

DAYANIKLILIK ANTRENMANLARINDA ANTİOKSİDAN SAVUNMA*

Ali Murat ZERGEROĞLU, Gülriiz ERSÖZ, Sema YAVUZER

Ankara Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı ve Spor Hekimliği Bilim Dalı

ÖZET

Dayanıklılık antrenmanının eritrosit süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ve trombosit malondialdehit (MDA) düzeyi üzerine etkisini araştırmak amacıyla programlanan çalışmaya, 18-21 yaşları arasında 14 gönüllü, sağlıklı, sedanter katıldı. Denekler 6 hafta süreyle, haftada 3 kez, maksimal kalp atım sayısının %75'ine karşılık gelen yükte 30 dakika süren bir egzersiz programına alındı.

Programın başında, deneklerde eritrosit SOD, CAT aktivitesini ve trombosit MDA düzeyini saptamak üzere kan alındıktan 20 dakika sonra ilk egzersiz yaptırıldı. İlk egzersizden sonra 3 ve 6 haftalık antrenman sonunda egzersizden önce ve sonra kan alınarak eritrosit SOD, CAT aktivitesi ve trombosit MDA düzeyi saptandı. Sonuçlar eşleşmiş t testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

3. ve 6. Hafta sonunda eritrosit SOD aktivitesinde anlamlı artış ($p < 0.05$) saptanırken, eritrosit CAT aktivitesi ve trombosit MDA düzeyinde değişiklik olmadı.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar, dayanıklılık antrenmanlarının antioksidan enzimatik savunmanın özellikle birinci basamağında güçlendirici bir etkiye sahip olduğunu gösterdi.

Anahtar kelimeler: Dayanıklılık antrenmanı, antioksidan enzimler

ANTIOXIDANT DEFENSE IN THE ENDURANCE TRAINING ABSTRACT

The presented study was planned in order to investigate the effects of endurance training on erythrocyte superoxyde dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzyme activities and platelet malondialdehit (MDA) level. 14 healthy, sedentary volunteers, aged 18-21 years, participated in the study. The participants were performed 30 minutes of submaximal exercise with a load corresponding to 75 % maximal heart rate three times a week during 6 weeks.

Blood samples were obtained before and after the exercises that performed at the first, 3rd and 6th week of the training. Erythrocyte SOD, CAT enzyme activities and platelet MDA levels were measured. The results were evaluated statistically by paired t test.

Erythrocyte SOD enzyme activity increased after the exercise at the 3rd and 6th week ($p < 0.05$). Erythrocyte CAT enzyme activities and platelet MDA levels did not change.

The results show that the endurance training has increasing effect on the first stage of the antioxidant enzymatic defense.

Key words: Endurance training, antioxidant enzymes.

(*) Bu çalışmanın bir bölümü 1994 yılında 3. Spor Bilimleri Kongresinde sunulmuş ve "Sporcu Sağlığı" dalında "En İyi Çalışma" ödülü almıştır.

GİRİŞ

Doğadaki bir çok organizma gibi insan da yaşamını sürdürebilmek için oksijene gereksinim duyar. Vücuda giren oksijenin metabolizması sırasında süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH) oluşur. Bu maddelere " serbest oksijen radikalleri" adı verilir. Son derece aktif olan bu radikaller başta hücre membranı ve DNA olmak üzere bir çok dokuya hasar verirler (Clark, Cowden ve Hunt 1985; Lovlin, Cottle, Pyke, Kavanagh, Belcastro, 1987; Slater, 1984). Birçok hastalığın etyopatogenezinde rol oynadıkları gösterilmiştir (Alessio ve Goldfarb, 1988; Davies, Quintanilha, Brooks ve Packer, 1982; Ji, 1995). Ancak doğa, yaşayan organizmalara serbest oksijen radikallerine karşı neredeyse mükemmel bir antioksidan savunma sistemi vermiştir. Bu sistem antioksidan vitaminler, glutatyon, sülfidril ve antioksidan enzimlerdir. Antioksidan enzimler süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX) dan oluşur. SOD oluşumu sırasında süperoksit anyonunu hidrojen perokside dönüştürürken, CAT ve GPX, hidrojen peroksiti suya çevirerek zararsız hale getirirler (Alessio ve Goldfarb, 1988; Davies ve arkadaşları, 1982; Ji, 1995).

