

AKUT EGZERSİZ VE C VİTAMİNİ UYGULAMASININ SIÇAN BEYİN MALONDİALDEHİT VE GLUTATYON DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Şule COŞKUN*, Bilge GÖNÜL**, Nevin ATALAY GÜZEL***

* Gazi Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

** Gazi Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

*** Gazi Ü. Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu

ÖZET

Egzersiz oksidan stresle ilişkisi çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Vitamin C (Askorbik asit- AA)'nin, lipid peroksidasyondaki egzersiz indüklü artışı düşürdüğü gösterilmiştir. Bu çalışmada akut egzersiz uygulaması (AEU) ve AA uygulanan siçanlarda beyin dokusunun doğal antioksidan glutatyon (GSH) ve lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeylerine olan etkisinin ölçülmesi planlanmıştır.

Deneylerde ağırlıklan 200 gr olan erişkin 40 adet Wistar albino türü dişi siçan 4 eşit gruba ayrılmıştır. 10 siçan tedavisiz kontrol olarak kullanılmıştır. Diğerlerine aşağıdaki gibi uygulama yapılmıştır.

1-(AEU) Bitkinlik sınırına kadar koşturulan grup

2-AA uygulanan grup (45 gün süreyle 20mg/kg/gün, ip olarak AA verilerler)

3- AA uygulanan AEU grup

Egzersiz grubundaki denekler, motorize koşu bandında 27 m/dak hız, % 15 eğimde (8,5°) koşturulduklar. Deney sonunda beyin MDA ve GSH düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle çalışılarak ölçülmüştür. Sonuçlar ANOVA ve dağılımın homojen olup olmasına göre Mann Whitney U testleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. 3 deney grubu arasında beyin MDA ve GSH düzeyleri bakımından anlamlı fark bulunamamıştır. Ancak AA+ AEU uygulanan grubun beyin MDA seviyesi kontrollerden önemli derecede yüksektir.

Bu egzersiz protokolü veya AA uygulaması, tek başına beyin oksidan sistemi üzerine etkili değildir. Fakat AA uygulaması sonrasında tükenme egzersiz uygulaması yapıldığında beyin oksidan sistemine etkili olduğu görülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Akut egzersiz, askorbik asit, beyin, malondialdehit, glutatyon

Geliş tarihi : 10.01.2001

Yayına kabul tarihi : 21.06.2001

THE EFFECT OF ACUTE EXERCISE AND VITAMINE C SUPPLEMENTATION ON THE BRAIN MALONDIALDEHYDE AND GLUTATHIONE LEVELS

ABSTRACT

There are some reports indicating relations between exercise and oxidant stress. Vitamin C (Ascorbic acid-AA) is shown to decrease the exercise -induced increase in the rate of lipid peroxidation. We planned to determine the brain malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels of rats by acute exercise training (AET) and vitamin C supplementation (AA suppl.).

40 female Wistar albino rats weighed 200 g were divided 4 equal groups. Ten rats were used as untreated control. The others were treated as follows;

- 1-AET (running till to exhausted)
- 2-AA suppl. (20mg/kg /day for 45 days AA, ip)
- 3-AA suppl + AET.

Treadmill with an inclination of 8.5° and velocity of 27 m / min was used for running exercise protocols. The brain MDA and GSH levels were determined by spectrophotometric methods at the end of the experiments and the results were compared statistically. There was no significant difference both in MDA and GSH levels of three experiment groups. The brain MDA levels of AA suppl.+AET were significantly higher than controls.

These exercise protocol or AA supplementation have not been effective separately on the brain oxidant systems. But it seems that AA supplementation can be effective on the brain oxidant status when it is treated before exhaustive exercise training.

Key Words: Acut exercise, ascorbic acid, brain, malondialdehyda, glutathione

GİRİŞ

Egzersizde oksijen gereksinimi artar. Çalışan kas için gerekli olan oksijenin serbestlenmesi membran yapısında yer alan çoklu doymamış yağ asitlerinin yıkımı ile sonlanır (Babior, 1997). Son oksidan ürün malondialdehit (MDA)'dır. Ortaya çıkan bu oksidan hasan gidermek üzere bedende antioksidanlar görev yaparlar. Bunlar arasında superoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutasyon (GSH), ayrıca E ve C vitamini (askorbik asit: AA) gibi vitaminler ve melatonin gibi bedende bulunan yapılar yer alır (Babior, 1997). Glutasyon, beyin intrasellüler ortamında çok yüksek konsantrasyonda bulunan (1-2 mM) önemli bir antioksidan maddedir (Raps ve ark.,1989).

