

## **SEDANTER ERKEKLERDE SUPRAMAKSİMAL VE BASAMAKLI EGZERSİZLERDE ERİTROSİT ANTIOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ\***

Ali Murat Zergeroğlu\*\*, Gülriz Ersöz\*\*\*, Sema Yavuzer\*\*\*

### **ÖZET**

Bu çalışma, insanlarda anaerobik ve aerobik egzersizin antioksidan enzim aktivitelerini araştırmak için planlanmıştır. Yaşları 18-22 arasında değişen 15 sağlıklı, sedanter, erkek gönüllüye, bisiklet ergometresinde iki farklı test (supramaksimal ve basamaklı) uygulanmıştır. Egzersizden önce ve sonra eritrosit superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX) enzim aktiviteleri değerlendirilmiştir. Supramaksimal egzersiz için bisiklet ergometresinde 30 saniyelik maksimal efordan oluşan Wingate testi seçilirken, basamaklı egzersize bisiklet ergometresinde 50 W yüküyle başlanmış ve her üç dakikada bir iş yükü 50 W arttırılmış, test bitkinliğe kadar sürdürülmüştür. Kan örnekleri deneklerin antekübital venlerinden egzersizden önce ve sonra alınmıştır. Basamaklı egzersizden sonra eritrosit SOD enzim aktivitesi anlamlı düzeyde artarken ( $p<0.05$ ), CAT ve GPX düzeyleri değişmemiştir. Wingate testinden sonra eritrosit GPX enzim aktivitesi anlamlı olarak düşerken ( $p<0.05$ ), SOD ve CAT düzeyleri değişmemiştir. Sonuçlarımız supramaksimal egzersizin önemli bir oksidan strese yol açtığını, bu tip egzersizde GPX'in antioksidan savunmada önemli rolü olduğunu göstermektedir.

**Anahtar sözcükler:** Wingate testi, basamaklı egzersiz, SOD, CAT, GPX

---

\* Bu çalışmanın bir bölümü FASEB kongresinde (18-22 Nisan 1988, San Francisco, ABD) poster bildiri olarak sunulmuştur.

\*\* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Spor Hekimliği Anabilim Dalı

\*\*\* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

## SUMMARY

### ERYTHROCYTE ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY FOLLOWING SUPRAMAXIMAL AND INCREMENTAL EXERCISES IN SEDENTARY MAN

*This study investigated the effects of anaerobic and aerobic exercise on antioxidant enzyme activities in sedentary men. Fifteen healthy male volunteers (aged 18-22) were subjected to two different tests (supramaximal and incremental) on the cycle ergometer. Erythrocyte superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPX) in were measured at rest and following exercise. The supramaximal exercise consisted of 30 sec maximal effort on a cycle ergometer (Wingate test). Incremental exercise started with 50 W on the cycle ergometer and every three minutes work load was increased by 50 W. Blood samples were taken from a forearm vein at rest and following exercise. Blood SOD enzyme activities increased significantly ( $p<0.05$ ) following incremental exercise. CAT and GPX at rest were not significantly different after the incremental exercise. SOD and CAT activities after the Wingate test were not significantly different from resting values. GPX activities decreased significantly ( $p<0.05$ ) following the Wingate test. These data suggest that supramaximal exercise caused significant oxidant stress, and that GPX and glutathione have an important role.*

**Key words:** Wingate test, incremental exercise, SOD, CAT, GPX

## GİRİŞ

Yaşamımızı sürdürebilmemiz için zorunlu olarak tükettiğimiz oksijenin metabolizması sırasında, süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^-$ ) oluşur. Serbest oksijen radikalleri denilen son derece aktif olan bu maddeler, organizmada başta hücre membranı ve DNA olmak üzere birçok dokuya hasar verirler (5,6, 17). Atherosklerozis, retinopatiler, kas distrofleri, bazı kanserler, diabet, yaşlılık, Alzheimer hastalığı gibi birçok hastalığın etyopatogenezinde rol oynadıkları gösterilmiştir (2,9,25). Organizma serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerine karşı enzimatik ve nonenzimatik savunma sistemlerine sahiptir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX) enzimleri, enzimatik antioksidan savunmayı oluştururlar. SOD

süperoksit anyonunu hidrojen peroksite dönüştürürken, CAT ve GPX, hidrojen peroksiti suya çevirerek zararsız hale getirirler (2,6,10).