Şiddetli fiziksel egzersizin oksijen kullanımını ve dolayısıyla serbest oksijen radikalleri oluşumunu dramatik bir biçimde arttırdığını gösteren güçlü kanıtlar vardır (Alessio ve Goldfarb, 1988; Davies ve arkadaşları, 1982). Son 20 yıldır özellikle deney hayvanlarında değişik süre ve şiddetlerdeki egzersiz ve antrenmanın antioksidan savunma sistemi üzerine etkilerini inceleyen birçok çalışma vardır (Alessio ve Goldfarb, 1988; Higushi, Cartier, Chen ve Holloszy, 1985; Jenkins, 1988; Ji, Dillon ve Wu, 1990; Kanaley ve Ji 1991; Oh-ishi ve arkadaşları, 1997; Ostenblad, Madsen ve Djurhuus, 1997; Powers ve arkadaşları, 1993; Powers ve arkadaşları, 1994). Genellikle antrenmanla iskelet kasındaki antioksidan enzimlerin bir adaptasyon gösterdiği gözlenmiştir. Birçok araştırmacı antrenmanla SOD enziminde artış gösterirken (Higushi ve arkadaşları, 1985; Leewenbourg, Fiebig, Chandwaney ve Ji 1994; Powers ve arkadaşları, 1993; Powers ve arkadaşları, 1994, Quintanilha, 1984), CAT enzimindeki bulgular değişkendir. Bazı araştırmacılar antrenmanla CAT enzim aktivitesinde artış (Jenkins, 1988; Quintanilha, 1984) veya azalma saptarken (Kihlstrom, Ojala ve Salminen, 1989; Laughlin ve arkadaşları, 1990; Leewenbourg ve arkadaşları, 1994) bazı araştırmacılar da değişim saptamamışlardır (Powers ve arkadaşları, 1993; Powers ve arkadaşları, 1994). Literatürdeki insan çalışmaları oldukça sınırlı ve sonuçları tartışmalıdır (Clark ve arkadaşları, 1995; Jenkins, 1988; Mena ve arkadaşları, 1991; Tiidus, Pushkarenko ve Houston, 1996)

Sunulan çalışma aerobik egzersiz protokolleri ile gerçekleştirilen antrenman programının antioksidan savunma üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla planlanmıştır.

YÖNTEM

Çalışmaya 18-21 yaşlarında sedanter yaşayan 14 sağlıklı erkek gönüllü katıldı (boy= 180. 9 ± 4.6 cm, ağırlık = 80.3 ± 11.6 kg). Bisiklet ergometresinde (Monark 814 E), maksimal kalp atım sayısının %75'ine uyan şiddette, 30 dakika süren egzersiz uygulandı. Egzersiz protokolü 6 hafta boyunca, haftada 3 kez tekrarlandı. 3. hafta sonunda kalp atımını maksimal değerin %75'inde tutmak amacıyla deneklerin yükleri yeniden ayarlandı.

Dayanıklılık ve Antioksidan Savunma

İlk egzersiz ile 3. ve 6. hafta sonunda gerçekleştirilen egzersizden önce ve sonra antekubital venden alınan kan örneklerinde eritrosit SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile trombosit maldialdehit (MDA) düzeyleri değerlendirildi.

Eritrosit SOD aktivitesi Winterbourn, Hawkins, Brian ve Carrel tarafından (1975) geliştirilen fotoredükte riboflavinden açığa çıkan süperoksit radikalleriyle oluşan NBT redüksiyonunun inhibisyonuna dayanan metotla, eritrosit CAT aktivitesi H_2O_2 'in enzimatik dekompozisyonuna dayalı spektrofotometrik yöntemle saptandı (Aebi, 1984). Trombosit MDA düzeyi, Panse ve arkadaşlarının (1985) geliştirdiği metotla değerlendirildi. Eritrosit, lökosit ve trombosit sayımları Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Labaratuvarında yapıldı. Maksimal oksijen tüketimi (VO_2 max) Astrand Rhything nomograma göre indirekt olarak saptandı (Astrand ve Rodahl, 1986).

