ile hematokrit değeri yüksek kanın dolaşıma verilmesi sonucu gerçekleştiği düşünülmektedir.
- Yüksek irtifa grubunda kortizol düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olmasa da % 12,04 oranda artma göstermiştir. Diğer yandan Yüksek irtifa grubunda glikoz düzeyi kontrol grubuna göre % 31,35 oranında anlamlı bir artış göstermiştir. Bu bulgular 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalmanın hayvanlarda stres kaynağı olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte yüksek irtifa grubunda glikoz düzeyinin artışının stres sonucu kanda düzeyi artan kortizolün, karaciğerde glikojenolizis ya da sempato-adrenal aktivitedeki artışa bağlı olarak kortizolün sekonder etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.
- Deneklerin 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalmasının lipid peroksidasyonu göstergelerinden MDA düzeyini, anlamlı olarak artırdığı görülmektedir. Deneklerin TOS düzeyleri de MDA düzeyine paralel bir şekilde anlamlı olarak artmıştır. Yüksek irtifa grubunda elde edilen bu değerler bu gruptaki deneklerde şiddetli lipid peroksidasyonun ve oksidatif stresin geliştiğinin göstergeleri olduğu düşünülmektedir.

- Yine Deneklerin 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalmasına bağlı olarak deneklerin GSH ve TAS düzeylerindeki istatistiksel anlamda olmasa da düşüş meydana gelmiştir. Bu parametrelerde gelişen bu düşüşün akut irtifa değişimi ile artan oksidatif stresin bir sonucu olabileceğini düşündürmektedir.
- Çalışmamızda yüksek irtifa grubunda NOx düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık göstermese de artmıştır.

Günümüzde giderek popüler bir hal alan normobarik yüksek irtifa simülatörü kullanılarak gerçekleştirilen bu çalışmada, 5000 m yüksekliğin simüle edildiği ortamda, 12 saat akut irtifa değişimine maruz bırakılan deneklerde hayvan refahının olumsuz yönde etkilenecek stres tablosunun ortaya çıktığı diğer yandan şiddetli oksidatif stresin geliştiği izlenmiştir.

Sonuç olarak, akut irtifa değişimine bağlı olarak artan oksidatif stresin olumsuz etkilerinin tamponlanmasında ve komplikasyonların önlenmesi veya hafifletilmesinde, çeşitli tedavi modülasyonlarının araştırılması ve bu konuda daha ileri çalışmalar yapılması önemli bir ihtiyaç haline gelmiştir. Diğer yandan çalışmamızda da kullanılan hipoksik ortamının simülatör ile sağlanması belirli bir yükseltiye çıkılarak yapılacak çalışmalarda tekrarlanabilirlik ve kontrol grubu karşılaştırması yapılmasına olumlu katkı sağlayacağı değerlendirilmektedir.

ÖZET

Akut İrtifa Değişimine Maruz Kalmış Ratlarda Bazı Hematolojik, Biyokimyasal ve Oksidatif stres Parametrelerin Araştırılması

Bu çalışmada; akut irtifa değişimine maruz kalmış ratlarda bazı hematolojik, biyokimyasal ve oksidatif stres parametrelerin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 1000 m irtifada doğmuş, ortalama 3 aylık ve 260-310 gr ağırlıkta olan 24 adet Wistar Albino cinsi erkek rat kullanılmıştır. Deneklere çalışma süresince standart rat yemi ve su ad libitum olarak verilmiştir. Denekler; Kontrol Grubu (K) (n=12) ve Yüksek İrtifa Grubu (Yİ) (n=12) olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Kontrol Grubu (K): Sağlıklı 12 adet denek 1000 m irtifada, standart rat yemi ile 15 gün boyunca beslenmiştir. Yİ: Sağlıklı 12 adet denek 1000 m irtifada, standart rat yemi ile 15 gün boyunca beslenmiştir. Daha sonra Yİ grubunda ratlar CAT 12 Normobarik Yüksek İrtifa Simülatörü (Colorado Altitude Training, USA)'ne alınarak, 5000 m yüksekliğin simüle edildiği ortamda 12 saat akut irtifa değişimine maruz bırakılmıştır. 12 saat sonunda alınan kan örneklerinde akyuvar, alyuvar, hemoglobin, hematokrit, MDA, GSH ve NOx analizleri ile glikoz ve kortizol düzeyi araştırılmıştır. Deneklerin 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalması, akyuvar ve alyuvar sayıları ile hemoglobin düzeylerinde anlamlı olmayan artışlara neden olsa da, hematokrit düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Yİ'de kortizol düzeyi, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olmasa da artma göstermiştir. Diğer yandan Yİ grubunda glikoz düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir. Lipid peroksidasyonu göstergelerinden MDA düzeyi, Yİ grubunda anlamlı olarak artmıştır. TOS düzeyleri de MDA düzeyine paralel bir şekilde anlamlı olarak artmıştır. Yine deneklerin 12 saat süre ile akut irtifaya maruz kalmasına bağlı olarak, GSH ve TAS düzeylerinde istatistiksel anlamda olmasa da düşüş meydana gelmiştir. Çalışmamızda Yİ grubunda NOx düzeyi, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık göstermese de artmıştır. Sonuç olarak; normobarik yüksek irtifa simülatörü kullanılarak gerçekleştirilen bu çalışmada, 5000 m yüksekliğin simüle edildiği ortamda 12 saat akut irtifa değişimine maruz bırakılan deneklerde, hayvan refahının olumsuz yönde etkilenecek stres tablosunun ortaya çıktığı, diğer yandan şiddetli oksidatif stresin geliştiği izlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yüksek İrtifa, Yüksek İrtifa Simülatörü, Oksidatif Stres, Kortizol, MDA.

