

SPRINT EGZERSİZİNİN FARE İSKELET KASINDA LİPİD PEROKSİDASYONUNA ETKİSİ

Berkant Muammer Kayatekin*, Osman Açıkgöz*, Sevil Gönenç*,
Nazan Uysal*, Ataç Sönmez*

ÖZET

Egzersiz lipid peroksidasyonuna etkisini araştıran çok sayıda çalışma olmasına karşın; sprint egzersizinin lipid peroksidasyonuna etkisi ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Bu çalışma, sprint egzersizinin fare iskelet kasında lipid peroksidasyonuna etkisini incelemek amacıyla planlandı. Fareler (n=10) kontrol ve egzersiz grubu olarak ayrıldı. Egzersiz grubundaki fareler 5° eğimdeki koşu bandında 35 m/dk hızda 15 kez, 30 saniye koşturulup 30 saniye dinlendirildiler. Kontrol grubundaki fareler egzersiz yapılmadan, egzersiz grubundakiler ise egzersiz bitiminde hemen dislokasyonla öldürüldüler. Gastroknemius kasları hızlı bir şekilde çıkarıldı. Kan laktik asid ve tiyobarbitürik asidle reaksiyona giren madde düzeylerinin egzersizden hemen sonra yüksek olduğu saptandı. Sonuç olarak, akut sprint egzersizinin iskelet kasında oksidatif strese yol açabileceği düşünüldü.

Anahtar sözcükler: Sprint egzersizi, laktik asid, fare, TBARS

SUMMARY

EFFECT OF SPRINT EXERCISE ON LIPID PEROXIDATION LEVEL IN MOUSE SKELETAL MUSCLE

Large number of studies have tested the effect of exercise regimens on lipid peroxidation, but information on the effect of sprint exercise on tissue lipid peroxidation levels is rare. The present study was designed to determine the effect of sprint exercise on lipid peroxidation in skeletal

* Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İzmir

muscle. Mice of experimental group were made to run on the 5° slope treadmill for a 30-s effort at 35 m/min, with a 30-s rest interval. This procedure was applied for 15 bouts. They were killed by dislocation, immediately after the exercise. Their gastrocnemius muscle was quickly removed. Blood lactate and muscle thiobarbituric acid reactive substances levels increased immediately after exercise. In conclusion, acute sprint exercise can cause oxidative stress in skeletal muscle.

Keywords: Sprint exercise, blood lactate, mouse, TBARS

GİRİŞ

Fiziksel egzersiz esnasında vücudun enerji ihtiyacı artar ve aktif dokulara istirahat durumuyla kıyaslandığında çok daha fazla oksijen sağlanması gerekir. Böyle bir durumda vücudun oksijen tüketimi dinlenme düzeylerinden 10-15 kat daha yüksek olur. Oksijen kökenli radikaller metabolik olaylar sırasında oluşmaktadır. Oksijenin çoğu mitokondride ATP üretimi için kullanılır, fakat oksidatif fosforilasyon esnasında oksijen her zaman tam olarak indirgenemez, böylece bir miktar süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali oluşur. Bunların tümü reaktif oksijen türleri (ROS) olarak sınıflandırılır ve oksidatif stres olarak adlandırılan biyokimyasal ve fizyolojik değişikliklerden sorumludurlar. ROS biyolojik membranlarda ve kanda doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonuna yol açarak, hücre fonksiyonlarında değişikliklere neden olur. Lipid peroksidasyonu son ürünlerinden biri olan malondealdehid (MDA), tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddeler (TBARS) grubunun en önemlisidir (4).

Ağır fiziksel egzersiz çeşitli dokularda oksidatif hasara neden olur (9). Tekrarlayan yüksek şiddetteki egzersiz rejimleri çok miktarda laktik asit oluşturur (11). İskelet kası, egzersiz sırasında ve sonrasında kan laktatının temizlenmesinde en önemli dokudur (10). Aralıklı egzersiz uygulamaları sırasında aktivasyon şiddeti ve çalışan motor kas lifi sayısı ile orantılı olarak kanda laktik asit miktarı artar (6). Bu tip egzersiz geleneksel olarak anaerobik kabul edilmesine karşın; aerobik yararlar da oluşturur. Çünkü bu yöntemde dinlenme periyotları o kadar kısadır ki tam olarak toparlanma sağlanamaz, böylece toparlanma periyodunda aerobik sisteme gereksinim olur (11).