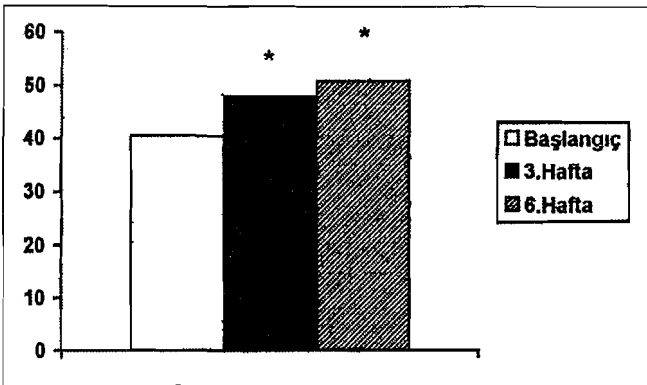
İstatistiksel analiz iki eş arasındaki farkın önemlilik testiyle gerçekleştirildi.

BULGULAR

Deneklerin eritrosit, trombosit ve lökosit değerleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Sadece ilk egzersiz sonundaki eritrosit sayısında bir artış olurken ($p<0.05$), trombosit ve lökosit değerlerinde değişim saptanmadı. Antrenmanın 3. ve 6. haftası sonunda bireylerin maksimal oksijen tüketimlerinde anlamlı bir artış saptandı ($p<0.05$) (Şekil 1).

Tablo 1: İlk egzersiz, antrenmanın 3. ve 6. haftası sonunda egzersizden önce (Eg. Önce) ve sonra (Eg. Sonra) eritrosit ($\times 10000/mm^3$), trombosit ($\times 1000/mm^3$) ve lökosit ($/mm^3$) değerleri
*= $p<0.05$

	İlk Egzersiz		3. Hafta		6. Hafta	
	Eg. Önce	Eg. Sonra	Eg. Önce	Eg. Sonra	Eg. Önce	Eg. Sonra
Trombosit	144.1±50.2	153.3±53.6	155.8±49.1	177.7±51.7	136.9±51.9	150.0±62.9
Eritrosit	507.5±40.6*	530.4±60.6	473.8±65.3	475.1±39.9	497.4±27.6	508.3±34.2
Lökosit	6344±1929	6578±1806	5456±1313	5644±789	5570±1288	6750±1752

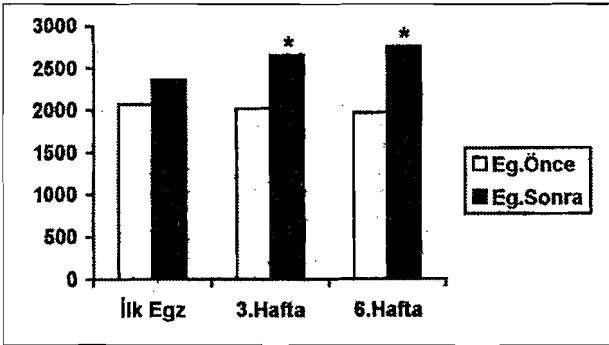


Şekil 1: Başlangıçta, antrenmanın 3. ve 6. haftası sonunda saptanan VO_2 max ($ml.kg^{-1}$) değerleri. * $p<0.05$ (başlangıç değerlerine göre artış ifade etmektedir.)

İlk egzersizden sonra eritrosit SOD ve CAT aktivitesinde anlamlı değişiklik olmadı. 3. ve 6. hafta sonunda egzersiz sonrası eritrosit SOD aktivitesinde önemli derecede artma ($p<0.05$) (Şekil 2) saptanırken, eritrosit CAT aktivitesi ve trombosit MDA düzeyinde değişiklik olmadı. Bulgular Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2: İlk egzersiz, antrenmanın 3. ve 6. haftası sonunda egzersizden önce (Eg. Önce) ve sonra (Eg.Sonra) eritrosit SOD (U/gHb), CAT (k/gHb) ve trombosit MDA (nanomol/ 10^9 trombosit) enzim aktiviteleri. * = $p<0.05$

