

## SIÇANDA OKSİDATİF STRES MODELİ OLARAK KISA SÜRELİ YÜZME EGZERSİZİ\*

Mustafa GÜL\*, Nuray ÖZTAŞAN\*, Seyithan TAYSİ\*\*, Kenan GÜMÜŞTEKİN\*,  
Sedat AKAR\*, Nuri BAKAN\*\*, Şenol DANE\*

\*Atatürk Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

\*\*Atatürk Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

### ÖZET

Uzun süren yorucu yüzme egzersizinin oksidatif stres yarattığı bilinmektedir. Bununla birlikte, kısa süreli yüzme egzersizinin oksidatif stres yaratıp yaratmadığına dair fazla bilgi yoktur. Bu çalışmada, sedanter sıçanlarda kısa süreli yorucu olmayan yüzme egzersizinin de oksidatif stres yaratabilip yaratamayacağı test edilmiştir. 10 adet sedanter sıçana (vücut ağırlığı  $212.63 \pm 30.84$  gram, ortalama  $\pm$  standart sapma) sıcaklığı yaklaşık  $30^{\circ}\text{C}$ , derinliği 50 cm olan suda 90 dakika süre ile yüzme egzersizi yaptırılmıştır. Egzersizden önce ve sonra alınan kan örneklerinde serum malondialdehit (MDA) düzeyleri spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür. Kısa süreli yüzme egzersizi sonrası serum MDA düzeyi anlamlı olarak yüksek bulundu (egzersizden önce ve sonra serum MDA düzeyleri:  $3.44 \pm 0.98$  nmol/ml,  $4.51 \pm 1.59$  nmol/ml,  $p < 0.05$ , "Wilcoxon signed ranks" testi). Bu bulgular 90 dakikalık kısa süreli bir yüzme egzersizinin sedanter sıçanlarda oksidatif stres oluşturabildiğini göstermiş ve bu oksidatif stres modelinin oksidatif stresi etkilemesi beklenen çeşitli manipülasyonların etkilerini test etmede kullanılabileceğini düşündürmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Kısa süreli yüzme egzersizi, oksidatif stres

### SHORT-TERM SWIMMING EXERCISE AS AN OXIDATIVE STRESS MODEL IN RAT

#### ABSTRACT

It is known that long lasting exhaustive swimming exercise creates oxidative stress. However, there is not much information whether short-term swimming exercise could

Geliş tarihi : 18.10.2000

Yayına kabul tarihi : 27.8.2001

\* Bu çalışma Türk Fizyolojik Bilimler Derneği'nin 4-8 Eylül 2000 tarihleri arasında Eskişehir'de yapılan Uluslararası Katılımlı 26. Ulusal Kongresinde poster olarak sunulmuştur.

create oxidative stress. In this study, whether short-term non-exhausting swimming exercise could also create oxidative stress in sedentary rats was tested. Ten sedentary rats (body weight,  $212.83 \pm 30.84$  gram, mean  $\pm$  SD) were exposed to swimming exercise for 90 minutes in water with a temperature of approximately  $30^{\circ}$  C and a depth of 50 cm. Serum malondialdehyde (MDA) levels were measured spectrophotometrically in blood samples collected before and after swimming exercise. Serum MDA levels were found significantly increased after short-term swimming exercise ( $3.44 \pm 0.98$  nmol/ml,  $4.51 \pm 1.59$  nmol/ml, before and after exercise, respectively,  $p < 0.05$ , Wilcoxon signed ranks test). These results show that 90 minutes of short-term swimming exercise may create oxidative stress in sedentary rats, and suggests that this oxidative stress model may be used to test the effects of various manipulations expected to have an effect on oxidative stress situation.