Egzersiz ve AA arasındaki ilişkiyi gösteren pek çok çalışma bulunmakla beraber daha çok plazma ve egzersizdeki kalp, kas ve karaciğer gibi aktif dokularda oksidan sistemle AA ilişkileri çalışılmıştır (Jacobs ve Burri, 1996; Cengiz ve Gönül, 2000; Sayan ve ark., 2000). Egzersiz yapanlarda AA eklenmesi gerekip gerekmediği tartışmalıdır. Ancak günde 5 ve 10 mil koşanlarda kan askorbik asidinin sedanterlerden yüksek olması, koşucularda idrarla askorbik asit atılımının azalması gibi bulgular (Sastre, 1992) tüm dokularda egzersiz ve AA ilişkisinin çalışılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Beyindeki AA konsantrasyonu kandakinin 10 katı kadardır ve AA'in kan beyin bariyerini geçtiği gösterilmiştir (Agus, 1997). AA sulu fazda peroksil ve oksijen radikal süpürücü olarak in vivo antioksidan korumada yer alır. Göz, beyin, karaciğer, akciğer ve kalp gibi yüksek oranda radikal oluşan dokularda yoğun olarak bulunur (Jacobs ve Burri, 1996).

Bu çalışmaların yanısıra AA'in yüksek dozlarının prooksidan gibi davrandığına dair, çalışmalar da vardır (Repka ve Hebbel, 1991; Paolini ve ark., 1998). Tükenme egzersizi beden için stres sayılabilecek bir durum oluşturur (Goldfarb, 1993). Bunun etkileri özellikle aktif dokularda daha belirgin bir şekilde izlenebilir. Ancak fiziksel aktivitenin nöral kontrolü ve total fizyolojik stres nedeniyle normalde iyi korunan ve egzersizde direkt rol almayan dokularda da bir takım değişiklikler olması beklenilir.

Beyinde oksidatif hasara karşı yüksek miktarda AA bulunduğu gösterilmiştir (Rose, 1993). Ratların AA sentezlediğini gösterir çalışmalar da mevcuttur. Tükenme egzersizi, AA yüklemesi ve beyindeki antioksidan kapasite arasındaki ilişkiyi gösteren bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu yüzden yüklenme egzersizi yapılan deneklerde AA uygulamasının beyin oksidan sistemine etkisini ölçebilmek için GSH ve MDA ölçülmesi planlanmıştır.

YÖNTEM

Deneylerde ağırlıkları 200 gr olan erişkin 40 adet Wistar albino türü dişi sıçan rastgele 4 eşit gruba ayrılmıştır. Deneyden bir hafta önce ve 6 haftalık deney süresince sıçanlar gün içinde 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık periyotta serbest su ve pelet yem (Korkuteli) ile beslenmiştir. 10 adet sıçan tedavisiz kontrol olarak kullanılmıştır. Diğerlerine aşağıdaki gibi uygulama yapılmıştır;

- 1-Akut egzersiz uygulaması (AEU) bitkinlik sınırına kadar koşturulan grup
- 2- AA uygulanan grup (45 gün süreyle 20mg/kg/gün, ip olarak AA verilenler)
- 3-AA uygulandıktan sonra bitkinlik sınırına kadar koşturulan grup (AA+AEU)

Egzersiz grubundaki denekler, motorize koşu bandında 27 m/dak hız, % 15 eğimde (8.5°) koşturulmuştur. Egzersiz grubu için bitkinlik süresi 55 dak olarak saptanmıştır. 3. grupta 45 gün 2.grupla aynı dozda AA uygulamasından sonra tükenme egzersizi uygulanmıştır.

