

Yüksek irtifa antrenmanının pentatlon sporcularında oksidatif stres ve antioksidan savunma belirteçleri üzerine etkisi*

Muaz Belviranlı¹, Nilsel Okudan¹, Banu Kabak², Murat Erdoğan³, Muharrem Karanfilci², Ahmet Mustafa Ada³

¹Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Spor Fizyolojisi Bilim Dalı, Konya

²Gençlik ve Spor Bakanlığı, Spor Genel Müdürlüğü, Sağlık İşleri Dairesi Başkanlığı, Ankara

³Türk Silahlı Kuvvetleri Spor Okulu, Ankara

Özet

Amaç: Çalışmanın amacı elit pentatlon sporcularında yükselti antrenmanının oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi belirteçleri üzerine etkilerini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 24-40 yaşları arasında, düzenli antrenman yapan on iki elit erkek pentatlon sporcusu katıldı. Sporcuların deniz seviyesindeki son antrenmanlarından 24 saat sonra istirahat kanları alındı. Daha sonra sporculara 2500 metre yükseklikte 4 hafta süreyle yükselti antrenmanı yaptırıldı ve antrenman sonrasında son antrenmandan 24 saat sonra sporculardan tekrar açlık kan örnekleri alındı. Kan örneklerinde malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) seviyeleri ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi analiz edildi.

Bulgular: Sporcularda yüksek irtifa antrenmanından sonra antrenman öncesine göre MDA ve GSH seviyeleri artmıştı ($P < 0,05$), fakat SOD aktivitesinde herhangi bir değişiklik yoktu ($P > 0,05$).

Sonuç: Bu çalışmadan elde ettiğimiz bulgulara göre yükselti antrenmanı elit pentatlon sporcularda oksidatif stresi artırıp enzimatik olmayan antioksidan sistemini güçlendirirken enzimatik antioksidan sistemini etkilemez.

Anahtar Kelimeler: Yükselti antrenmanı, oksidatif stres, antioksidan savunma, pentatlon

Abstract

Objective: The aim of this study was to investigate the effects of altitude training on oxidative stress and antioxidant system defense markers in elite pentathletes.

Materials and Methods: Twelve elite male regularly trained pentathletes aged 24-40 years were participated in the study. Fasting blood samples were taken from the athletes 24 hours after the last training session at sea level. After that, athletes were performed altitude training at 2500 meters for 4 weeks and 24 hours after the last training session fasting blood samples were taken again. In the blood samples malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) levels and superoxide dismutase (SOD) activity were analyzed.

Results: In the athletes, after the altitude training MDA and GSH were levels increased ($P < 0.05$), but SOD activity were not changed ($P > 0.05$) compared to the pre-training.

Conclusion: According to the results obtained from this study, altitude training increased oxidative stress and improved non-enzymatic antioxidant system but does not affects enzymatic antioxidant system in the elite pentathletes.

Key words: Altitude training, oxidative stress, antioxidant defense, pentathlon

Genel Tıp Derg 2017;27(3):95-99

Alınan: 21.02.2017 / 22.03.2017 / 05.10.2017

Yazışma adresi: Muaz Belviranlı, Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Spor Fizyolojisi Bilim Dalı, Konya

E-posta: mbelviranlı@selcuk.edu.tr

Giriş

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküllerdir (1). Vücuttaki fizyolojik veya patolojik süreçler sırasında ortaya çıkan serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulması sonucu oksidatif stres oluşur (2). Organizma oksidatif hasara karşı kendisini enzimatik (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon

peroksidaz (GPx) vb.), ve enzimatik olmayan (C vitamini, E vitamini, flavonoidler ve koenzim Q10 vb.) antioksidan sistemleriyle korur (1). Oksidatif stres önemli bir hücre hasarı nedenidir. Çok sayıdaki çalışma hipoksi (3), egzersiz (4) ve yaşlanma (5) gibi pek çok farklı faktörün oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemini etkilediğini göstermiştir.