**Key Words:** Short-term swimming exercise, oxidative stress

### GİRİŞ

Egzersiz sırasında oksijen kullanımı istirahata nazaran 10-15 kat artar. Bu nedenle, büyük olasılıkla serbest radikal oluşumu da istirahata nazaran çok artacaktır. Bunun sonucunda, ister koşu bandı, isterse yüzme egzersizi şeklinde olsun yorucu egzersiz başta glutatyon (Gül ve ark. 2000) olmak üzere antioksidan savunma mekanizmalarının (Sen ve Hänninen 1994) kapasitesini aşarak çeşitli dokularda oksidatif stresi artırabilir. Khanna ve arkadaşları (1999) sıçanda yorucu koşu bandı egzersizinin karaciğer ve kırmızı gastroknemius kasında lipit peroksidasyonunu arttırdığını göstermişlerdir. Yorucu yüzme egzersizi sonrasında da fare karaciğerinde malondialdehit (MDA) artışı (Leeuwenburgh ve Ji 1998), sıçan akciğerinde elektron spin rezonans spektroskopisi (ESR) yöntemiyle doğrudan ölçülebilen serbest radikal oluşumunda artış (Kumar ve ark. 1997) olduğu saptanmıştır. İnsanda da koşu bandı, sabit şiddette ve şiddeti gittikçe artan bisiklet egzersizi sonrası plazma lipit peroksidasyonunda artış olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Child ve ark. 1998; Laaksonen ve ark. 1999; Koska ve ark. 2000). Ashton ve arkadaşları (1998) insan venöz kanında egzersiz sonrası serbest radikal oluşumunun arttığını yine ESR yöntemi ile ilk kez direkt olarak göstermişlerdir.

Literatürde yorucu olmayan, kısa süreli yüzme egzersizinin oksidatif stres yaratıp yaratmadığına dair ise çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Hara ve arkadaşları (1997) sıçanda 60 dakikalık bir kısa süreli yüzme egzersizinin kas, karaciğer ve beyin dokusunda lipit peroksidasyonunu arttırdığı halde, aynı araştırmacılar (Hara ve ark. 1996) 30 dakikalık yüzme egzersizinin yalnız kas dokusunda oksidatif stres oluşturduğunu göstermişlerdir. Öte yandan, Venditti ve arkadaşları (1999) sıçanda 5 saatlik bir yüzme egzersizinin karaciğer lipit peroksidasyonunu arttırmadığı halde, 8 saatlik yüzme egzersizinin karaciğer lipit peroksidasyonunu arttırdığını bildirmektedirler. Sıçanda yüzme egzersizi ile yolulma süresinin 7-11 saat (Venditti ve ark. 1996), farede ise yaklaşık 4 saat (Leeuwenburgh ve Ji 1998) olduğu bildirilmiştir.

Görüldüğü gibi, yorucu olmayan yüzme egzersizinin oksidatif stres yaratıp yaratmadığı, özellikle ne kadar süreli bir yüzme egzersizinin oksidatif stres yarattığı konusunda bir fikir birliği yoktur. Ayrıca, sıçanda kısa süreli yüzme egzersizinin serum MDA düzeyi-

ne etkisi bildirilmemiştir. Bu nedenle, bu çalışmada sedanter sıçanlarda 90 dakikalık, yorucu olmayan kısa süreli yüzme egzersizinin serum MDA düzeyi artışı ile kendini gösterecek bir oksidatif stres yaratıp yaratamayacağı test edilmiştir.

## **YÖNTEM**

Sıçanlar gün ışığı alan bir odada, her büyük kafeste ortalama 5 sıçan olmak üzere ve normal sıçan yemi ve suya diledikleri zaman ulaşabilecekleri şekilde bakıldılar. Ancak çalışma sırasında karışmayı önlemek amacıyla her kafeste bir sıçan bulunduruldu. Çalışmamızda vücut ağırlığı  $212.83 \pm 30.84$  gram (ortalama  $\pm$  standart sapma) olan 10 adet sıçan kullanıldı.

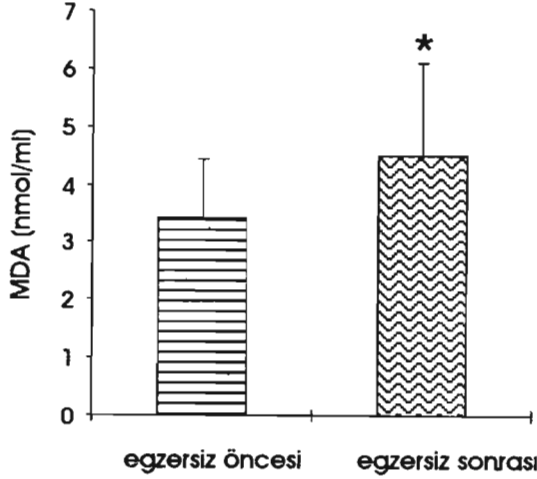
**Kısa süreli yüzme egzersizi:** Sıçanlar, egzersizden bir gün önce, yaklaşık  $30^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar ısıtılmış suda 15 dakika yüzdürülerek yüzmeye alıştırdılar. Egzersiz günü, kuyruk veni kanatılarak yaklaşık 1 ml kan alındı ve işlem sonrası hemen tampon uygulanarak kanama durduruldu. Kan alma işleminden 1 saat kadar sonra, sıçanlar yaklaşık  $30^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar ısıtılmış, 50 cm derinliğindeki suda, 90 dakika boyunca her kovada bir sıçan olmak üzere yüzdürüldüler. Sıçanlar egzersizden hemen sonra bir havlu ile silinip sıcak hava üfleyen bir ısıtıcı önünde kurutuldular. Yüzmeden hemen sonra sıçanlardan tekrar yaklaşık 1 ml kan alındı. Alınan kan örnekleri oda sıcaklığında 1/2 saat kadar kanın pıhtılaşması için beklendikten sonra 3800 devir/dakika hızda 10 dakika santrifüje edilerek serumları ayrıldı. Serumlar spektrofotometrik yöntemle MDA ölçümü yapılacak güne kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'lik derin dondurucuda saklandı.