	İlk Egzersiz		3. Hafta		6. Hafta	
	Eg. Önce	Eg. Sonra	Eg. Önce	Eg. Sonra	Eg. Önce	Eg. Sonra
SOD	2067±371	2364±653	2021±823*	2657±1269	1973±711*	2749±1075
CAT	241±129	307±115	263±121	269±115	269±145	255±129
MDA**	7.78±3.15	9.17±4.28	5.44±2.61	6.99±1.99	9.32±8.25	7.55±3.09



Şekil 2: İlk egzersiz, antrenmanın 3. ve 6. haftası sonunda egzersizden önce (Eg. Önce) ve sonra (Eg. Sonra) eritrosit SOD (U/gHb) aktiviteleeri. * $p<0.05$

TARTIŞMA

Sunulan çalışmada bisiklet ergometresinde gerçekleştirilen 30 dakikalık %75 VO_2 max şiddetindeki akut egzersiz, sedanterlerde SOD aktivitesinde artışa neden olmakla beraber bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. CAT aktivitesinde ise değişim saptanmamıştır.

Çeşitli çalışmalarda, ratlarda akut egzersizle iskelet kasında (Ji ve arkadaşları, 1990; Lawler ve arkadaşları, 1993), karaciğerde (Allesio ve Goldfarb, 1988; Ji, Stratman ve Hardy, 1988), kalpte (Ji, 1995; Powers ve arkadaşları, 1993; Powers ve arkadaşları, 1994) SOD enzim aktivitesinde artış bulunmuştur. CAT enzimi ile ilgili bulgular son derece çelişkili olmakla beraber, genel görüş değişim olmadığı yönündedir (Ji, 1995).

Çalışmamızda 3 ve 6 haftalık antrenman sonunda egzersiz sonrası SOD değerleri artarken, CAT değerlerinde değişiklik saptanmadı. Literatürde de benzer çalışmalar vardır. Anabilim Dalımızda aynı protokolle uygulanan 15 dakikalık akut egzersizin her iki enzimin aktivitesinde de önemli artmaya yol açtığı gözlenmiştir (Fırcıcılar, 1993). Ohno ve çalışma arkadaşları (1988), genç sedanter bireylerde yaptıkları ve çalışmamızdakine benzer protokolle gerçekleştirdikleri antrenman programı sonrasında SOD ve CAT aktivitesinde önemli değişiklik bul-

Dayanıklılık ve Antioksidan Savunma

mamışlardır. Bu araştırmacılar sadece 30 dakikalık submaksimal egzersiz sonrası eritrosit glutamat redüktaz (GR) aktivitesinde önemli artış saptamışlardır. Kanter ve arkadaşları (1985), 9 haftalık yüzme antrenmanından sonra SOD ve CAT aktivitesinde önemli bir değişim gözlemezken, 21 haftalık yüzme antrenmanından sonra SOD ve CAT aktivitesinde önemli bir artış bildirmişlerdir. Jenkins (1988), yaptıkları çalışmalarında antrenmana pozitif adaptasyon olarak yorumladıkları, iskelet kası SOD ve CAT enzim aktivitelerinde artış saptamıştır. Tiidus ve arkadaşları (1996), haftada 3 kez, 8 hafta süreyle %70 VO₂ max şiddetinde 30 dakika süreyle antrenman yaptırdıkları erkek ve kadınlarda, vastus lateralis kasında sitrat sentaz (CS), SOD, CAT ve GPX enzim aktivitelerini değerlendirmiş, sadece CS aktivitesinde artış saptamışlardır. Ostenblad ve arkadaşları (1997), sıçrama antrenmanlarının kasta CAT enziminin aktivitesini değiştirmedığını, SOD, GPX ve GR enzim aktivitelerini artırdığını saptamıştır. Oh-ishi ve arkadaşları (1997), antrenmanla ratlarda MnSOD izoformunun arttığını, CAT ve GPX'in değişmediğini göstermiştir. Powers ve arkadaşları (1993), antrenmanla ratlarda CAT ve GPX aktivitelerinde değişim saptamazken, SOD aktivitesinde yüksek şiddetteki aktivitelerde kalp kasında artış saptamışlardır. Ayrıca egzersize antioksidan yanıtın egzersizin şiddeti ve süresiyle ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Powers ve arkadaşları, 1994). Mena ve arkadaşları (1991), antrenmanlı bireylerde antrenmanla eritrosit SOD aktivitesinde artış, CAT aktivitesinde azalma saptamışlardır. Kanaley ve Ji (1991), %60 VO₂ max şiddetindeki 90 dakikalık egzersiz boyunca CAT ve GPX enzimlerinin seviyelerini araştırmışlardır. CAT seviyesinin 30-60 dakikalar arası düştüğü sonra tekrar yükselmeye başladığını, GPX seviyesinde egzersiz boyunca değişmediğini saptamışlardır. Tüm bu bulgular bulgularımızla uyum göstermektedir.