Literatürde deney hayvanlarında antrenmanın, değişik süre ve şiddetlerdeki akut egzersizin antioksidan savunma sistemi üzerine etkilerini inceleyen birçok çalışma varken (2,8,10,13,15,19,21,22,23), supramaksimal egzersizin uygulanma zorluğu nedeniyle hayvan çalışmalarına rastlanmamıştır. İnsanlarda egzersiz ve oksidan stres ile ilgili yapılan çalışmalar hayvan çalışmalarına oranla hem sınırlı hem de sonuçları çelişkilidir (5,7,9,18,27). Supramaksimal egzersiz ve oksidan stres ile ilgili sadece iki çalışmaya rastlanmıştır (21,29).

Çalışmamızda supramaksimal ve basamaklı egzersizlerin intraselüler antioksidan savunma sistemi üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. İki farklı egzersiz programı uygulanan sedanter bireylerde eritrosit SOD, CAT ve GPX aktiviteleri incelenip karşılaştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi öğrencileri arasından seçilen 18-22 yaş grubundan ( $19.2 \pm 1.5$ ),  $178.0 \pm 6.3$  cm boylarında ve  $72.5 \pm 8.3$  kg ağırlığında 15 gönüllü, sağlıklı, sedanter erkek bireyle gerçekleştirildi. Bireylerin test öncesi 10 gün süreyle antioksidan savunmayı etkileyecek herhangi bir ilaç almamaları sağlandı. Testlerden önce bireylerin maksimal oksijen tüketimi ( $VO_2$  max) Astrand-Rhyming nomograma göre indirekt olarak saptandı (3).

Anaerobik kapasiteyi indirekt olarak saptamakta en çok kullanılan Wingate testi, çalışmamızda ilk egzersiz protokolünü oluşturdu. Bu protokol bireyin kilogramı başına 75 gramlık yükü yapılan 30 saniyelik supramaksimal bir aktivitedir. Basamaklı egzersize ise 50 W'lık bir yükü başlandı. Her üç dakikada bir iş yükü 50 W arttırıldı. Egzersiz bitkinliğe kadar sürdürüldü. İki test arasında bireylere en az bir günlük dinlenme verildi.

Her iki testte de dinlenme durumunda ve Wingate testi ve basamaklı egzersizden sonra deneklerin antekübital venalarından kan alındı. Eritrosit SOD aktivitesi Winterbourn, Hawkins, Brian ve Carrel tarafından

(28) geliştirilen fotoredükte riboflavinden açığa çıkan süperoksit radikal-leriyle oluşan NBT redüksiyonunun inhibisyonuna dayanan metodla; eritrosit CAT aktivitesi ise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in enzimatik dekompozisyonuna dayalı spektrofotometrik yöntemle saptandı (1). GPX, redükte glutatyonun okside glutatyonu hidrojen peroksitle oksidasyonu reaksiyonunu katalize eder. Eritrosit GPX enzim aktivitesini saptamak için geliştirilen yöntemde, okside glutatyon oluşum hızı, glutatyon redüktaz reaksiyonu sırasında oluşan NADPH oksidasyonunun takip edilmesi suretiyle saptandı (4). İstatistiksel analiz iki eş arasındaki farkın önemlilik testiyle gerçekleştirildi.

### BULGULAR

VO<sub>2</sub> max değerleri 39.7±8.3 ml/dk/kg olarak saptandı. Basamaklı egzersizden sonra eritrosit SOD enzim aktivitesi anlamlı düzeyde artarken (p<0.05), CAT ve GPX düzeyleri değişmemiştir. Wingate testinden sonra eritrosit GPX enzim aktivitesi anlamlı olarak düşerken (p<0.05), CAT enzim düzeyi değişmemiştir. SOD enzim aktivitesinde bir düşme gözlenmişse de bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Basamaklı egzersiz ve Wingate testinden önce ve sonra eritrosit SOD, CAT ve GPX değerleri (\*= p<0.05)

	Basamaklı egzersiz				Wingate testi			
	Önce		Sonra		Önce		Sonra	
SOD (U/gHb)	1971 ±	489	2786 ±	438*	2089 ±	581	1925 ±	511
CAT (k/gHb)	308.4 ±	99.7	377.3 ±	172.2	345.1 ±	78.9	332.1 ±	108.4
GPX (U/gHb)	3.62 ±	1.959	3.47 ±	1.54	5.70 ±	2.11	2.73 ±	1.32*

