

Tükeninceye Kadar Yüzme Egzersizi Yaptırılan Ratlarda Lipid Peroksidasyonu ve Kan Glutatyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Fahri BAYIROĞLU¹, Semiha DEDE², Burhanettin BAYDAŞ¹, Ferda BELGE¹, Yeter DEĞER²

Özet

Bu çalışmada, tükeninceye kadar yüzme egzersizi yaptırılan ratlarda, hücrelerde mevcut en önemli doğal antioksidan olan kan redükte glutatyon (GSH) ve egzersize bağlı olarak meydana gelen lipid peroksidasyonunun bir ürünü olarak görülen MDA (malondialdehit) in kandaki konsantrasyonları belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda tüm kan GSH konsantrasyonları egzersiz yaptırılan grup ve kontrol grubunda sırasıyla 36.30 ± 1.5 ve 33.62 ± 2.8 mg/ dl olarak tespit edilmiştir. Plazma MDA konsantrasyonları ise egzersiz yaptırılan grup ve kontrol grubunda sırasıyla 1.99 ± 0.029 ve 1.90 ± 0.085 nmol /ml olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, deneme ve kontrol grupları arasında GSH ve MDA konsantrasyonları bakımından anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.

Anahtar kelimeler: Egzersiz, Glutatyon, Lipid peroksidasyonu.

Summary

The Determination of The Concentration of Lipid Peroxidation and Blood Glutathione in Rats Exposed Exhaustive Swimming Exercise

This study was performed to determine the blood reduced glutathione levels (GSH) and plasma malondialdehyde (MDA), sign of lipid peroxidation, levels of the rats which underwent exhaustive swimming exercise. Blood samples were taken soon after the exercise. In this study, exhaustive swimming exercise was found not to cause any significant changes of the glutathione and MDA levels. From these results it is concluded that the factors such as the type and the duration of exercise, individually variables of the strongness against the exercise and etc. may prevent these changes to be present.

Key Words: Exercise, Glutathione, Lipid peroxidation

Giriş

Serbest radikaller, organizmanın oksijen ihtiyacının artmasına paralel olarak mitokondriyal elektron transport zincirindeki ortaklanmamış elektron çiftlerinin sızıntısının artışına bağlı olarak meydana gelen reaktif oksijen türleridir. Serbest radikaller oksidatif, ksenobiyotik, enzimatik ve nonenzimatik reaksiyonlar sonucu oluşur ve antioksidant enzimler tarafından substrat olarak kullanılırlar. Serbest radikaller, normal olarak metabolizma sonucu üretilir. Ancak bunların aşırı derecede üretilmesine neden olacak olaylar sonucunda substratı olduğu antioksidanlar tarafından gerektiği şekilde etkisizleştirilemez ve hücrede bulunan lipid ve proteinlerin üzerinde yıkıcı etki gösterebilir.(1,2).

Glutatyon metabolizmada meydana gelen serbest oksijen türlerinin yıkıcı etkilerine karşı hücreleri koruyan en önemli antioksidan maddelerden birisidir. Bütün aerobik doku ve hücrelerde bulunmakla beraber en çok karaciğerde bulunur. Karaciğerin rolü sentezden çok katabolizma ile ilgilidir. Glutatyon hücrelerde okside (GSSG) ve redükte (GSH) formda bulunur ve antioksidan etkisini bu iki form arasındaki döngüsü sırasında gerçekleştirir. Glutatyonun esas reaktif grubu olan SH grubu, serbest radikallerin ortaklanmamış elektronu ile bağlanarak radikal oluşumunu azaltır. Lipid peroksidasyonunun oluşması ile GSH konsantrasyonu azalırken, GSSG konsantrasyonu yükselmektedir. Çevre, metabolizma ve bireye bağlı pek çok faktörlerin etkisiyle organizmada oksidatif stres artabilir ve buna bağlı olarak ara metabolizmada serbest radikal oluşumu da artar ve hücreleri bunların yıkıcı etkilerine karşı korumakla görevli glutatyon konsantrasyonları da etkilenir(3). Oksidatif stres oluşturarak serbest radikal üretimine neden olan önemli faktörlerden birisi de fiziksel faaliyetlerdir (4). Çeşitli fiziksel faaliyetlere tabi tutulan bireylerde lipid peroksidasyon ve glutatyon seviyelerinin etkilendiğini gösteren pek çok çalışmalar yapılmıştır (5-8).