MDA, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Allesio ve Goldfarb, 1988; Cao ve Chen, 1991; Ostenblad ve arkadaşları, 1997). Çalışmamızda antrenman, trombosit MDA aktivitesi üzerine herhangi bir değişim yaratmamıştır. Bu bulgu sadece trombosit için geçerli olabilir. Nitekim Allesio ve Goldfarb (1988) denek hayvanlarında yaptıkları çalışmada dayanıklılık antrenmanlarının antioksidan savunmayı artırıcı, lipid peroksidasyonu azaltıcı etkiye sahip olduğunu gözlemişlerdir. Cao ve Chen de (1991) benzer bulguları saptamışlardır.

Yüksek miktarda oksijen kullanan dokularda antioksidan enzimlerinin miktarının da fazla olduğu bulunmuştur. En fazla antioksidan enzim seviyesinin karaciğerde olduğu, bunu dalak ve beyin izlerken, iskelet kası ve kalpte bu seviyenin diğerlerinin ancak yarısı kadar, eritrositte ise bunlardan daha az olduğu gösterilmiştir (Ji, 1995). İnsan çalışmaları ancak kanda ve iskelet kasında yapılabilmektedir. Farklı dokularda, farklı şiddetlerde yaptırılan egzersizlere farklı yanıtların olması elbette doğaldır. Çalışmaların sayısının artması ile karşılaştırma olana-

đı daha da artacaktır. Bulgularımız ve literatür verileri, aerobik egzersiz programları ile gerçekleştirilen antrenmanla, bireylerin antioksidan enzim savunma kapasitesinin geliştirebileceğini, yani pozitif bir adaptasyonu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. **Methods In Enzymology**, 105, 121-6.
- Alessio H. M.& Goldfarb A.H. (1988). Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: Adaptive response to training. **J Appl. Physiol.** 64:1333-6.
- Astrand, P. O.& Rodahl, K. (1986). **Textbook of work physiology**. 3 rd ed. New York: Mc Graw Hill.
- Cao, G. & Chen, J. (1991). Effects of dietary zinc on free radical generation, lipid peroxidation, and superoxide dismutase in trained mice. **Arch. Biochem. Biophys.** 291 (1)147-53.
- Clark, I. A., Cowden, W. B. & Hunt, N. H. (1985). Free radical-induced Pathology. **Med. Res. Rev.** 5:297-332.
- Davies, K. J. A., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A. & Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage by exercise. **Biochem. Biophys. Res. Com.** 107:1198-1205
- Fıçıcılar H. (1993). Sedanterlerde ve antrenmanlı bireylerde submaksimal egzersizin eritrosit süperoksit dismutaz ve katalaz enzim aktiviteleri üzerine etkisi. **J. Fac. Med. Univ. Ankara.** 46(2): 287-300
- Higushi, M., Cartier, L. J., Chen, M. & Holloszy, J. O. (1985). Superoxide dismutase and catalase in skeletal muscle: Adaptive response to exercise. **J. Gerontol.** 40:281-86.
- Jenkins, R.R. (1988). Free radical chemistry. Relationship to exercise. **Sports Med.** 5(3):156-70.
- Ji, L. L.. (1995). Exercise and oxidative stress: Role of cellular antioxidant systems: **Exercise and Sport Science Reviews**, edited by J. O. Holloszy. Baltimore, MD: Williams and Wilkins, vol 23 p135-66
- Ji, L. L., Dillon, D., Wu, E. (1990). Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver. **Am. J. Physiol.** 258:R918-R923.
- Ji, L. L., Stratman, F. W., Lardi, H. A. (1988). Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise. **Arch. Biochem. Biophys.** 263(1):150-60.
- Kanaley, J. A., Ji, L. L. (1991). Antioxidant enzyme activity during prolonged exercise in amenorrheic and eumenorrheic athletes. **Metabolism.** Vol. 40, 1:88-92.
- Kanter, M. M., Hamlin, R. L., Unverfelt, D. V., Davies, H. W., Merola, A. J. (1985). Effect of exercise training on antioxidant enzymes and carditoxicity of doxorubicin. **J. Appl. Physiol.** 59(4): 1298-1303.
- Kihlstrom, M., Ojala, J., Salminen, S. (1989). Decreased level of cardiac antioxidants in endurance-trained rats. **Acta Physiol. Scand.** 135:549-54.
- Laughlin, M. H., Simpson, T., Sexton, W. L., Brown, O. R., Smith, J. K., Kortius, R. J. (1990). Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. **J. Appl. Physiol.** 68:2337-43.
- Lawler, J., Powers, S. K., Visser, T., Van Dijk, H., Kortius, M. J., Ji, L. L. (1993). Acute exercise and skeletal muscle antioxidant and metabolic enzymes: effect of fiber type and age. **Am. J. Physiol.** 265:R1344-R1350.
- Leewenbourg, C., Fiebig, R., Chandwaney, R., Ji, L. L. (1994). Aging and exercise training in skeletal muscle: response of glutathione and antioxidant enzyme systems. **Am. J. Physiol.** 267:R439-R445.
- Lovlin, R., Cottle, W., Pyke, I., Kavanagh, M., Belcastro, A. N. (1987). Are indices of free radical damage related to exercise intensity. **European Journal of Applied Physiology** 56:313-16.
- Mena, P., Maynar, M., Gutierrez, J. M., Maynar, J., Timon, J., Campillo, J. E. (1991). Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers. Adaptation to training. **Int. J. Sport Med.** 12(6) 563-6.