Hem hipoksi (6) hem de egzersiz (7) prooksidan/antioksidan dengesini bozan iki önemli faktördür. Egzersiz

esnasında serbest radikallerin oluşması ve oksidatif stres gelişmesi optimal performans ve egzersiz sonrasındaki toparlanma dönemi için önemlidir. Egzersiz fizyolojisinde kabul gören düşünce, egzersizin serbest radikal üretimini artırdığı ve bunun önlenmesi gereken bir yan etki olduğudur. Akut egzersiz antrenmansız insanlarda ve hayvanlarda oksidatif stresi artırırken, düzenli egzersiz antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak ve oksidan üretimini azaltarak bu etkiyi tersine çevirebilir (8,9). Genel olarak, hipoksi sonucu oksijen kaynaklı serbest radikallerin azalacağı düşünülmese rağmen (10), uzun süreli yüksek irtifaya maruz kalmanın ekspire edilen pentan miktarını ve lipid peroksidasyonunu artırdığı gösterilmiştir (11).

Modern pentatlon; atıcılık, eskrim, yüzme, binicilik ve 3 km koşudan oluşan Olimpik bir spor branşıdır. Modern pentatlon bir dayanıklılık sporudur ve pentatlon sporcularının hem maksimal oksijen tüketimleri (VO₂maks) hem de dayanıklılık kapasiteleri diğer spor branşlarına göre oldukça yüksektir (12). Bu neden pentatlon sporcularında performans artışı sağlamak için çeşitli antrenman stratejileri geliştirilmiştir. Yüksek irtifa ve hipoksiye maruz kalma ve normoksik antrenmanı birleştiren “yüksekte yaşa alçakta antrenman yap” yöntemi (13) dayanıklılık sporcuları ve deniz seviyesi yarışmaları için hazırlık yapan takım sporu oyuncularını tarafından kullanılan temel antrenman yöntemlerinden biridir (14). Bununla birlikte, yükselti antrenmanın elit sporcularda özellikle de pentatlon gibi dayanıklılık sporlarıyla uğraşan sporcularda oksidatif stres ve antioksidan savunma belirteçleri üzerine etkisini araştıran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı pentatlon sporcularında yükseklik antrenmanın oksidatif stres ve antioksidan sistem belirteçleri üzerine etkisini belirlemektir.

Gereç ve Yöntem

Katılımcı Seçimi

Çalışmaya 24-40 (29,42 ± 5,32 yıl) yaşları arasında, düzenli antrenman yapan on iki elit erkek pentatlon sporcusu katıldı. Sporcuların boyları 1,81 ± 0,04 m, vücut ağırlıkları 74,77 ± 6,59 kg ve vücut kitle indeksleri 22,86 ± 1,50, vücut yağ yüzdeleri 9,45±1,64, yağsız vücut kitleleri 39,21 ± 3,43 kg ve VO₂maks 63,64 ± 3,95 ml/kg/dk idi. Sporcular ortalama 6,08 ± 3,23 yıldır, haftada 5 gün ve günde yaklaşık 3 saat antrenman yapmaktaydı. Sporcuların antrenmanlarının zorluk derecesi Borg skalasına göre 16,25

± 0,75 idi.

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 06.03.2015 tarih ve 2015/98 nolu kararıyla Etik Kurul onayı alındıktan sonra gerçekleştirildi. Çalışmaya başlamadan önce tüm sporculara çalışma hakkında bilgi verildi ve aydınlatılmış onam imzalatıldı.

Çalışma dizaynı ve antrenman protokolü

Sporcuların deniz seviyesindeki son antrenmanlarından 24 saat sonra açlık kanları alındı. Daha sonra sporculara zirve yüksekliği 3916 metre olan Erciyes Dağında 4 hafta yüksek irtifa kampı yaptırıldı. Sporcuların antrenman yaptıkları merkezin yüksekliği ise 2500 metreydi. Sporcuların antrenmanları ağırlıklı olarak aerobik enerji sisteminin kullanılacağı şekilde planlandı. Haftanın 6 günü, haftada toplam 10 seans antrenman yaptırıldı ve haftalık antrenman yoğunluğu yaklaşık 80-110 kilometre idi. Pentatlon takımının yükseklik antrenmanı öncesinde haftalık antrenman yoğunluğu ise 60-80 km idi. Yükseklik antrenmanı süresinde sporculara haftada 2 gün VO₂maks'ın % 80'inde interval antrenman uygulanırken diğer günler VO₂maks'ın % 40-60'ında uzun süreli koşular yaptırıldı. Dört haftalık yükseklik antrenmanın sonunda son antrenmandan 24 saat sonra sporculardan ikinci kez açlık kan örnekleri alındı.