SUMMARY

Investigation of Some Hematological, Biochemical and Oxidative Stress Parameters in Rats Exposed to Acute Altitude Variation.

In this study, it has been aimed to research some hematological, biochemical and oxidative stress parameters of the rats which have been exposed to acute altitude changes. In this study, 24 Winstar Albino male rats which were born at 1000 m altitude, 3 months old on the average, at 260-310 grams weight have been used. The rats were fed with standard feed and water was given to be released. Rats; Control Group (K) (n=12) and High Altitude Group (YI) (n=12) were divided into two groups. Control Group (K): healthy 12 subjects at 1000 m altitude were fed with standard rat feed for 15 days. High Altitude Group (YI): Healthy 12 subjects at 1000 m altitude were fed by standard rat feed for 15 days. Afterwards High Altitude Group (YI) rats have put in CAT 12 Normobaric High Altitude Simulator (Colorado Altitude Training, USA). In this simulator, rats were exposed to 5000 meters for 12 hours. Erythrocyte, leukocyte, hemoglobin, hematocrit, MDA, GSH, NO_x, glucose and cortisol levels were checked in blood samples obtained after 12 hours. Test subjects being exposed to acute altitude for 12 hours cause insignificant changes in the numbers of leukocyte, erythrocyte and hemoglobin levels. However hematocrit level has increased significantly compared to control group. The cortisol level of high Altitude group has increased but statistically not increased significantly compared to control group. On the other hand, the level of glucose in High Altitude group has significantly increased. One of the lipid peroxidation indicators, MDA level has significantly increased in High Altitude Group. TOS levels have also increased significantly paralleled to MDA level. Subjects being exposed again to acute altitude for 12 hours cause decreases in GSH ve TAS levels but the decreases were not statistically significant. In this study, NO_x level of the high altitude group has increased compared to control group but not statistically significant. To conclude in this study, it was observed that on one hand animal comfort has affected negatively, caused stress and on the other hand intensive oxidative stress occurred on the test subjects exposed to acute altitude change for 12 hours in an environment where 5000 m altitude was simulated by using normobaric high altitude simulator.

Key Words: High Altitude, High Altitude Simulator, Oxidative Stress, Cortisol, MDA.

KAYNAKLAR

1. ABAY, C. (2009). 9. Sınıf Coğrafya, Aydan Yayıncılık, Ankara, sy. 132-133.
2. ABDOLLAHİ, M., BAHREİNİ-MOGHADAM, A., EMMAMİ, B., FOOLADİAN, F., ZAFARİET, K. (2003). Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 135C(3):331-6.
3. ACKER, H. (2005). The oxygen sensing signal cascade under the influence of reactive oxygen species. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 360(1464):2201-10.
4. ADİTİ, C.K., KUPPUSAMY, P., PARINANDİ, N. (2007). Oxygen, the lead actor in the pathophysiologic drama: enactment of the trinity of normoxia, hypoxia, and hyperoxia in disease and therapy. *Antioxid Redox Signal.* 9(10):1717-30.
5. AGAR, N.S., SADRZADEH, S.M., HALLAWAY, P.E., EATON, J.W. (1986). Erythrocyte catalase. A somatic oxidant defense? *J Clin Invest.* 77(1):319-21.
6. AĞAŞCIOĞLU, E. (2007). Akut hipobarik hipoksizde yaşlı ve genç sıçan kalp kasında oksidatif hasar. Spor Bilimleri ve Teknolojisi Programı Doktora Tezi. Ankara, 2007
7. AĞGÖN, E. (2006). Orta dereceli yüksek rakımda yapılan yedi günlük kamp sürecinin amatör dağcılarda oksidatif stres ve dinamik akciğer fonksiyonları üzerine etkisi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı, Erzurum, 1990. Yayımlanmış Yüksek Lisans Tezi.
8. AKDAĞ, R. (1990). Orta derecede yüksek bir rakımda (1869 m Erzurum) 7-14 yaşındaki sağlıklı çocuklarda rutin hematolojik referans değerler. Yayımlanmamış Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum, 1990.
9. AKGÜN, N. (1993). Egzersiz Fiziyojisi, 4. Baskı, 1. Cilt, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 1993.
10. AKIN, Ş. (2007). Hipoksiye stres proteinleri yanıtı: Adrenal bezinde HSP72. Hacettepe Üniversitesi, Spor Bilimleri ve Teknolojisi Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2007
11. AKKUŞ, İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fiziopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.
12. AKSOY, B. (2003). Deney yöntemi ile atmosfer basıncı konusunun öğretimi üzerine bir model. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, Cilt 23, Sayı 3: sy.207-226.
13. ALİ, B.H., AL-QARAWİ, A.A., MOUSA, H.M. (2006). Stress associated with road transportation in desert sheep and goats, and the effect of pretreatment with xylazine or sodium betaine. *Res Vet Sci.* 80(3):343-8. Epub 2005 Sep 19.
14. ALİ B.H., AL-QARAWİ A.A. (2002) An evaluation of drugs used in the control of stressful stimuli in domestic animals: A Review. *Acta Vet Brno.* 71: 205–21.