Dayanıklılık ve Antioksidan Savunma

- Oh-ishi, S., Kizaki, T., Nagasawa, J. ve ark. (1997). Effects of endurance training on superoxide dismutase activity, content and mRNA expression in rat muscle. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.** 24:326-32.
- Ohno, H., Yahata, T., Sato, Y., Yamamura, K., Tanuguchi, N. (1988). Physical training and fasting erythrocyte activities of free radical scavenging enzyme systems in sedentary men. **J. Appl. Physiol.** 57:173-6, 1988
- Ohno, H., Sato, Y., Yamashita, K. ve ark.. (1986). The effect of brief physical exercise on free radical scavenging enzyme systems in human red blood cells. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** 165:1263-65,
- Ostenblad, N., Madsen, K., Djurhuus, M. S. (1997). Antioxidant status and lipid peroxidation after short term maximal exercise in trained and untrained humans. **Am. J. Physiol.** 272: R1258-R1263.
- Panse, M., Block, H. U., Forster, L., Meart, H.J. (1985). An improved malondialdehyde assay for estimation of thromboxane synthetase activity in washed human blood platelets. **Prostaglandins**, 30:1031.
- Powers, S. K., Criswell, D., Lawler, J. ve ark. (1993). Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. **Am. J. Physiol.** 265:H2094-H2098.
- Powers, S. K., Criswell, D., Lawler, J. ve ark. (1994). Influence of exercise fiber type on antioxidant enzyme activity in skeletal muscle. **Am. J. Physiol.** 266:R375-R380.
- Quintanilha, A. T. (1984). The effect of physical exercise and/or vitamin E on tissue oxidative metabolism. **Biochem. Soc. Trans.** 12:403-404.
- Slater, T. F. (1984). Free radical mechanisms in tissue injury. **Biochem. J** 222:1-15.
- Tiidus, P.M., Pushkarenko, J., Houston, M. E. (1996). Lack of antioxidant adaptation to short term aerobic training in human muscle. **Am. J. Physiol.** 271:R832-R836.
- Winterbourn, C.C., Hawkins, R. E., Brian, M., Carrel, R. W. (1975). The estimation of red cell superoxide dismutase activity. **J. Lab. Clin. Med.** 85:337-41.