**Serum malondialdehit (MDA) düzeyi ölçümü:** Serum MDA düzeyi Hunter ve arkadaşlarının (1985) yöntemi kullanılarak ölçüldü: Kısaca, 0.5 ml serum 0.5 ml %35'lik trikloroasetik asit çözeltisine eklendi. Vorteksle karıştırıldıktan sonra 0.5 ml 50 mM, pH 7.4 olan Tris/HCl asit tamponu eklendi ve 10 dakika oda ısısında bekletildi. Buna 1 ml 2 M'lik  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  içindeki % 0.75'lik tiyobarbitürik asit çözeltisi eklendi ve karışım  $100^{\circ}\text{C}$ 'de 45 dakika boyunca ısıtıldı. Soğutulduktan sonra 1 ml %70'lik trikloroasetik asit eklendi, karıştırıldıktan sonra 1500 devir/dakika hızda 10 dakika santrifüje edildi. Supernatantın absorbansı 530 nm'de ölçüldü. Serum MDA düzeyi MDA'in molar ekstinksiyon katsayısı ( $1.65 \times 10^5$ ) kullanılarak hesaplandı ve sonuç nmol/ml olarak verildi.

Yüzme egzersizi öncesi ve sonrası serum MDA düzeylerinin istatistiksel karşılaştırılması SPSS programı (versiyon 7.5.1) ile "Wilcoxon signed ranks test" kullanılarak yapıldı.  $P < 0.05$  düzeyi anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

## **BULGULAR**

Kısa süreli (90 dakika) yüzme egzersizi sonrası serum MDA düzeyi anlamlı olarak yüksek bulundu (Şekil 1, egzersizden önce ve sonra serum MDA düzeyleri:  $3.44 \pm 0.98$  nmol/ml,  $4.51 \pm 1.59$  nmol/ml,  $p < 0.05$ ). Bu bulgu açık bir şekilde kısa süreli yüzme egzersizinin sıçanda oksidatif stresi arttırdığını göstermektedir.



Şekil 1: Sıçanda kısa süreli (90 dakika) yüzme egzersizinin serum malondialdehit (MDA) düzeyi üzerine etkisi. \*:  $P < 0.05$ , Wilcoxon signed ranks test,  $n=10$ , ortalama  $\pm$  standart sapma.

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Kısa süreli yüzme egzersizinin serum MDA düzeyine olan etkisi daha önce bildirilmemiştir. Uzun süren yorucu yüzme egzersizinin oksidatif stres yarattığı (Leeuwenburgh ve Ji, 1998) bilinmekte, ancak kısa süreli yüzme egzersizinin oksidatif stres yaratıp yaratmadığına dair çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. Hara ve ark. (1996 ve 1997) 30 ve 60 dakikalık yüzme egzersizinin sıçan kas dokusunda lipid peroksidasyonunu arttırdığını bildirdikleri halde, Venditti ve arkadaşları (1999) 5 saatlik bir yüzme egzersizinin karaciğerde lipid peroksidasyonu artışı için yeterli olmadığını bildirmişlerdir. Buna karşılık aynı yazarlar 8 saatlik daha uzun ancak yorucu olmayan yüzme egzersizinin sıçan karaciğer lipid peroksidasyonunu arttırdığını bildirmektedirler (Venditti ve ark., 1999). Bu çalışmanın sonuçları Hara ve arkadaşlarının (1996 ve 1997) çalışmaları ile paralellik göstermekte, buna karşılık Venditti ve arkadaşlarının (1999) 5 saat gibi uzun sayılabilecek bir süreli yüzme egzersizinin karaciğer lipid peroksidasyonunu arttırmaması ile çelişmektedir. Bu çelişki kısmen uygulanan egzersiz sürelerinin farklı olmasından, kısmen de lipid peroksidasyonunun serum, kas ve karaciğer gibi farklı dokularda değerlendirilmiş olmasından kaynaklanıyor olabilir.