Eter anestezisi altında dekapitasyonla feda edilen deneklerin beyinleri hemen çıkarılarak sıvı nitrojende dondurulmuş ve deney yapıncaya kadar - 30°C'de saklanmıştır. Beyin MDA (Kurtel, 1992) ve GSH (Elmann,1959) düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle çalışılarak ölçülmüştür. Sonuçlar ANOVA ve dağılımın homojen olup olmamasına göre Mann Whitney U testleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu 1990).

BULGULAR

Deneylere ait sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir.

Akut Egzersiz ve C Vitamini, Malondialdehit ve Glutasyon Düzeyleri

Tablo 1: Tükenme egzersizi ve AA uygulamasının beyin MDA ve GSH düzeylerine etkisi.

Gruplar	Denek Sayısı	Beyin MDA düzeyi (nmol/gr doku)	Beyin GSH düzeyi (μ mol/gr doku)	MDA/GSH oranı
K	10	26.5 \pm 7.6 ^a	4.8 \pm 1.2	5.5
AEU	10	33.6 \pm 14.7	5.6 \pm 1	6
AA	10	29.8 \pm 13.5	5.4 \pm 0.8	5.5
AA+AEU	10	36.4 \pm 11.5 ^b	4.7 \pm 1.2	7.7

K:Herhangi bir egzersiz uygulaması yaptırılmayan kontrol grubu, **AEU:** Tükenme egzersiz grubu, **AA:** AA yüklemesi yapılan grup, **AA+AEU:** AA yüklemesi yapıldıktan sonra tükenme egzersizi uygulanan grup
Değerler aritmetik ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. a-b: $p < 0.05$

3 deney grubu arasında beyin MDA ve GSH düzeyleri bakımından anlamlı fark bulunamamıştır. AA+AEU uygulanan grubun beyin MDA seviyesi, egzersiz yapmayan kontrollerden önemli derecede yüksektir.

TARTIŞMA

Tükenme egzersizi oksijen kullanımını artırarak hücre içi prooksidan-antioksidan homeostazını bozar (Ji, 1999). Somani ve arkadaşları tükenme egzersiz uygulamasının beyin MDA düzeyini arttırdığını göstermişlerdir (Somani ve ark.,1996). 60 dakikalık yüzme egzersizinin beyin lipid peroksidasyonunu arttırdığı ve bu olumsuz etkinin doğal antioksidanlardan biri olan melatoninle engellendiği gösterilmiştir (Hara ve ark., 1997). Bizim çalışmamızda da tükenme egzersizi ve AA uygulamasının beyin MDA düzeyini arttırdığı, bu artışın örneklem sayısı az olduğu ve deneydeki tüm gruplar homojen olmadığı için uygulanan Mann Whitney U testi ile istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ancak, bu grupla kontrol homojen dağılım gösterdiğinden eşler arası olmayan (unpaired) Student t testi ile kontrolle karşılaştırmanın istatistiki açıdan anlamlı olduğu görülmüştür. Bu karşılaştırma istatistik yöntem seçiminin önemini göstermektedir.

Bu arada beyinde son oksidan ürün MDA ve antioksidan GSH miktarları bu gruplar için oranlandığında sonucun kontrol, akut egzersiz ve AA uygulanan gruplarda benzerlik gösterirken, AA uygulamasını izleyen egzersizden sonra büyüdüğü yani oksidasyonun arttığı görülmektedir.

Tüketici egzersizin ardından lipid çift tabaka akışkanlığını sağlayan 5 hidroksi stearik asitin beyinde azaldığı gösterilmiştir (Hiramatsu ve ark.,1993). Antioksidanlardan E vitamini uygulanan deneklerde ise bu etki görülmemiştir (Hiramatsu ve ark.,1993). Hara ve arkadaşları (1996) 30 dakikalık yüzme egzersizi ile veya melatonin uygulaması ile beyin dokusu GSH/GSSG oranının etkilenmediğini göstermişlerdir. Egzersizin yaşa bağlı olarak beyin glutasyon düzeylerine farklı etkiler yaptığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Ohkuwa ve ark.,1997). Bu çalışmada tükenme egzersizi uygulaması yaptırılan grupta hü-

re içi antioksidan olarak görev yapan glutatyon düzeyinin total beyin örneklerinde değişmediği görülmüştür.