Kan Örneklerinin Alınması

Açlık kan örnekleri, sabit bir oda sıcaklığında (25 °C) en az 30 dakikalık bir dinlenme süresinden sonra antikübital fossanın yüzeysel veninden venipunktür yoluyla vakumlu tüplere alındı. Kan örnekleri 3200 rpm'de ve + 4 oC'de 15 dakika santrifüj edilip (Nüve NF-1200R Türkiye) plazma örnekleri ayrıldı ve örnekler analiz zamanına kadar malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyelerinin ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin analizi için - 80 oC'de saklandı.

Biyokimyasal Analizler

MDA seviyeleri tiyobarbutirik asit (TBA) reaktif madde (TBARS) yöntemiyle ticari kitler kullanılarak (Cat. #10009055, Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, ABD) spektrofotometrik kolorimetrik yöntemle tayin edildi. Ölçümün prensibi, MDA ile TBA'nın etkileşimi sonucu oluşan pembe renkli bileşiğin 532 nm'de absorbansının

ölçülmesi esasına dayanmaktaydı. Sonuçlar $\mu\text{M/L}$ olarak ifade edildi. GSH seviyeleri spektrofotometrik kolorimetrik yöntemle ticari kitler kullanılarak üreticinin talimatlarına göre belirlendi (Cat. #703002, Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, ABD). Sonuçlar $\mu\text{M/mL}$ olarak ifade edildi. SOD aktivitesi ticari kitler kullanılarak üreticinin talimatlarına göre belirlendi (Cat. #706002, Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, ABD). Testin prensibine göre SOD aktivitesi ksantin-ksantin oksidaz sistemiyle üretilen süperoksitin, nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanarak ölçüldü. Oluşan süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renkli formazan boyayı oluşturur. SOD aktivitesi U/mL olarak ifade edildi.

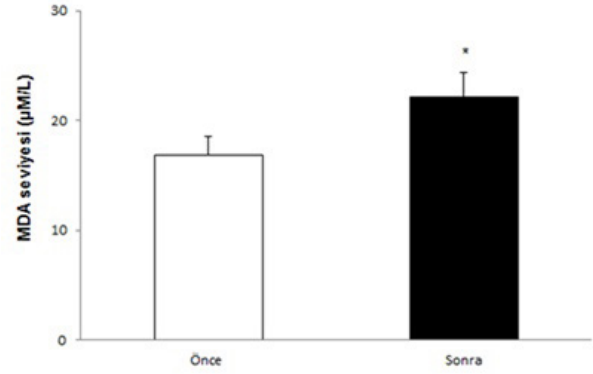
İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistik analizi SPSS 22.0 for Windows (Chicago, ABD) programı ile yapıldı. Bulgular ortalama \pm standart sapma (SS) şeklinde verildi. Normallik analizi için Shaphiro-Wilk testi uygulandı. Normal olmayan verilere logaritmik dönüşüm uygulandı. Normal verilere eşleştirilmiş örneklem t Testi (Paired Samples t Test), normal olmayan verilere Wilcoxon işaret testi uygulandı. $P \leq 0,05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