Bu çalışma, tükeninceye kadar yüzme egzersizi yaptırılan ratlarda, egzersize bağlı olarak oluşabilen serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunun bir ürünü olarak meydana gelen

¹ Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji ABD, VAN.

² Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD, VAN.

malondialdehit ve bir antioksidan olan glutasyon seviyelerinin, egzersizden hemen sonraki miktarlarının saptanması ve bu tükenme egzersizi sonucunda organizmada ne gibi durumların meydana gelebileceğinin ortaya konulması amacıyla planlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada Wistar- Albino ırkı, altı tanesi kontrol , altı tanesi de deneme olmak üzere toplam on iki adet, 250±25 gr ağırlığında erkek rat kullanıldı . Deneme grubundaki ratlar, vücut ısılarına yakın bir sıcaklıkta olan su dolu derin bir kaptaki yüzdürüldü. Yüzdürme işlemine ratlar tükeninceye kadar devam edildi. Sudan alınan ratlar eter anesteziye alındı. Daha sonra, kalpten antikoagülanlı tüplere kan alındı. Kontrol grubundan ise yüzdürme işlemine tabi tutulmadan, aynı şekilde kan alındı. Toplanan numunelerde tüm kan glutasyon analizleri Beutler ve ark. (9) 'nın ve kan MDA analizleri de Akkuş (2)' un bildirdikleri yöntemlere göre yapıldı. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak Minitab paket programı kullanılarak "t" testi ile değerlendirildi.

Bulgular

Araştırma sonucunda elde edilen sonuçlar Tablo 1 de gösterilmiştir.

Tablo 1. Tüm kan GSH (mg/ dl) ve Plazma MDA (nmol/ ml) konsantrasyonları (n=6)

	Egzersiz grubu X±Sx	Kontrol grubu X±Sx	P
Tüm kan GSH (mg/dl)	36.30±1.5	33.62±2.8	p>0.05
Plazma MDA(nmol/ ml)	1.99±0.029	1.90±0.085	p>0.05

Tablolardan da görüldüğü üzere, tüm kandaki redükte glutasyon konsantrasyonları tükeninceye kadar yüzme egzersizi yaptırılan bireylerde egzersizden hemen sonra kısmen artmasına rağmen , kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli bir fark gözlenmemiştir. Aynı bireylerde plazma malondialdehit konsantrasyonları da kontrol grubuna göre yükselmesine rağmen gruplar arasında önemli bir fark tespit edilememiştir.

Tartışma ve Sonuç

GSH hücrelerdeki en önemli antioksidan maddelerden biridir ve memeli hücrelerinde milimolar seviyelerde bulunur. Oksidatif stresin artmasına bağlı olarak serbest radikal oluşumu ve lipit peroksidasyonunda artış meydana gelir (10). Hücrelerde oksidatif stres yükselirken , genellikle GSH seviyeleri düşer, bununla birlikte GSSG seviyeleri yükselir (3). Serbest radikaller yorucu egzersizlerden sonra, iskelet kası yıkımı ve yangısında bir aracı olarak önemli rol alır. Oksijen serbest radikallerinin üretilmesi, lipit peroksidasyonunu indükleyen mitokondriyal oksijen tüketiminin ve elektron transport zincirindeki artmanın bir sonucu olarak egzersiz süresince yükselir (7). Hong ve Johnson (11), egzersizden kısa bir süre sonra egzersizin neden olduğu kastaki antioksidan durumunda değişiklikler meydana geldiğini göstermiştir. Antioksidanlar, kasları lipit peroksidasyonunun zararlı etkilerinden koruyarak , sağlıklı hayat süresini pozitif olarak etkileyen fiziksel faaliyetlerde aracı rolü oynar (12). Endojen antioksidan enzimler de lipit peroksidasyon olaylarında koruyucu rol oynayabilir. İnsan ve rodentlerde yapılan çalışmalarda, tüketen egzersizlerden sonra malondialdehitin önemli oranda yükseldiği ve plazma antioksidan seviyeleri ve antioksidan enzim aktivitelerinde önemli değişiklikler olduğu ,antioksidan enzim aktivitelerinin çok yükseldiği bildirilmiştir.. Bu şekilde egzersizle yükselen oksidatif stres, lipit peroksidasyonunu önleyen antioksidan enzim aktivitesinin yükselmesiyle uygunluk gösterir (7). Leeuwenburgh ve Ji (13), tükeninceye kadar yapılan egzersizin karaciğer ve kas glutasyon durumunu etkilediğini, bu değişikliklerin hepatik glutasyon sentezi ile kontrol edilebildiğini bildirmektedir.