AA pek çok dokuda bulunmakla beraber beyin ve lökositlerde en yüksek düzeydedir (Goldfarb, 1993). AA'in plazmada radikal yakalama kapasitesi çok yüksektir. Askorbat, özellikle nöronal sitozol olmak üzere merkezi sinir sisteminde önemli bir antioksidandır (Brahma ve ark., 2000). AA'in nöromodulatör olarak iş gördüğü bilinmektedir, nörotransmitterlerin salımını kolaylaştırır ve katekolaminlerin sentezindeki gibi dopamin ve NMDA reseptörlerini içeren nörotransmitterlerin bağlanmasını inhibe eder. Serobrospinal sıvı (CSF) düşük miktarlarda tokoferol, yüksek miktarlarda ise AA içerir. AA'in yüksek miktarı serobrospinal sıvıda antioksidan savunma sistemi bakımından önemli bir rol oynamaktadır (Lönnrot ve ark., 1996). α -tokoferol ve AA kombinasyonlarının beyin dokularında serbest radikallere karşı önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Bano ve Parihar, 1997). İnsanda akut askorbik asit yüklemesinin egzersizin oluşturduğu oksidatif stresi engellediği gösterilmiştir (Ashton ve ark., 1999).

Deneylerimizde kronik olarak AA yüklemesi ile beyin MDA düzeyinin kontrollere göre çok fazla değişmediği görülmüştür. Akut egzersizden önce 20 mg/kg/gün ve 45 gün süreli AA yüklemesinin bitkinlik sınırına kadar koşma halindeki akut bir streste beyinde lipid peroksidasyonunu arttırdığını, böylece uygulanan AA dozunun beyin dokusunda yeterli bir koruma yapamadığını hatta prooksidan gibi rol oynadığını söyleyebiliriz. İnsanda AA sentezlenemediği için AA verilmesi egzersizin oluşturduğu oksidatif stresi engellemede yardımcı olabilir. Ancak sıçanlarda AA sentezlendiğinden belkide doz ve uygulama süresi yeterli olmamıştır sonucuna varılabilir. Deneylerin AA sentezlemeyen kobaylarda yapılması daha uygun olabilir ancak kobaylara egzersiz uygulaması deneysel açıdan sorun yaratmakta ve çoğunlukla sıçanlar kullanılmaktadır.

GSH düzeyinde değişiklik olmamasını da total beyin dokusunda çalışılmasına bağlamak mümkün gözükmemektedir. Zira AA uygulamasının değişik beyin bölgelerinde lipid peroksidasyonu değişik miktarda düşürdüğü bilinmektedir (Bano ve Barihar, 1997). Bundan sonraki basamakta aynı protokolle değişik beyin bölgelerinde çalışmanın tekrarlanması planlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Agus, D. B., Gambhir, S. S., Partridge, W.M., Spielholz, C., Baselga, J., Ver, J. C., Golde, D.W. (1997). Ascorbic acid crosses the blood-brain barrier in the oxidized form through the glucose transporters. **J. Clin Invest**, Dec 1; 100 (11): 2842-8.
- Arslan, C., Gönül, B. (2000). Elit güreşçilerde C vitamini yüklemesinin bazı fizyolojik etkileri. **Spor ve Tıp**. 8 (1-2): 21-25.
- Ashton, T., Young, I.S., Peters, J.R., Jones, E., Jackson, S.K., Davies, B., Rowlands, C.C. (1999). Electronspin resonance spectroscopy, exercise and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. **J. Apply. Physiol**. Dec 87 (6):2032-6.
- Babior, B. M. (1997) Superoxide: a two-edged sword. **Braz. J. Med. Biol. Res**, 30 (2): 141-155.
- Bano, S., Parihar, M.S. (1997) Reduction of lipid peroxidation in different brain regions by a combination of alpha-tocopherol and ascorbic acid. **J. Neural Transm**, 104 811-12):1277-86.