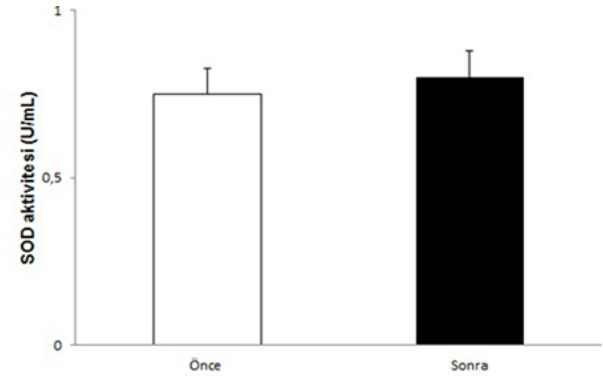
Sporcuların yükseklik antrenmanı öncesi ve sonrasında plazma MDA seviyelerindeki değişimler **Şekil 1**'de gösterilmiştir. MDA seviyesi yükseklik antrenmanı sonrasında antrenman öncesine göre yükselmişti ($P < 0,05$) (Antrenman öncesi ve sonrasında sırasıyla $16,89 \pm 3,25 \mu\text{M/L}$ ve $22,11 \pm 3,23 \mu\text{M/L}$). Plazma SOD aktivitesi sporcularda yükseklik antrenmanı sonrasında öncesinden farklı değildi ($P > 0,05$; **Şekil 2**) (Antrenman öncesi ve sonrasında sırasıyla $0,75 \pm 0,27 \text{ U/mL}$ ve $0,80 \pm 0,03 \text{ U/mL}$). Yükseklik antrenmanı öncesi ve sonrasında sporcuların plazma GSH seviyelerindeki değişimler **Şekil 3**'de gösterilmiştir. GSH seviyesi yükseklik antrenmanı sonrasında antrenman öncesine göre yükselmişti ($P < 0,05$) (Antrenman öncesi ve sonrasında sırasıyla $3,05 \pm 1,57 \mu\text{M/mL}$ ve $5,44 \pm 0,82 \mu\text{M/mL}$).

Şekil 1. Sporcuların yükseklik antrenmanı öncesi ve sonrası MDA seviyeleri.

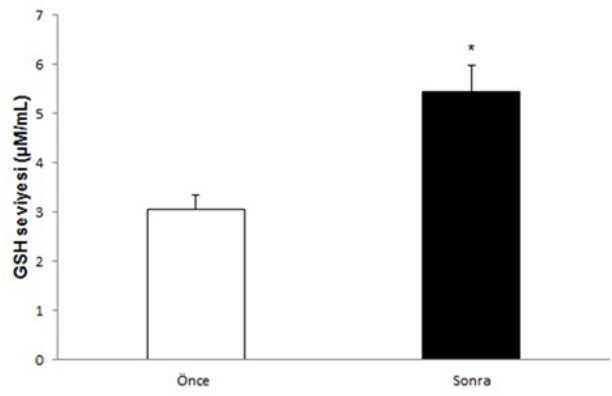


*Yükseklik antrenmanı öncesine göre $P < 0,05$

Şekil 2. Sporcuların yükseklik antrenmanı öncesi ve sonrası SOD aktiviteleri.



Şekil 3. Sporcuların yükseklik antrenmanı öncesi ve sonrası GSH seviyeleri.



*Yükseklik antrenmanı öncesine göre $P < 0,05$

Tartışma

Elit pentatlon sporcularında yükselti antrenmanın oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi belirteçleri üzerine etkilerini incelemeyi amaçladığımız bu çalışmadan elde ettiğimiz bulgulara göre 4 haftalık yükselti antrenmanı lipid peroksidasyonunun belirteci olan MDA ile değerlendirilen oksidatif stresi ve GSH ile ölçülen enzimatik olmayan antioksidan seviyelerini artırırken, SOD aktivitesiyle değerlendirilen enzimatik antioksidan seviyelerini etkilemedi. Yükseklik antrenmanı, antrenman süresi ve şiddetinden bağımsız olarak oksidatif stresi artırabilir. (15,16). Aynı zamanda hipoksik ortamda yapılan dayanıklılık antrenmanları kandaki antioksidan düzeylerinde de azalmalara sebep olabilir (15). Yapılan bir çalışmada (17) antioksidan takviyesi alarak hipoksik ortamda 2 hafta süreyle orta şiddette antrenman yapan bir grubun antioksidan seviyelerinde herhangi bir değişiklik olmadığı saptanmıştır.