Bu çalışmada, tükenme egzersizi yaptırıldıktan hemen sonra, tüm kandaki GSH ve plazma MDA konsantrasyonlarının, egzersiz yaptırılmayan kontrol grubuna oranla az da olsa yüksek olduğu görüldü. Ancak bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Nitekim bu sonuçlar literatür verileri ile uygunluk göstermektedir (14,15).

Gohil ve ark. (14), egzersiz yaptırılan insanlarda, egzersiz sırasında kan redükte glutatyon ve toplam glutatyon (GSH+GSSG) konsantrasyonlarında önemli bir değişiklik gözlenmediğini bildirmektedir. Aynı şekilde Ortenblad ve ark.(15), kan ve plazma MDA ve dolayısıyla lipit peroksidasyonu konsantrasyonları egzersiz öncesi ile karşılaştırıldığı zaman, egzersiz sonrasında önemli bir değişiklik olmadığını ileri sürmektedir. Ancak egzersiz yaptırılan bireylerde glutatyon ve lipit peroksidasyon seviyelerinde önemli değişikliklerin olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur. Lew ve ark.(16), plazma GSSG ve total GSH' un kontrol grubundaki ratlarda düşük, egzersiz grubunda yüksek olduğunu, buna karşılık karaciğer GSH düşük, GSSG'un da yüksek olduğunu bildirmektedir. Plazmada GSH yükselmesinin karaciğer doku harabiyeti ve alyuvar hasarı veya karaciğerde GSH akımının egzersizle uyarıldığı ve karaciğerde düşerken, plazmada buna bağlı olarak arttığını ileri sürmektedir. Buna karşın, Duthie ve ark. (17) yarı-maraton koşusundan hemen sonra total eritrosit glutatyon seviyesinde bir azalma ($P < 0.001$) olduğunu bildirmekte ve bunun redükte formun (GSH) konsantrasyonunun düşmesinden kaynaklandığını düşünmektedir.

Anuradha ve Balakrishnan (6), 6 hafta boyunca koşma egzersizi yaptırılan ratlarda kas ve karaciğerde lipit peroksidasyonunun arttığını ($P < 0.001$) ve tiol seviyelerinin (total ve non-protein) azaldığını, kandaki glutatyon seviyesinin yükseldiğini öne sürmektedir. Kan lipit peroksidasyonu durumu, kontroller ile karşılaştırıldığında, antrenmanın bir sonucu olarak değişmediği bildirilmiştir. Dufaux ve ark.(18) koşma egzersizi öncesi ve sonrasında aldıkları kan örneklerinde GSH, GSSG ve Tiyo Barbitürik Asit Reaktif Ürünleri konsantrasyonlarını belirlemiştir. Buna göre egzersizden hemen sonra GSH önemli ölçüde düşerken ($p < 0.01$) GSSG'nin önemli ölçüde yükseldiği ($p < 0.01$) ve ortalama bir saat sonra GSH ve GSSG değerlerinin normale döndüğü ileri sürülmektedir. MDA konsantrasyonlarında ise egzersiz öncesi ve sonrası dönemlerde önemli bir fark gözlenmediğini rapor etmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen verilerin ışığında , egzersiz yaptırılan grupta MDA konsantrasyonlarının az da olsa yüksek bulunmasına karşın, tüketen yüzme egzersizinin önemli derecede lipit peroksidasyonuna neden olduğunu söylemek oldukça zordur. Egzersiz yaptırıldıktan hemen sonra alınan kan numunelerinde GSH konsantrasyonları kontrol grubuna göre önemli bir fark göstermedi. Sonuç olarak, egzersizin türü ve süresi, kullanılan deneklerin egzersize dayanıklılığı gibi etkenler, gruplar arasında lipit peroksidasyonu ve glutatyon konsantrasyonları bakımından anlamlı ilişkilerin ortaya çıkmasına engel olabileceği gibi, her zaman da böyle bir ilişki ortaya çıkamayabileceği kanaatindeyiz.