Akut Egzersiz ve C Vitamini, Malondialdehit ve Glutasyon Düzeyleri

- Brahma, B., Forman, R.E., Stewart, E.E., Nicholson, C., Rice, M.E. (2000). Ascorbate inhibits edema in brain slices. **J. Neurochem** Mar; 74 (3):1263-70.
- Ellmann, G. L. (1959). Tissue sulphhydryl groups. **Arch. Biochem. Biophys**, 82: 70-77.
- Goldfarb, A. H. (1996). Antioxidants: role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress, **Med. Sci. Sports Exerc.**, 25(2) :232-236.
- Hara, M., Abe, M., Suzuki, T., Reiter, R.J. (1996). Tissue changes in glutathione metabolism and lipid peroxidation induced by swimming are partially prevented by melatonin. **Pharmacol Toxicol**, May; 78 (5):308-312.
- Hara, M., Ligo, M., Ohtani-Kaneko, R., Nakamura, N., Suzuki, T., Reiter, R.J., Hirata, K. (1997). Administration of melatonin and related indoles prevents exercise-induced cellular oxidative changes in rats. **Biol Signals** Mar-April; 6 (2): 90-100.
- Hiramatsu, M., Edamatsu, R., Velasco, R. D., Ooba, S., Kankura, K., Mori, A. (1993). Exhaustive exercise affects fluidity and alpha-tocopherol levels in brain synaptosomal membranes of normal and vitamin E supplemented rats. **Neurochem. Res.** Mar; 18 (3):313-6.
- Jacobs, R.A., Buri, B. J. (1996). Oxidative damage and defense. **Am. J. Clin. Nutr.**, 63: 985S-90S.
- Ji, L.L. (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. **Proc Soc Exp Biol Med.**, Dec; 222 (3) :283-92.
- Kurtel, H., Neil Grancer, D., Tso, P., Grisham, M. B. (1992). Vulnerability of intestinal fluid to oxidant stress. **Am. J. Physiol.**, G573-G578.
- Lönnrot, K., Metsa-Ketela, T., Molnar, G., Ahonan, J-P., Latvaala, M., Peltola, J., Pietila, T., Alho. (1996). The effect of ascorbate and ubiquinone supplementation on plasma and CNF total antioxidant capacity, **Free Radical Biology & Medicine**. Vol 21, No 2 pp 211-217.
- Onkuwa, T., Sato, Y., Naoi, M. (1997). Glutathione and reactive oxygen generation in tissues of young and old exercised rats. **Acta Physiol Scand**, March; 159 (3):237-44.
- Paolini, M., Pozzetti, L., Pedulli, G.F., Marchosi, E., Cantelli-Forti, G. (1999). The nature of prooxidant activity of ascorbic acid. **Life Sciences**, Vol 64; No:23 pp PL 273-278.
- Raps, S.P., Kai, J.C.K., Hertz, L., Cooper, A.J.L. (1989). Glutathione is presented in high concentrations in cultured astrocytes but not in cultured neurons. **Brain Res.** 493,398-401.
- Repka, T., Hebbel, R.P. (1991). Hydroxyl radical formation by sickle erythrocyte membranes: role of pathologic iron deposits and cytoplasmic reducing agents. **Blood**, Vol 78, No 10 (November 15), pp: 2753-2758.
- Rose, R.C. (1993). Cerebral metabolism of oxidized ascorbate. **Brain Res**, Nov 19; 628 (1-2): 49-55.
- Sastre, J., Asense, M., Gasco, E., Pallardo, F. V., Ferrero, J. A., Furukawa, T., Vina, J. (1992). Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. **Am. J. Physiol.** 263 (32) (Regulatory Integrative Comp. Physiol): R992-R995.
- Sayan, H., Çetin, E., Yarım, I., Gönül, B. (2000). Yüksek irtifada antrenman yapan kayakçılarda C vitamini eritrosit süperoksit dismutaz enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyonu üzerine etkisi. **T. Klin. Tıp Bilimleri.** 20: 5-10.
- Somani, S.M., Husain, K., Diaz-Phillips, L., Lanzotti, D. J., Karetı, K. R., Trammel, G. I. (1996). Interaction of exercise and ethanol on antioxidant enzymes in brain regions of the rat. **Alcohol**, Nov-Dec; 13 (6):603-10.
- Sümbüloğlu, K., Sümbüloğlu, V. (1990). **Biyoistatistik**. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi, 265.