15. ALTINTAŞ, S. (2006). Kahramanmaraş'ta bazı iş kollarında çalışan boya işçilerinde plazma ve eritrosit membranı sialik asit, glutatyon, plazma nitrik oksit ve lipid peroksidasyonu düzeylerinin değerlendirilmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
16. AMES, B.N., SHIGENAGA, M.K., HAGEN, T.M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(17):7915-22
17. AMİN, J., ANATHAN, J., VOLLEMY, R. (1988). Key features of heat shock elements. *J Mol Cell Biol.* 8:3761-69.
18. APEL, K., HİRT, H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol.* 55; 373-99
19. ARANEDA, O., GARCÍA, C., LAGOS, N., QUÍROGA, G., CAJIGAL, J., SALAZAR, M.P., BEHN, C. (2005). Lung oxidative stress as related to exercise and altitude. Lipid peroxidation evidence in exhaled breath condensate: a possible predictor of acute mountain sickness. *Eur J Appl Physiol.* 95(5-6):383-90. Epub 2005 Sep 30.
20. ASKEW E.W. (2002). Work at high altitude and oxidative stress:antioxidant nutrients. *Toxicology.* 180(2):107-19
21. ASTRAND, P.O., RODAHL, K. (1986). Textbook Of Work Physiology, Mc Graw Hill Book Company, New York, 1986.
22. ASTRAND, P.O., RODAHL, K. (1987). Text Book Of Work Physiology, 3. Edition Mc. Grow Hill Book Company, Singapore, 1987.
23. ATIŞ, S. (2004). Yüksek irtifalarda ortaya çıkan acil akciğer sorunları. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Solunum 2004 Vol: 6 Sayı: 1 sy. 40-43
24. ATMACA, E. (2009).Oksidatif dna hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi. 20 (2), 79 - 83
25. AVCI, G., KÜÇÜKKURT, İ., FİDAN, A.F., ERYAVUZ ,A., ASLAN, R., DÜNDAR, Y. (2008). Nakil işlemine tabi tutulan koyunlarda vitamin c ve ksilazin uygulamasının kortizol ve lipid peroksidasyon ile bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. Fırat Üniversitesi, Sağ. Bil. Derg. Cilt: 22, Sayı: 3 Mayıs 2008
26. AYKÖSE, G., (2006). Genel anestezi ile epidural genel anestezi kombinasyonunun stres yanıt üzerine etkileri uzmanlık tezi. Sağlık Bakanlığı, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, İstanbul.
27. BABİZHAYEV, M.A., COSTA, E.B. (1994). Lipid peroxide and reactive oxygen species generating systems of the crystalline lens. *Biochim Biophys Acta.* 1225(3):326-37.
28. BAİLEY, D.M., DAVİES, B. (1997). Physiological implications of altitude training for endurance performance at sea level. *Br J Sports Med.* 31(3):183-90.
29. BAKONYİ, T., RADAĞ, Z. (2004). High altitude and free radicals. *J Sports Sci Med.* 3(2): 64-9.
30. BARBER, D.A., HARİS, S.R. (1994). Oxygen free radicals and antioxidants. *Am Pharm.* 34(9):26-35.

31. BAST, A., GORIŞ, R.J.A. (1989). Oxidative stres. Biochemistry and human disease. Pharm Weekbl Sci. 11(6):199-206.
32. BAST, A., HAENEN, G.R., DOELMAN, C.J. (1991) Oxidants and antioxidants: State of the art. Am J Med. 91(3C):2S-13S.
33. BAŞARAN, A. (2005). Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı. Motif matbaacılık, İstanbul. 2005: 196-508.
34. BAŞOĞOLU, S., ÇOLAK, R., TURNAGÖL, H. (2005). Yükseltide performans ve karbonhidratlar (Spor Bilimleri Dergisi *Hacettepe J. of Sport Sciences*. 16 (3), 156-173),
35. BEALL, C.M. (2000). Oxygen saturation increases during childhood and decreases during adulthood among high altitude native Tibetans residing at 3800-4200 m. *High Alt Med Biol*. 1(1):25-32.
36. BEHN, C., ARANEDA, O.F., LIANOS, A.J., CELEDİON, G., GONZALEZ, G. (2007). Hypoxia-related lipid peroxidation: Evidences, implications and approaches. *Respir Physiol Neurobiol*. 158(2-3):143-50.
37. BEUTLER, E., DURON, O., KELLY, BM., (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*. 61:882-8.
38. BHUYAN, K.C., BHUYAN, D.K., CHIU, W., MALİK, S., FRİDOVİCH, I. (1991) Deferal-Mn (III) in the therapy of diquat-induced cataract in rabbit. *Arch Biochem Biophys*. 288(2):525-32.
39. BİL-YEM. (2006). Standart Rat Yemi Prospektüsü. Ankara.
40. BOUTELLIER, U., DERIAZ, O., Dİ PRAMPERO, PE., CERRETELLİ, P. (1990). Aerobic performance at altitude: effects of accimatization and hematocrit with reference to training. *Int J Sports Med*. 11 Suppl 1:S21-6.
41. BURTON, G.W., TRABER, M.G.(1990): Vitamin E: Antioxidant activity, biokinetics and bioavailability. *Annu Rev Nutr*. 10:357-82.
42. BUTTERFIELD, G.E., MAZZEO, R.S. (1996). Exercise responses at high altitude. *Medicine and science in exercise and sports*, Vol: 28 (5), abstract 1, 1996
43. BÜLBÜL A., (2003) Mastitisli inek sütlerinde nitrik oksit düzeyi ile somatik hücre sayısı arasındaki ilişki. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
44. CERRETELLİ, P. (1976): Limiting factors to oxygen transport on mount everest, *J Appl Physiol*. 40(5):658-67.
45. CHEESEMAN, K.H., SLATER, T.F. (1993); Jul) An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*. 49(3):481-93.
46. CHEESEMAN KH. (1993). Mechanism and effects of lipid peroxidation. *Mol Aspects Med*. 14(3):191-7
47. COCHRANE, C.G. (1991). Cellular injury by oxidants. *Am J Med*. 91(3C):23S-30S.