Kaynaklar

- 1-Dormandy T.L.(1984): An approach to free radicals. The Lancet 29, 1010-1014.
- 2-Akkuş İ.(1995): Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya
- 3-Meister, A. , Anderson, M.E. (1983): Glutathione. Ann.Rev.Biochem., 52, 711-760.
- 4-Jenkins R.R., Goldfarb A.(1993): Introduction : oxidant stress, aging and exercise. Med.Sports. Exerc. 25:2,210-212.
- 5-Sharpe P.C., Duly E.B., MacAuley D., McCrum E.E., Mulholland C., Stott G., Boreham C.A., Kennedy G., Evans A.E., Trinick T.R. (1996): Total radical trapping antioxidant potential (TRAP) and exercise. QJM Mar ;89(3):223-228.
- 6-Anuradha C.V., Balakrishnan Sd. (1998): Effect of training on lipid peroxidation, thiol status and antioxidant enzymes in tissues of rats. Indian J Physiol Pharmacol 42(1):64-70.
- 7-J.C., van Doornen L.J., Kemper H.C.(1996): The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. Sports Med Mar;21(3):213-238.
- 8-Ata N., Çolak Ö., Ünalır A., Alataş Ö., Çavuşoğlu Y., Timuralp B.(1994): Treadmill egzersiz testinde kan glutatyon değerleri. MN Kardiyoloji 1:3, 106-109.
- 9-Beutler E., Duron O., Kelly B.M.(1963): Improved Method For The Determination of Blood Glutathione. J.Lab.Clin.Med., 61(5), 882-888.
- 10-Novak Z., Varga Sz. I., Pataki L., Matkovic B.(1990): Simple method for the measurement of antioxidants. Clin. Chim. Acta, 194, 115-120.
- 11⁴Hong H, Johnson P (1995): Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in exercised and hypertensive rat tissues. Int J Biochem Cell Biol Sep;27(9):923-931.
- 12-Alessio HM, Blasi ER (1997): Physical activity as a natural antioxidant booster and its effect on a healthy life span. Res Q Exerc Sport Dec;68(4):292-302.
- 13-Leeuwenburgh C, Ji LL (1996): Alteration of glutathione and antioxidant status with exercise in unfed and refed rats. J Nutr 126(7):1833-1843.
- 14-Gohil K., Viguie C., Stanley W.C., Brooks G.A., Packer L. (1988): Blood glutathione oxidation during human exercise. J. Appl.Physiol. 64:1, 115-119.
- 15-Ortenblad N, Madsen K, Djurhuus (1997): Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. Am J Physiol 272(4 Pt 2):R1258-R1263.

- 16-Lew H., Pyke S., Quintanilha A.(1985): Changes in the glutathione status of plasma, liver and muscle following exhaustive exercise in rats.FEBS Let. 185:2, 262-265.
- 17-Duthie GG, Robertson JD, Maughan RJ, Morrice PC (1990): Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. Arch. Biochem. Biophys. 82:1, 78-83.
- 18-Dufaux B, Heine O, Kothe A, Prinz U, Rost R (1997): Blood glutathione status following Int J Sports Med Feb;18(2):89-93.