### TARTIŞMA

Çalışmamızda bisiklet ergometresinde gerçekleştirilen basamaklı egzersizle SOD enzim aktivitesinde artış gözlenirken CAT ve GPX enzim aktivitesinde değişim saptanmamıştır. Literatürdeki çeşitli çalışmalarda akut egzersizle iskelet kasında (11,17), karaciğerde (2,13), kalpte (10, 22,23) SOD enzim aktivitesinde artış bulunmuştur. Tüm çalışmalar

bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. Bunun yanında Mena ve ark. (18) ile Ohno ve ark. (20) akut egzersizle SOD enziminde herhangi bir değişim saptamamışlardır. CAT enzimi ile ilgili bulgular son derece çelişkili olmakla beraber genel görüş değişim olmadığı yönündedir (10). Ji ve ark. (12) farklı dokularda, glutatyon ve antioksidan enzim seviyelerinin farklı olduğunu göstermiştir. Egzersizle vastus lateralis kasında GPX ve CAT enzimleri artarken, soleus kasında hiçbir değişim bulunmamıştır. Bu çalışma organizmada farklı dokuların egzersize farklı antioksidan savunma yanıtı verdiğini göstermektedir. Kanely ve Ji (14) 90 dakikalık egzersiz sırasında CAT, GR ve GPX enzim seviyelerini incelemişlerdir. GR 90 dakika boyunca sürekli düşmüş, CAT egzersizin ilk 60 dakikasında sürekli düşmüş ve son 30 dakikada yeniden yükselmiş, GPX ise egzersiz boyunca hiç değişmemiştir. Çalışmamızda Wingate testinden sonra eritrosit GPX enzim aktivitesinde düşme saptanmıştır. SOD ve CAT enzim aktivitesi değişmemiştir.

Egzersiz süresinin ve şiddetinin antioksidan enzim savunma yanıtında önemli olduğu saptanmıştır (22,23). Bazı araştırmacılar antrenman ve submaksimal egzersizle GPX enzim aktivitesinde artış saptarken (2,13,16,18) bazıları değişim saptamamışlardır (7,22,27) Literatürdeki supramaksimal egzersiz ile ilgili yapılan çalışmalar son derece azdır. Ostenblat ve ark. (21) sedanterlerde supramaksimal egzersiz (Bosco sıçrama testi) sonrası sadece kreatin kinaz enziminde artış saptarken, SOD, GPX ve glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitelerinde değişim saptamamışlardır. Çalışmamızdaki GPX enzim aktivitesi azalması, supramaksimal egzersizin önemli miktarda serbest radikal oluşumuna, dolayısı ile de GPX enzimi kullanımı ve yıkılımına yol açtığını gösterir niteliktedir (6,9). Ji, artmış oksijen radikallerinin enzimin katalitik aktivitesini etkilemesini, enzimin allosterik ve kovalan modifikasyonu ile açıklamaktadır (10).

Memeli dokularında akut oksidatif strese akut oksidan enzim yanıtının gen ekspresyonunun hızlı regülasyonu gösterilememiştir (10). Yani bir başka deyişle sedanterlerde organizma çok hızlı oluşan bu oksidan strese aynı hızda yanıt verememektedir.

Çalışmamızın sonuçları sedanter bireylerde, aerobik tarzda olan basamaklı egzersizin tolere edilebildiğini, supramaksimal egzersizin ise

ciddi bir oksidan strese yol açtığını göstermektedir. Organizma oluşan bu hızlı oksidan strese aynı hızda yanıt verememektedir. Supramaksimal egzersizde antioksidan savunmada özellikle GPX ve glutatyon sisteminin daha önemli bir rolü olduğu kanısına varılmıştır. Ancak egzersiz ve oksidan stres alanında mekanizmalar hala açık değildir ve ileri araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