48. COMPORTİ, M. (1993) : Lipid peroxidation. Biopathological significance. *Mol Aspects Med.* 14(3):199-207.
49. CRAMER, D., WARD, S., GEDDES, D. (1996). Assessment of oxygen supplementation during air travel. *Thorax.* 51(2):202-3.
50. CROSS, C.E., HALLİWELL, B., BORİSH, E.T., PRYOR, W.A., AMES, B.N., SAUL, R.L., MCCORD, J.M., HARMAN, D. (1987). Oxygene radicals and human disease. *Ann Intern Med.* 107(4):526-45.
51. ÇANAKÇI, C.F., ÇİÇEK, Y., ÇANAKÇI, V. (2005). Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biochemistry (Mosc),* 70(6):619-28.
52. ÇAVDAR, C., SİFİL, A., ÇAMSARI, T. (1997). Reaktif oksijen partükülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Deegisi.* 1997; 3-4: 92-95
53. ÇAYLAK, E. (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi:* 2011; 9 (1) : 73-83.
54. ÇELİK, H. (2005). Malarya (Sıtma) Hastalarında oksidatif stres ve mononükleer lenfosit DNA hasarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Şanlıurfa.
55. ÇINAR, Ö. (2008). Çevre Kirliliği ve Kontrolü.
56. ÇİNGİ, C., BASER, D.F., KARAFAKİOĞLU, Y.S., FİDAN, A.F. (2012). Stress Response in Dairy Cows Related to Rectal Examination, *Acta Sci Vet,* 40 (3), 1-7.
57. ÇOKSEVİM, B., MAZICIOĞLU, M.M., ÇOMU, F.M. (2002). Akut irtifa değişiminin solunum fonksiyonlarına etkisi. *T Klin Tıp Bilimleri ,* 22:18-23
58. DAVİES, M.J. (1990). Detection of myoglobin-derived radicals on reaction of metmyoglobin with hydrogen peroxide and other peroxidic compounds. *Free Radic Res Commun.* 10(6):361-70.
59. DE SİLVA DM., AUST SD. (1993). Ferritin and ceruloplasmin in oxidative damage: review and recent findings. *Can J Physiol Pharmacol.* 71(9):715-20.
60. DELİBAŞ, N., ÖZCANKAYA, R. (1995). Serbest Radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 1995; 2(3):11-17.
61. DEMİRAYAK, D. (2007). Egzersiz yapan sıçanlarda oksidatif stres ve paraoksonaz enzimi. Pamukkale Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli.
62. DEMİRİZ, M., (2013). Farklı dinlenme aralıklarında yapılan anaerobik interval antrenmanın, aerobik kapasite, anaerobik eşik ve kan parametrelerine etkilerinin karşılaştırılması, Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
63. DEMİRSOY, A., (1985). Yaşamın Temel Kuralları, Genel Biyoloji/Genel Zooloji, Cilt-1 Kısım-2. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 106-380.

64. DĪKSHĪTH, T.S. (1990) : Toxicology of pesticides in animals. CRC Press. Boca Raton. Boston.
65. DĪPLOCK, A.T, CHARLEUX, J.-L, CROZĪER-WĪLLĪ, G., KOK, F. J, RĪCE-EVANS, C., ROBERFROĪD, M., STAHL, W., VĪNA-RĪBES, J. (1998). Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Br J Nutr.* 80 Suppl 1:S77-112.
66. DONALTON, W.E., (1994). Nutritional factors. In: Inturoduction to Biochemical Toxicology. Second Edition. Edited by: E.Hodgson and P. E.Levi. Appleton and Lange, Norwalk. Connecticut.
67. DOSEK, A., OHNO, H., ACS, Z., TAYLOR, A.W., RADAK, Z. (2007). High altitude and oxidative stres. *Respir Physiol Neurobiol.* 2007 Sep 30;158(2-3):128-31. Epub 2007 Mar 31.
68. DÖNMEZ, Y. (1984). Umumi Klimatoloji ve İklim Çalışmaları. İstanbul Üniv. Yay. No:2506. İstanbul.
69. DRAPER, H.H., HADLEY, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 186:421-31.
70. DRAPER, H. H. (1990): Nutritional modulation of oxygen radical pathology. In: . *Adv Nutr Res* Advances in Nutritional Research. Vol. 8.Edited by, Draper, H.H. Plenum Press. New York. 119-45.
71. DÜNDAR, Y., ASLAN, R. (2000) Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. T.C. A.K.Ü. Yayın no: 29. Uyum Ajans Ankara, 1. Basım. S: 4-6.
72. EREL, Ö., (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions, *Clin Biochem.* 37(2):112-9.
73. EREL, Ö., (2005) A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status, *Clin Biochem.* 38(12):1103-11. Epub 2005 Oct 7.
74. ERGEN, E. (1992). Spor Hekimliği Ders Notları. Türk Tabipleri Birliği Merkez Konseyi Spor Hekimliği Kolu Yayın No: 1, s: 46-48, Maya Matbaacılık Yayıncılık Limitet Sirketi, Ankara, 1992.
75. EROL, O. (1993). Genel Klimatoloji. Gazi Büro Kitabevi. Ankara
76. FAULKNER, J. (1967). Training for maximum performance at altitude, in the effect of altitude on athletic performance. Ed. Coddard, R., Chicago, Athletic Institute.
77. FAZĪO, E., MEDĪCA, P., ALBERGHĪNA, D., CAVALERĪ, S., FERLAZZO, A. (2005). Effect of longdistance road transport on thyroid and adrenal function and haematocrit values in limousin cattle: influence of body weight decresase. *Vet Res Commun.* 29(8):713-9.
78. FLORA, S.J. (2007). Role of free radicals and antioxidants in health and disease. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 53(1):1-2.
79. FLOYD, R.A. (1993). Basic Free Radical Chemistry, Free Radicals in Aging. Edited By B.P.Yu Boca Raton, F.L: Crc P. 39-55.