İnsanda da koşu bandı ve bisiklet egzersizi sonrası plazma lipid peroksidasyonunda artış olduğu bildirilmiştir. Örneğin, yaklaşık ortalama %77'lik bir maksimal oksijen tüketecek şekilde 90 dakika koşu bandında koşuktan sonra erkek koşucuların serum MDA seviyesinde (Child ve ark., 1998), gönüllü erkeklerde gittikçe artan şiddetteki bisiklet egzersizi sonrası plazma MDA seviyesinde (Koska ve ark., 2000) ve sedanter erkeklerde maksimal oksijen tüketimlerinin %60 seviyesinde 40 dakikalık bir bisiklet egzersizinden sonra plazma tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren madde konsantrasyonunda (Laaksonen ve ark., 1999) artışlar saptanmıştır. Genel olarak, egzersiz sırasında mitokondriyal

elektron transport zinciri boyunca artan elektron akışının oksidatif fosforilasyonun etkinliğini büyük ölçüde arttırdığı ve bunun da reaktif oksijen türlerinin oluşumunda bir artışla sonuçlandığı kabul edilmektedir (Di Meo ve Venditti, 2001).

Gohil ve arkadaşları (1988) antrenmanlı erkeklerde maksimal oksijen tüketiminin %65'i seviyesinde 90 dakikalık submaksimal koşu egzersizi sırasında, Laaksonen ve arkadaşları (1999) sedanter erkeklerde maksimal oksijen tüketimlerinin %60 seviyesinde 40 dakikalık bir bisiklet egzersizinden sonra kanda redükte glutatyon azalırken okside glutatyonun arttığını, Hara ve arkadaşları (1996) ise sıçanda 30 dakikalık bir yüzme egzersizi sonrasında iskelet kasında okside glutatyonda daha fazla olmak üzere hem okside hem de redükte glutatyon düzeylerinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da 90 dakikalık kısa süreli yüzme egzersizi sırasında büyük bir olasılıkla kanda bulunan glutatyon, artmış serbest oksijen radikallerinin ortadan kaldırılması için oksidasyona uğramış olabilir. Bu oksidasyon artışının olası bir nedeni olarak, Vina ve arkadaşları (2000) hem sıçan hem de insanlarda egzersiz sonrası kanda ksantin oksidaz aktivitesinin arttığını ve bu enzimin aktivitesinin allopurinol ile inhibe edilmesinin egzersizin indüklediği glutatyon oksidasyonunu önlediğini göstermişlerdir.

Antioksidan enzimlerin aktiviteleri de kısa süreli egzersizden etkilenebilmektedir. Örneğin, Koska ve arkadaşları (2000) egzersiz sonrası plazma lipit peroksidasyonu artışına eritrosit süperoksit dismütaz ve tam kan glutatyon peroksidaz aktiviteleri artışının, Laaksonen ve arkadaşları (1999) ise eritrosit katalaz aktivitesi artışının eşlik ettiğini saptamışlardır. Yorucu egzersiz sonrasında sıçan iskelet kası glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, süperoksit dismütaz ve katalaz aktivite artışları bildirilmiştir (Ji ve Fu, 1992). Gohil ve ark. (1988) egzersiz sonrası birkaç gün içinde kandaki okside glutatyonun tekrar redükte olduğunu ve hatta total glutatyon miktarının egzersiz öncesi düzeyin üstüne çıktığını da bildirmektedirler. İnsan ve hayvan çalışmalarından elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde, egzersiz sonrasında, egzersiz sırasında oluşan serbest radikal türlerinin dokulara zarar vermemesi için glutatyona bağımlı antioksidan savunma mekanizması (Gül ve ark., 2000; Sen ve Hänninen, 1994) ve diğer antioksidan enzimler (Sen ve Hänninen, 1994) tarafından ortadan kaldırılmaya devam edildiğini göstermektedir. Bu nedenle, egzersiz sırasında oksidatif stres meydana gelse bile, bunun çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları ile donanmış sağlıklı bir organizmada önemli bir hasara neden olması düşük bir olasılık gibi görünmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma sedanter sıçanlarda 90 dakikalık bir kısa süreli yüzme egzersizinin serum MDA düzeyi artışı ile kendini gösteren bir oksidatif stres yaratabildiğini göstermiştir. Bu oksidatif stres modelinin, oksidatif stresi artırıcı ya da azaltıcı yönde etki etmesi beklenen çeşitli manipülasyonların etkilerini test etmede kullanılabilceği düşünülmüştür.