Egzersiz lipid peroksidasyonuna etkisini inceleyen birçok çalışma bulunmasına karşın, aralıklı egzersiz yönteminin lipid peroksidasyo-

nuna etkileri ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Bu çalışma; akut aralıklı sprint egzersizinin, iskelet kası dokularında lipid peroksidasyonuna etkisini incelemek amacıyla planlandı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Deney hayvanları

Çalışmada 35.6 ± 0.8 g (Ort. \pm SE) ağırlığında erkek Balb-c fareler (n=10) kullanıldı. Fareler 12 saat aydınlık (07:00-19:00), 12 saat karanlık (19:00-07:00) ortamda barındırıldı, standart pellet yemlerinde ve içme sularında kısıtlama yapılmadı. Araştırma, Dokuz Eylül Üniversitesi Deneysel Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'nun kurallarına uygun olarak yürütüldü.

Egzersiz programı

Farelerin koşu egzersizleri için üç adet küçük hayvan koşu bandı kullanıldı. Tüm deneyler saat 09:00-12:00 arasında yapıldı. On adet fare rastgele seçilerek iki eşit gruba ayrıldı. Deney öncesi, fareler beş gün süreyle 5° eğimdeki küçük hayvan koşu bandında 15 m/dk hızda, günde 5 dk koşmaya alıştırdıldıktan sonra iki gün dinlendirildiler. Deney günü egzersiz grubundaki farelere (n=5) 5° eğimde 35 m/dk hızda, 30 saniye koşu, 30 saniye dinlenme şeklindeki aralıklı egzersiz protokolü uygulandı. Egzersiz protokolü ardarda onbeş kez tekrarlandı.

Doku örnekleme

Egzersiz grubundaki farelere egzersizi takiben hemen, kontrol grubuna ise egzersiz yaptırılmadan servikal dislokasyon uygulandı. Egzersizden hemen sonra farelerin kan laktik asid düzeylerini saptamak için kalplerinden kan alındı. Gastroknemius kası buzla soğutulmuş zemin üzerinde hızlı bir şekilde çıkarılarak distile su ile hemen yıkandı, görünür pıhtılar kan kontaminasyonunu en aza indirmek amacıyla uzaklaştırıldı. Doku homojenatları Carrillo ve ark.'nın yöntemine göre buzlu ortamdaki distile suda 1 dk ultrasonik homojenizatörde (Vibracell, Sonics Material) hazırlandı (3). Homojenatlar TBARS düzeyleri 15 gün içinde ölçülene kadar -85 °C'de saklandı.

TBARS düzeyinin belirlenmesi

TBARS düzeyleri Rehncrona ve ark.'nın yöntemine göre ölçüldü (8). Buna göre 0.5 ml homojenat, 0.5 ml triklorasetik asid (20 % w/v) ile

ekstrakte edildi. Santrifüje edildikten sonra, 1 ml tiyobarbitürik aside (0.67 % w/v) 0.9 ml süpernatant eklendi. Örnekler kaynar suda 10 dk bekletildi. Örnekler soğutulduktan sonra 532 nm'de absorbansları okundu. 1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane ile standart eğri hazırlandı ve homojenatın değeri bu eğriden okundu. Sonuçlar nmol/mg protein olarak ifade edildi.

Protein konsantrasyonunun belirlenmesi

Homojenatların protein içeriği pirogallol red ile kompleksleşmeye dayanan total protein kiti kullanılarak 600 nm'de spektrofotometrik yöntemle saptandı (Randox Labs, Crumlin, UK).

Kan laktik asid düzeyinin saptanması

Kan örnekleri şırınga ile hızlı bir şekilde kalpten alındı. Ölçümler elektrometrik laktat analizöründe yapıldı (Yellow Springs Instruments, Model 23L).

İstatistiksel analiz

Sonuçlar ortalama \pm standart hata (SE) olarak ifade edildi. İstatistiksel değerlendirmede Mann-Whitney U testi kullanıldı.