Yaptığımız çalışmada yükseklik hipoksisine maruz kalmaya bağlı olduğu düşünülen MDA seviyelerinde artış tespit edilmiştir. Pek çok çalışma (18-19) yükseklik hipoksisine maruz kalmış insanlarda lipid peroksidasyonunun artmasını oksidatif stresin artmasıyla açıklamışlardır. Vij ve ark (20), yükseklik hipoksisine maruz kalmış insanlarda deniz seviyesine indikten 3 ay sonra bile idrarda lipid peroksidasyon ürünlerinin yüksek kalmaya devam ettiğini göstermişlerdir. Yoshikawa ve arkadaşları (21), 21 gün süreyle hipobarik hipoksiye maruz kalan sıçanlarda serum, kalp, karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında MDA seviyesinde artış tespit etmişlerdir.

SOD ile ilgili yapılan çalışmalar (22,23) yüksekliğe maruz kalma ile oluşan aşırı hidrojen peroksit üretiminin SOD aktivitesinin inhibisyonuna neden olduğunu göstermiştir. Nakanishi ve ark (2) 5500 metre yükseklikte hipoksiye maruz bırakılan farelerde işaretlenmiş hidrojen peroksitin aşırı arttığını buna bağlı olarak da SOD aktivitesinin azaldığını göstermişlerdir. Sinha ve ark (24) insanlarda deniz seviyesinden 4650 metre yükseklikte 7 gün sonunda katalaz aktivitesinde bir artma tespit ederken, SOD aktivitesinde anlamlı bir değişiklik bulamamışlardır. Yaptığımız çalışmada bu bulgularla benzer şekilde SOD aktivitesinde anlamlı bir değişiklik bulunamamıştır. Bununla birlikte, yükseklik antrenmanı ve yükseklik hipoksisine ile oluşan hidrojen peroksit aktivasyonunun GPx tarafından

nötröle edilebildiği ve dolayısıyla bu enzimin aktivitesinin artabileceği ileri sürülmüştür (25). Bu çalışmada GSH seviyesi yükseklik antrenmanından sonra önemli ölçüde artmıştı. Bizim bulgularımızla uyumlu olarak 30 gönüllü üzerinde yapılan bir çalışmada hipoksik ortamda egzersiz yaptırılan insanlarda GSH seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (26).

Sonuç olarak, hipoksik ortamda yapılan antrenmanlar elit sporcularda oksidatif stres ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerini artırırken, enzimatik antioksidanlar üzerinde herhangi bir etkisinin yoktur. Bununla birlikte, insanlarda ve deney hayvanlarında performans belirteçleri de göz önüne alınarak daha standart antrenman protokolleriyle özellikle bu süreçte meydana gelen moleküler değişikliklere yönelik konuyla ilgili daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford University Press New York USA 2000:534-7.
2. Nakanishi K, Tajima F, Nakamura A, Yagura S, Ookawara T, Yamashita H, Suzuki K, Taniguchi N, Ohno H. Effects of hypobaric hypoxia on antioxidant enzymes in rats. J Physiol 1995 ;489:869-76.
3. Netzer N, Gatterer H, Faulhaber M, Burtscher M, Pramsohler S, Pesta D. Hypoxia, Oxidative Stress and Fat. Biomolecules 2015;5:1143-50.
4. Belviranlı M, Okudan N. Well-Known Antioxidants and Newcomers in Sport Nutrition: Coenzyme Q10, Quercetin, Resveratrol, Pterostilbene, Pycnogenol and Astaxanthin. In: Lamprecht M, editor. Antioxidants in Sport Nutrition. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2015:79-102.
5. Jones DP. Redox theory of aging. Redox Biol 2015;5:71-9.
6. Pialoux V, Mounier R, Rock E, Mazur A, Schmitt L, Richalet JP, Robach P, Coudert J, Fellmann N. Effects of acute hypoxic exposure on prooxidant/antioxidant balance in elite endurance athletes. Int J Sports Med 2009;30:87-93.
7. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. Physiol Rev 2008;88:1243-76.
8. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicology 2003;189:41-54.
9. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: Relationship with exercise and training. Sports Med 2006;36:327-58.
10. De Groot H, Littauer A. Hypoxia, reactive oxygen, and cell injury. Free Radic Biol Med 1989;6:541-51.
11. Simon-Schnass IM. Nutrition at high altitude. J Nutr 1992;122:778-81.