80. FREİ, B., STOCKER, R., AMANS, B. (1988). Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 85(24):9748-52.
81. GORDON, C.A., HİMMELFARB, J. (2004). Antioxidant therapy in uremia: Evidence-Based medicine? *Semin Dial*. 17(5):327-32.
82. GREEN, H.J., ROY, B., GRANT, S., HUGHSON, R., BURNETT, M., OTTO, C., PİPE, A., MCKENZİE, D., JOHNSON, M. (2000). Increases in submaximal cycling efficiency mediated by altitude acclimatization. *J Appl Physiol* (1985).89(3):1189-97.
83. GREEN, H.J. (2000). Altitude acclimatization, training and performance. *J Sci Med Sport*. 3(3):299-312.
84. GUTTERİDGE, J.M. (1994). Biological origin of free radicals, and mechanism of antioxidant protection. *Chem Biol Interact*. 91(2-3):133-40.
85. GUYTON, A.C., HALL, J.E. (1996). Textbook Of Medical Physiology, Çeviri: Çavuşoğlu H. Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 1996: 425-904.
86. GUYTON, A.C., HALL, J.E. (2001). Textbook Of Medical Physiology, Çeviri: Çavuşoğlu H. Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2001:432-492.
87. GÜLBAHAR, Ö. (2007). Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi. *Turkish Journal of Geriatrics*, 10 (1): 43-48.
88. HALLİWELL, B., GUTTERİDGE, J.M. (1989). *Free Radicals In Biology And Medicine*. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press, 1989, pp 188-196.
89. HALLİWELL, B., GUTTERİDGE, J. M. (1999). *Free radicals in biology and medicine*. 3rd ed. New York: Oxford
90. HALLİWELL, B. (1987; Feb) Free radicals and metal ions in health and disease. *Proc Nutr Soc.*, 46(1):13-26.)
91. HALLİWELL, B. (1991). Drug antioxidant effects. A basis for drug selection. *Drugs*. 42(4):569-605.
92. HARVEY, A., HARD, E., NATALİE, R. (1994). The short term physiologic effect of high altitude, Philadelphia, America, 1994.
93. HOCHACHKA, P.W. (1998). Mechanism and evaluation of hypoxia-tolerance in humans. *Journal of Experimental Biology*, 2001:1243-1254.
94. İLAVAZHAGAN, G., BANSAL, A., PRASAD, D., THOMAS, P., SHARMA, S.K., KAİN, A.K., KUMAR, D., SELVAMURTHY, W., (2001). Effect of vitamin E supplementation on hypoxia-induced oxidative damage in male albino rats. *Aviat. Space Environ. Med*. 72, 899-903.
95. İMLAY, J.A. (2003). Pathways of oxidative damage. *Annu. Rev. Microbiol*. 2003; 57; 395-418,
96. İNAN, Ü.Ü., SERTESER, M., ERMIŞ, S.S., DEMİR, S., ÖZTÜRK, F., (2005) Diabetes mellituslu hastalarda serum leptin, VEGF, NO ve ET- 1 düzeyleri ile retinopati derecesi ve tedavisi şekli arasındaki ilişki. AKU BAP 01.TIP.05 No'lu Araştırma Projesi kesin Raporu. Afyonkarahisar.

97. İNGJER, F, MYHRE, K. (1992).: Physiological effects altitude training on elite male cross-country skiers, *J Sports Sci.* 10(1):37-47.
98. İRİ, R., ŞEREN, İ.A. (2007). Dağcılarda yüksek irtifanın bazı fizyolojik parametrelere ve bağışıklık sistemine akut etkisinin incelenmesi. *Atatürk Journal Of Physical Education And Sport Sciences* (atabesbd)
99. JESBERGER, J.A., RİCHARDSON, J.S. (1991). Oxygen free radicals and brain dysfunction. *Int J Neurosci.* 57(1-2):1-17.
100. JİALAL, I., FULLER, C.J. (1993). Oxidized LDL and antioxidants. *Clin Cardiol.* 1993 Apr;16(4 Suppl 1):I6-9.
101. KALENDER, S., KALENDER, Y., ÖGÜTÇÜ, A., UZUNHİSARCIKLİ, M., DURAK, D., AÇIKGÖZ, F., (2004). Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology.* 202(3):227-35.
102. KANEKO, J.J. (1980): Clinical bicehemistry of domestic animals. Third Edition. Academic Press. Inc. Ltd. London
103. KARACA, R. (2011). Yüksek irtifada antrenman yapan sporcularda antioksidan enzim düzeyleri ve genotip ilişkisi, Yüksek Lisans Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
104. KAVAS (ÖZELÇİ), G. (1989). Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri (Temel Tıp Bilimleri-Fizyoloji).
105. KAY, N.H., ALLEN, M.C., BULLİNGHAM, R.E., BALDWIN, D., MCQUAY, R.J., MOORE, H.A., PRİCE, R.K., SEAR, J.W. (1985). Influence of meptazinol on metabolic and hormonal responses following major surgery. *Anaesthesia.* 40(3):223-8. *Anesthesia 1985; 40: 223-228.*
106. KAYA, S., PİRİNÇÇİ, İ., BİLGİLİ, A., (1998) : Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi: 35, Ankara.
107. KEHRER, I.P., LUND, L.G. (1994). Cellular reducing equivalents and oxidative stres. *Free Radic Biol Med.* 17(1):65-75.
108. KENDALL, H.K, MARSHALL, R.I., BARTOLD, P.M. (2001).Nitric oxide and tissue destruction. *Oral Dis.* 7(1):2-10.
109. KILINÇ, K., KILINÇ, A. (2002) Oksijen toksitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 33(2):110-118
110. KOCATÜRK, A.P., (2000). Strese Cevap. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.53-1: sy.49-56
111. KRİEGER, B.P., DE LA HOZ, R.E. (1999). Altitude-related pulmonary disorders. *Crit Care Clin.* 15(2):265-80, viii.
112. KUMAR, D., BANSAL, A., THOMAS, P., SAİRAM, M., SHARMA, S.K., MONGİA, S.S., SİNGH, R., SELVAMURTHY, W., (1999). Biochemical and immunological changes on oral glutamate feeding in male albino rats. *Int J Biometeorol.* 42(4):201-4.