**KAYNAKLAR**

- Ashton, T., Rowlands, C.C., Jones, E., Young, I.S., Jackson, S.K., Davies, B., Peters, J.R. (1998). Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. **Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.** 77, 498-502.
- Child, R.B., Wilkinson, D.M., Fallowfield, J.L., Donnelly, A.E. (1998). Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. **Med. Sci. Sports. Exerc.** 30, 1603-1607.
- Di Meo, S., Venditti, P. (2001). Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. **Biol. Signals Recept.** 10, 125-140.
- Gohil, K., Viguie, C., Stanley, W.C., Brooks, G.A., Packer, L. (1988). Blood glutathione oxidation during human exercise. **J. Appl. Physiol.** 64, 115-119.
- Gül, M., Kutay, F.Z., Temocin, S., Hänninen, O. (2000). Cellular and clinical implications of glutathione. **Indian J. Exp. Biol.** 38, 625-634.
- 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.** 78, 308-312.
- Hara, M., Iigo, 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.** 6, 90-100.
- Hunter, M.I.S., Nlemadim, B.C., Davidson, D.L.W. (1985). Lipid peroxidation products and antioxidant proteins in plasma and cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients. **Neurochem. Res.** 10, 1645-1652.
- Ji, L.L., Fu, R. (1992). Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. **J. Appl. Physiol.** 72, 549-554.
- Khanna, S., Atalay, M., Laaksonen, D.E., Gül, M., Roy, S., Sen, C.K. (1999). Alpha-lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and following exercise. **J. Appl. Physiol.** 86, 1191-1196.
- Koska, J., Blazicek, P., Marko, M., Grna, J.D., Kvetnansky, R., Vıgas, M. (2000). Insulin, catecholamines, glucose and antioxidant enzymes in oxidative damage during different loads in healthy humans. **Physiol. Res.** 49 Suppl 1, S95-100.
- Kumar, T.C., Reddy, K.V., Anuradha, D., Reddanna, P. (1997). Enhanced production of LTB4 and free radicals in rat lung by exhaustive physical exercise. **Biochem. Mol. Biol. Int.** 41, 641-646.
- Laaksonen, D.E., Atalay, M., Niskanen, L., Uusitupa, M., Hanninen, O., Sen, C.K. (1999). Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise-induced oxidative stress in young men. **Redox Rep.** 4, 53-59.
- Leeuwenburgh, C., Ji, L.L. (1998). Glutathione and glutathione ethyl ester supplementation of mice alter glutathione homeostasis during exercise. **J. Nutr.** 128, 2420-2426.

- Sen, C.K., Hänninen, O. (1994). "Physiological antioxidants." In Sen, C.K., Packer, L., Hänninen, O. (Eds) **Exercise and Oxygen Toxicity**. (pp 89-126) Amsterdam: Elsevier.
- Venditti, P., Masullo, P., Di Meo, S. (1999). Effect of exercise duration on characteristics of mitochondrial population from rat liver. **Arch. Biochem. Biophys.** 368, 112-120.
- Venditti, P., Piro, M.C., Artiaco, G., Di Meo, S. (1996). Effect of exercise on tissue anti-oxidant capacity and heart electrical properties in male and female rats. **Eur. J. Appl. Physiol.** 74, 322-329.
- Vina, J., Gimeno, A., Sastre, J., Desco, C., Asensi, M., Pallardo, F.V., Cuesta, A., Ferrero, J.A., Terada, L.S., Repine, J.E. (2000). Mechanism of free radical production in exhaustive exercise in humans and rats; role of xanthine oxidase and protection by allopurinol. **IUBMB Life** 49, 539-544.

**Teşekkür:** *Siçanların bakımını özveri ile sürdürmekte olan Delali Camgöz'e teşekkür ederiz.*

### **DÜZELTME**

Dergimizin, 2001 yılı 3. sayısında sayfa 25'teki "KLASİK BALE EĞİTİMİNİN LUMBAL BÖLGE..." başlıklı makalenin yazarlarından birinin adı dizgi hatası olarak "**SÜRENKEK**" şeklinde yayımlanmıştır. Doğrusu "**SÜRENKÖK**" olacaktır.