12. Le Meur Y, Dorel S, Baup Y, Guyomarch JP, Roudaut C, Hausswirth C. Physiological demand and pacing strategy during the new combined event in elite pentathletes. *Eur J Appl Physiol* 2012;112:2583-93.
13. Levine BD, Stray-Gundersen J. "Living high-training low": effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance. *J Appl Physiol* 1997;83:102-12.
14. Millet GP, Faiss R, Brocherie F, Girard O. Hypoxic training and team sports: a challenge to traditional methods? *Br J Sports Med* 2013;47:i6-7.
15. Pialoux V, Brugniaux JV, Rock E, Mazur A, Schmitt L, Richalet JP, Robach P, Clottes E, Coudert J, Fellmann N, Mounier R. Antioxidant status of elite athletes remains impaired 2 weeks after a simulated altitude training camp. *Eur J Nutr* 2010;49:285-92.
16. Quindry J, Dumke C, Slivka D, Ruby B. Impact of extreme exercise at high altitude on oxidative stress in humans. *J Physiol* 2016;594:5093-104.
17. Subudhi AW, Jacobs KA, Hagobian TA, Fattor JA, Fulco CS, Muza SR, Rock PB, Hoffman AR, Cymerman A, Friedlander AL. Antioxidant supplementation does not attenuate oxidative stress at high altitude. *Aviat Space Environ Med* 2004;75:881-8.
18. Pfeiffer JM, Askew EW, Roberts DE, Wood SM, Benson JE, Johnson SC, Freedman MS. Effect of antioxidant supplementation on urine and blood markers of oxidative stress during extended moderate-altitude training. *Wilderness Environ Med* 1999;10:66-74.
19. Vani R, Reddy CS, Asha Devi S. Oxidative stress in erythrocytes: a study on the effect of antioxidant mixtures during intermittent exposures to high altitude. *Int J Biometeorol* 2010;54:553-62.
20. Vij AG, Dutta R, Satija NK. Acclimatization to oxidative stress at high altitude. *High Alt Med Biol* 2005;6:301-10.
21. Yoshikawa T, Furukawa Y, Wakamatsu Y, Takemura S, Tanaka H, Kondo M. Experimental hypoxia and lipid peroxide in rats. *Biochem Med* 1982;27:207-13.
22. Krzeszowiak J, Zawadzki M, Markiewicz-Górka I, Kawalec A, Pawlas K. The influence of 9-day trekking in the Alps on the level of oxidative stress parameters and blood parameters in native lowlanders. *Ann Agric Environ Med* 2014;21:585-9.
23. Ribon A, Pialoux V, Saugy JJ, Rupp T, Faiss R, Debevec T, Millet GP. Exposure to hypobaric hypoxia results in higher oxidative stress compared to normobaric hypoxia. *Respir Physiol Neurobiol* 2016;223:23-7.
24. Sinha S, Ray US, Saha M, Singh SN, Tomar OS. Antioxidant and redox status after maximal aerobic exercise at high altitude in acclimatized lowlanders and native highlanders. *Eur J Appl Physiol* 2009;106:807-14.
25. Johnson TE, Henderson S, Murakami S, de Castro E, de Castro SH, Cypser J, Rikke B, Tedesco P, Link C. Longevity genes in the nematode *Caenorhabditis elegans* also mediate increased resistance to stress and prevent disease. *J Inherit Metab Dis* 2002;25:197-206.
26. Vats P, Singh VK, Singh SN, Singh SB. Glutathione metabolism under high-altitude stress and effect of antioxidant supplementation. *Aviat Space Environ Med* 2008;79:1106-11.