113. KVETNANSKÝ, R., PACAK, K., SABBAN, E.L., KOPĪN, I.J., GOLDSTEIN, D.S. (1998). Stressor specificity of peripheral catecholaminergic activation. *Advances in Pharmacology*, 42:556-560.
114. LAI C-H, LIOU S-H, LIN H-C, SHIH T-S, TSAI P-J, CHEN J-S, YANG T, JAAGKOLA JJK, STRICKLAND PT. (2005). Exposure to traffic exhaust and oxidative DNA damage. *Occup Environ Med*. 62(4):216-22.
115. MAGALHAES, J., ASCENSAO, A., SOARES, J.M., NEUPARTH, M.J., FERREIRA, R., OLIVEIRA, J., AMADO, F., DUARTE, J.A. (2004). Acute and severe hypobaric hypoxia-induced muscle oxidative stress in mice: the role of glutathione against oxidative damage. *Eur J Appl Physiol*. 91(2-3):185-91. Epub 2003 Oct 14.
116. MAGALHAES, J., ASCENSAO, A., VISCOR, G., SOARES, J., OLIVEIRA, J., MARQUES, F., DUARTE, J. (2004). Oxidative stress in humans during and after 4 hours of hypoxia at a simulated altitude of 5500 m. *Aviat Space Environ Med*. 75(1):16-22.
117. MAITĪ, P., SINGH, S.B., ILAVAZHAGAN, G. (2010). Nitric oxide system is involved in hypobaric hypoxia-induced oxidative stress in rat brain. *Acta Histochem*. 112(3):222-32. doi: 10.1016/j.acthis.2008.10.005. Epub 2009 May 9.
118. MAITĪ, P., SINGH, S.B., SHARMA, A.K., MUTHURAJU, S., BANERJEE, P.K., ILAVAZHAGAN, G. (2006). Hypobaric hypoxia induces oxidative stress in rat brain. *Neurochem Int*. 2006 Dec;49(8):709-16. Epub 2006 Sep 5.
119. MATES, J.M., (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*. 153(1-3):83-104.
120. MAZICIOĞLU, M.M., GÜLMEZ, İ., ER, Ö. (2001). 2250 metrede solunum parametreleri. *Solunum Hastalıkları*, 12:85-89.
121. MCARDLE, W.D., KATCH, F.I., KATCH, V.L. (2007). *Exercise physiology: Energy, nutrition, and human performance* (6th ed.). United States of America: Lippincott Williams & Wilkins.
122. MCCORD, J.M. (1993). Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem*. 26(5):351-7.
123. M.E.B. (2008). T.C. Milli Eğitim Bakanlığı Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi. Kimya Teknolojisi Hava.
124. MERCAN, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg*. 2004, 15 (1-2):91-96
125. MİLLEDGE, J.S. (2006). Altitude medicine and physiology including heat and cold: A review. *Travel Med Infect Dis*. 4(3-4):223-37. Epub 2005 Sep 13.
126. MİRANDA, K.M., ESPEY, M.G., WINK, A.D., (2001) A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*. 5(1):62-71.
127. MONGE, C., LEON-VELARDE, F., (1991). Physiological adaptation to high altitude: oxygen transport in mammals and birds. *Physiol Rev*. 1991 Oct;71(4):1135-72.