### KAYNAKLAR

1. Aebi H: Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* **105**: 121-6, 1984.
2. Alessio HM, Goldfarb AH. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. *J Appl Physiol* **64**: 1333-6, 1988.
3. Astrand PO, Rodahl K: *Textbook of Work Physiology*. 3rd ed., New York, Mc Graw Hill, 1986.
4. Beutler E: Glutathione peroxidase in red cell metabolism. In: *A Manual of Biochemical Methods*, Third edition, Grune&Stratton, New York, 1984, Part II, 3C: pp. 13-4.
5. Clark IA, Cowden WB, Hunt NH: Free radical-induced Pathology. *Med Res Rev* **5**: 297-332, 1985.
6. Davies KJA, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L: Free radicals and tissue damage by exercise. *Biochem Biophys Res Com* **107**: 1198-205, 1982.
7. Gohil K, Viguie C, Stanley WC, Brooks GA, Packer L: Blood glutathione oxidation during human exercise. *J Appl Physiol* **64**: 115-9, 1988.
8. Higushi M, Cartier LJ, Chen M, Holloszy JO: Superoxide dismutase and catalase in skeletal muscle: adaptive response to exercise. *J Gerontol* **40**: 281-6, 1985.
9. Jenkins RR: Free radical chemistry. Relationship to exercise. *Sports Med* **5**: 156-70, 1988.
10. Ji LL: Exercise and oxidative stress: role of cellular antioxidant systems. In: *Exercise and Sport Science Reviews*, vol 23, JO Holloszy, Ed., Baltimore MD, Williams and Wilkins, 1995, pp. 135-66.
11. Ji LL, Fu-R, Mitchell EW: Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *J Appl Physiol* **73**: 1854-9, 1992.
12. Ji LL, Dillon D, Wu E: Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver. *Am J Physiol* **258**: R918-23, 1990.
13. Ji LL, Stratman FW, Lardi HA: Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise. *Arch Biochem Biophys* **263**: 150-60, 1988.
14. Kanaley JA, Ji LL: Antioxidant enzyme activity during prolonged exercise in amenorrhic and eumenorrhic athletes. *Metabolism* **40**: 88-92, 1991.

15. Kanter MM, Hamlin RL, Unverfelt DV, Davies HW, Merola AJ: Effect of exercise training on antioxidant enzymes and cardiotoxicity of doxorubicin. *J Appl Physiol* **59**: 1298-303, 1985.
16. Leewenbourg C, Fiebig R, Chandwaney R, Ji LL: Aging and exercise training in skeletal muscle: response of glutathione and antioxidant enzyme systems. *Am J Physiol* **267**: R439-45, 1994.
17. Lovlin R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN: Are indices of free radical damage related to exercise intensity. *Eur J Appl Physiol* **56**: 313-6, 1987.
18. Mena P, Maynar M, Gutierrez JM, Maynar J, Timon J, Campillo JE: Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers. Adaptation to training. *Int J Sport Med* **12**: 563-6, 1991.
19. Oh-ishi S, Kizaki T, Nagasawa J, et al.: Effects of endurance training on superoxide dismutase activity, content and mRNA expression in rat muscle. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **24**: 326-32, 1997
20. Ohno H, Yahata T, Sato Y, Yamamura K, Tanuguchi N: Physical training and fasting erythrocyte activities of free radical scavenging enzyme systems in sedentary men. *J Appl Physiol* **57**: 173-6, 1988
21. Ostenblad N, Madsen K, Djurhuus MS: Antioxidant status and lipid peroxidation after short term maximal exercise in trained and untrained humans. *Am J Physiol* **272**: R1258-63. 1997.
22. Powers SK, Criswell D, Lawler J, et al.: Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am J Physiol* **265**: H2094-8, 1993.
23. Powers SK, Criswell D, Lawler J, et al.: Influence of exercise fiber type on antioxidant enzyme activity in skeletal muscle. *Am J Physiol* **266**: R375-80, 1994.
24. Quintanilha AT: The effect of physical exercise and/or vitamin E on tissue oxidative metabolism. *Biochem Soc Trans* **12**: 403-4, 1984.
25. Sen CK: Oxidant and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* **79**: 675-86, 1995.
26. Slater TF: Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* **222**: 1-15, 1984.
27. Tiidus PM, Pushkarenko J, Houston ME: Lack of antioxidant adaptation to short term aerobic training in human muscle. *Am J Physiol* **271**: R832-6, 1996.
28. Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrel RW: The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med* **85**: 337-41, 1975.
29. Zergeroğlu AM, Yavuzer S: Supramaksimal egzersizin eritrosit antioksidan enzimler üzerine etkisi. *Spor Bilimleri Dergisi* **8**: 13-24, 1997.