SONUÇLAR

Egzersiz kan laktik asid düzeyine etkisi incelendiğinde; egzersizden hemen sonra arttığı saptandı ($p < 0.05$). İskelet kası TBARS düzeyi de egzersizden hemen sonra arttı ($p < 0.05$). Kan laktik asid düzeyleri ve iskelet kası TBARS değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Kan laktik asid ve iskelet kası TBARS düzeyleri (Ort. \pm SE).

| Gruplar | Laktat (mmol/l) | TBARS (nmol/mg protein) |
|----------------|------------------|-------------------------|
| Kontrol (n=5) | 7.55 \pm 0.27 | 0.35 \pm 0.04 |
| Egzersiz (n=5) | 9.54 \pm 0.56* | 0.52 \pm 0.05* |

* Kontrolde $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı şekilde yüksek

TARTIŞMA

TBARS, lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve vücuttaki serbest radikal oluşumundaki artışın saptanmasında kullanılan en önemli parametredir (4). Bu çalışmada, kas TBARS düzeyi egzersizden hemen

sonra arttı ($p<0.05$). Egzersizle iskelet kasında lipid peroksidasyonunun arttığını gösteren bir çok çalışma vardır (9). Çoğu çalışmada uzun süreli submaksimal egzersiz yöntemi kullanılmıştır. Fakat maksimal bir egzersizin de bol miktarda serbest radikal oluşturması ve doku hasarı yapması olasıdır (7). Sprint egzersizinin lipid peroksidasyonuna etkisi ile ilgili bilimsel literatür kısıtlıdır (5). Alessio ve ark., 45m/dk hızda, 1 dk süreyle yaptırılan sprint egzersizinden sonra sıçan iskelet kasında MDA düzeylerinde artış gösterdiler (1). Marzatico ve ark., insanlarda sprint egzersizi sonrası toparlanma periyodu sırasında kanda lipid peroksidasyonu düzeyinde artış buldular (5).

Bu çalışmada, kan laktik asid düzeyinin egzersizden hemen sonra arttığı saptandı ($p<0.05$). Demir, Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitle birleşerek hidroksil radikali oluşturur. Hidroksil radikali canlı hücredeki hemen hemen her moleküle (DNA, membran lipidleri ve karbonhidratlar) çok hızlı reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna yol açar (4). Dokulardaki laktik asidozun olası bir etkisi de proteine bağlı demirin ayrılmasını sağlayarak serbest radikal oluşumunu uyarmaktır (2). Bu nedenle, bu çalışmada iskelet kasındaki TBARS düzeylerindeki artış egzersizle laktik asid düzeyinin yükselmesinden kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak; bu çalışmada aralıklı sprint egzersizi protokolünün iskelet kasında lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan TBARS düzeylerinde bir artışa neden olduğu gösterildi. Egzersiz sonucu biriken laktik asidin, proteine bağlı demirin ayrılmasını, sağlayarak TBARS düzeylerindeki artışa neden olabileceği düşünüldü.

KAYNAKLAR

1. Alessio HM, Goldfarb AH, Cutler RG: MDA content increases in fast- and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. *Am J Physiol* **255**: C874-7, 1988.
2. Ali MA, Yasui F, Matsugo S, Konishi T: The lactate-dependent enhancement of hydroxyl radical generation by the Fenton reaction. *Free Radic Res* **32**: 429-38, 2000.
3. Carrillo MC, Kanai S, Nokubo M, Kitani K: (-)Deprenyl induces activities of both superoxide dismutase and catalase but not of glutathione peroxidase in the striatum of young male rats. *Life Sciences* **48**: 517-21, 1991.
4. Halliwell B, Gutteridge JMC: *Free Radicals in Biology and Medicine* 3rd ed, NewYork, Oxford University Press Inc., 1999, pp. 246-350.
5. Marzatico F, Pansara O, Bertorelli L, Somenzini L, Della Valle G: Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and

- lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *J Sports Med Phys Fitness* **37**: 235-9, 1997.
6. McArdle WD, Katch FI, Katch VL: *Exercise Physiology*, 4th ed, Maryland, Williams and Wilkins, 1996, pp. 393-415.
 7. Ørtenblad N, Madsen K, Djurhuus MS: Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. *Am J Physiol* **273**: R1258-63, 1997.
 8. Rehncrona S, Smith DS, Akesson B, Westerberg E, Siesjo BK: Peroxidative changes in brain cortical fatty acids and phospholipids, as characterised during Fe²⁺ and ascorbic acid-stimulated lipid peroxidation in vitro. *J Neurochem* **34**: 1630-8, 1980.
 9. Sen CK: Oxidants and antioxidants in exercise: *J Appl Physiol* **79**: 675-86, 1995.
 10. Weltman A: *The Blood Lactate Response to Exercise*. Illinois, Human Kinetics, 1995, pp. 15-27.
 11. Wilmore JH, Costill DL: *Physiology of Sport and Exercise*. 2nd ed, Illinois, Human Kinetics, 1999, pp.185-203.