128. NAKANİSHİ, K., TAJİMA, F., NAKAMURA, A., YAGURA, S., OOKAWARA, T., YAMASHİTA, H., SUZUKİ, K., TANİGUCHİ, N., OHNO, H. (1995). Effects of hypobaric hypoxia on antioxidant enzymes in rats. *J Physiol.* 1995 Dec 15;489 (Pt 3):869-76.
129. NİKİ, E. (1987) : Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chem Phys Lipids.* 44(2-4):227-53.
130. NOYAN, A. (1993). Yaşam ve Hekimlikte Fizyoloji. Sekizinci baskı. Meteksan yayınevi, Ankara, 1993: 522-677.
131. NOYAN, A. (1989). Fizyoloji Ders Kitabı. Meteksan A.Ş., Ankara.
132. ORUÇ, E., GÜNCEGÖRÜ, B., MUSLU, G., PURAL, A., AYDIN, A., UYSUN, E., GÖRER, HM., TÜREDİ, M., ÇAKIR, Z. (2009). Ortaöğretim Coğrafya 9. İstanbul, Tavashi Matbacılık, 2009: 64-65.
133. ÖZCAN, E., ÖZDEMİR, A., ÇANAKÇI, C.F, (2011). Periodontal doku yıkımında reaktif oksijen türlerinin rolü. (Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg. Cilt:21, Sayı: 3, Yıl: 2011, Sayfa: 255-261),
134. ÖZCAN, O. (1992). Yükseklikte yapılan antrenmanın bazı kan parametreleri üzerine etkileri, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Yüksek İrtifa ve Spor Bilimleri, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 1992.
135. ÖZDAMAR, K., (2003) SPSS ile Biyoistatistik.5.Baskı. Kaan Kitap Evi. Eskişehir.
136. ÖZDEN, A. (2008). Ratlarda deneysel olarak oluşturulan iyonik kontrast madde kaynaklı böbrek hasarında oksidatif stresin fonksiyonu ve olası oksidatif stres üzerine kafeik asit fenetilesterin etkisinin araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Radyodiagnostik Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Isparta 2008
137. PEACOCK, A.J. (1998). ABC of oxygen: Oxygen at high altitude. *BMJ.* 317(7165):1063-6.
138. PENZES, L., FİSCHER, H.D., NOBLE, R.C. (1993). Some aspects on the relationship between lipids, neurotransmitters, and aging. *Z Gerontol.* 26(2):65-9.
139. PLACER, C.A., CUSHMAN, L.L., JOHNSON, B.C., (1990). Estimation of product of lipid peroxidation (Malondy Dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem.* 16(2):359-64.
140. PORTER, N.A., (1984). Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 105:273-82.
141. RADÁK, Z., LEE, K., CHOİ, W., SUNOO, S., KİZAKİ, T., OH-İSHİ, S., SUZUKİ, K., TANİGUCHİ, N., OHNO, H., ASANO, K. (1994). Oxidative stress induced by intermittent exposure at a simulated altitude of 4000 m decreases mitochondrial superoxide dismutase content in soleus muscle of rats. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 69(5):392-5.
142. RANJBAR, A., SHADNİA, S., NİK FAR, S., REZAIË, A. (2004). Pesticides and oxidative stress : a review. *Med Sci Monit.* 10(6):RA141-7. Epub 2004 Jun 1.

143. RÍCHALET, J.P., LETOURNEL, M., SOUBERBÍELLE, J.C. (2010). Effects of high-altitude hypoxia on the hormonal response to hypothalamic factors. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 299(6):R1685-92. doi: 10.1152/ajpregu.00484.2010. Epub 2010 Oct 6.
144. RÍETJENS, G.J., KUÍPERS, H., HARTGENS, F., KEÍZER, H.A. (2002). Red blood cell profile of elite olympic distance triathletes. A three-year follow-up. *Int J Sports Med.* 23(6):391-6.
145. RÍJNBERK, A.D., MOL, J.A. (1987). Adrenocortical function. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* / edit: J.Jerry Kaneko, John W. Harvey, Michael L. Bruss. 5th edition. Academic Pres. Inc., Chapter 20, 1997: 553-568.
146. RODWAY, G.W., HOFFMAN, L.A., SANDERS, M.H. (2003). High-altitude-related disorders Part I: Pathophysiology, differential diagnosis, and Treatment. *Heart Lung.* 32(6):353-9.
147. SANHOURÍ, A.A., JONES, R.S., DOBSON, H. (1991). Pentobarbitone inhibits the stress response to transport in male goats. *Br Vet J.* 147(1):42-8.
148. SAMAJA, M., CRESPI, T., GUAZZÍ, M., VANDEGRÍFF, K.D., (2003). Oxygen transport in blood at high altitude: role of the hemoglobin-oxygen affinity and impact of the phenomena related to hemoglobin allosterism and red cell function. *Eur J Appl Physiol.* 90(3-4):351-9. Epub 2003 Sep 18.
149. SARADA, S.K., SAÍRAM, M., DÍPTÍ, P., ANJU, B., PAULÍNE, T., KAÍN, A.K., SHARMA, S.K., BAGAWAT, S., ILAVAZHAGAN, G., KUMAR, D. (2002). Role of selenium in reducing hypoxia-induced oxidative stress: an in vivo study. *Biomed Pharmacother.* 56(4):173-8.
150. SAYAN, S., ÇETİN, E., YARIM, Í., GÖNÜL, B. (2000). Yüksek İrtifada Antrenman Yapan Kayakçılarda C Vitaminin Eritrosit Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi ve Lipid Peroksidasyonu Düzeylerine Etkisi, *T Klin Tıp Bilimleri*, 20:5-10
151. SCHERRER, U., ALLEMANN, Y., JAYET, P-Y., REXHAJ, E., SARTORÍ, C. (2010). High Altitude, A Natural Research Laboratory for the Study of Cardiovascular Physiology and Pathophysiology. *Prog Cardiovasc Dis.* 2010 May-Jun;52(6):451-5. doi: 10.1016/j.pcad.2010.02.002.
152. SCHMÍDT, M.C., ASKEW, E.W., ROBERTS, D.E., PRÍOR, R.L. (2002). Oxidative stress in humans training in a cold, moderate altitude environment and their response to a phytochemical antioxidant supplement. *Wilderness Environ Med.* 13(2):94-105.
153. SCHOENE, R.B., HACKETT, P.H., HORBEÍN, T.F. (2000). High altitude. In: Murray JF, Nadel JA, eds. *Textbook of Respiratory Medicine*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2000:1915-1950.
154. SÍEMS, W.G., VAN KUÍJK F.J., MAAS, R., BRENKE, R. (1994). Uric acid and glutathion levels during short term whole body cold exposure. *Free Radic Biol Med.* 16(3):299-305.
155. SÍLBERNAGL, S., DESPOPULOS, A. (1985). *Fizyoloji Atlası*. Kırklareli, Sermet Matbaası, (1985): 90-97.
156. SOUTHORN, P.A., POWÍS, G. (1998) Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc.* 63(4):381-9.

157. SÖZBİLİR BAYŞU, N., BAYŞU, N. (2008). Biyokimya. Öncü Basımevi, Ankara.
158. STEVENSON, M.A., POLLOCK, S.S., COLEMAN, C.N., CALDERWOOD, S.K. (1994). X-irradiation, phorbol esters, and H₂O₂ stimulate mitogen-activated protein kinase activity in NIH-3T3 cells through the formation of reactive oxygen intermediates. *Cancer Res.*54(1):12-5.
159. ŞEREN, İ.A. (2007). Yüksek irtifanın dağcılarda bazı fizyolojik parametrelere ve bağışıklık sistemine akut etkisi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Niğde Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı.
160. ŞİMŞEK, Ş., BÜYÜKAVCI, M., KAYA, M.D., AKDAĞ, R., KARAKELLEOĞLU, C. (2005). Orta derecede bir yüksek rakımda (Erzurum 2000 metre) yaşayan ve pediatri polikliniğine başvuran 6 ay-6yaş çocuklarda anemi prevalansı ve etyolojik faktörler. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*. Cilt:36 Yıl:2005 Sayı:1.
161. ŞİNOFOROĞLU, T. (2002). Yüksek irtifanın beden eğitimi ve spor yüksekokulu bayan öğrencilerinin bazı fiziksel ve fizyolojik parametreleri üzerine etkileri. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. VII. Spor Bilimleri Kongresi 27- 29 Ekim 2002 Antalya.
162. TABAK, L. (2000). Dağ hastalığı. In: Ekim N ve Türkteş H, eds. Göğüs Hastalıkları Acilleri. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2000:167-174.
163. TEKKES, Y. (2006). Streptozotisin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve e vitamininin dokularda lipit peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması, yüksek lisans tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
164. ÜNAL, D. (1999). Serbest Radikaller. Sendrom, 68-80.
165. ÜSTÜN, F. (2005). Birinci ulusal veteriner farmakoloji ve toksikoloji kongresi (Kongre Kitabı).
166. VALKO, M., LEİBFRİTZ, D., MANCOL, J., CRONİN, M.T.D., MAZUR, M., TELSER, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 39(1):44-84. Epub 2006 Aug 4.
167. VALKO, M., RHODES, C.J., MANCOL, J., IZAKOVİC, M., MAZUR, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stres-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 160(1):1-40. Epub 2006 Jan 23.
168. VATS, P., MUKHERJEE, A.K., KUMRİA, M.M., SINGH, S.N., PATİL, S.K., RANGNATHAN, S., SRİDHARAN, K. (1999). Changes in the activity levels of glutamine synthetase, glutaminase and glycogen synthetase in rats subjected to hypoxic stress. *Int J Biometeorol*. 1999 Apr;42(4):205-9.
169. VİLLEE, C.A. (1972). Biology. W.B. Saunders Company. 1972: 22-359.
170. VURAL, N., (1984).: Toksikoloji. A.Ü. Ecz. Fak. Yay. No: 56, Ankara, s.179, 384, 464.
171. WEBER, R.E. (2007). High-altitude adaptations in vertebrate hemoglobins. *Respir Physiol Neurobiol*.158(2-3):132-42. Epub 2007 May 10.

172. WEBER, R.E., (1995). Hemoglobin adaptations to hypoxia and altitude. The phylogenetic perspective. In: Sutton, J.R., Houston, C.S., Coates, G. (Eds.), Proceedings of the 9th International Hypoxia Symposium on Hypoxia and the Brain, Lake Louise, Canada. Queen City Printers, Burlington, Vermont, USA, pp. 31-44.
173. WHEELER, C.R., SALZMAN, J.A., ELSAYED, N.M., OMAJE, S.T., KORTE DW, J.R. (1990). Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity. *Anal Biochem.* 184(2):193-9.
174. WILLS, E.D. (1987). Evaluation of lipid peroxidation in lipids and biological membranes. In: Biochemical Toxicology. Edited by, Snell, K. and Mullock, B. IRL Press Limited, Oxford England. 127-152.
175. WRIGHT, A., BUBB, W.A., HAWKINS, C.L., DAVIES, M.J. (2002). Singlet oxygen-mediated protein oxidation: Evidence for the formation of reactive side chain peroxides on tyrosine residues. *Photochem Photobiol.* 2002 Jul;76(1):35-46.
176. YARSAN, E. (1998). Lipid peroksidasyon olayı ve önlenmesine yönelik uygulamalar, Y.Y.U Vet. Fak. Derg., 1998, 9 (1-2): 89-95.
177. YU, B.P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiol Rev.* 74(1):139-62.
178. ZORBA, E., DOĞRU, G., ZİYAGİL, M.A. (1995). Yükseltiden önce ve sonra bazı fizyolojik parametrelerdeki değişiklikler, Spor ve Tıp, Yıl: 3, Sayı: 2, s: 8-12, Ankara, 1995.