

Atletlerde Egzersizin Tükürük Alfa Amilaz Aktivitesi Üzerine Etkisi

The Effect of Exercise on the Salivary Alpha-Amylase Activity in Athletes

Güler Bugdaycı*

Bekir Yüktaşır**

Şerife Özen**

Hasan Birol Yalçın**

Gül Tiryaki Sönmez***

Hüsamettin Çakıcı****

* Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Bolu

** Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu, Bolu

*** Lehman College, Sağlık Bilimleri Bilim Dalı, New York, ABD

**** Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Bolu

Başvuru Tarihi: 27.12.2012

Kabul Tarihi: 06.03.2013

ÖZET

Amaç: Bu çalışma, tükürük alfa amilaz aktivitesinin egzersiz üzerine etkisi ve sempatik sinir sistemi ile ilişkisini göstermek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Yaşları 18-21 arası değişen altı erkek sporcu randomize çapraz desen (crossover design) ile 4 saatlik iki denemeye (kontrol ve egzersiz) katıldılar. Atletler egzersiz denemesinde, maksimum oksijen tüketiminin %50'sinde 105 dakika, ve maksimum oksijen tüketiminin %75'inde 15 dakika koşular ve daha sonraki 2 saat istirahat ettiler. Katılımcı sporcular kontrol denemesinde 4 saat boyunca istirahat ettiler. Verilerin analizinde tekrarlayan ölçümlerde iki yönlü varyans analizi kullanıldı.

Bulgular: Tekrarlı ölçümlerde iki yönlü varyans (ANOVA) analizi sonucu tAA'nin zamanla (Zaman: $F=20.332; 1.690, p<0.001$, etki alanı=0.670) her iki denemede de değiştiği (Deneme: $F=52.99; 1, p<0.001$, etki alanı=0.841) ve denemeler arasında da istatistiksel olarak anlamlı (Zaman x Deneme: $F=15.244; 1.690, p<0.001$, etki alanı=0.604) fark olduğu bulunmuştur.

Sonuç: Atletlerde, uzun süreli akut aerobik egzersizin sempatik sistem aktivitesine etkisi, tükürük alfa amilaz aktivitesinin artış algoritması ile gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Egzersiz; tükürük alfa-amilazlar; sempatik sinir sistemi

ABSTRACT

Objective: In this study, salivary alpha-amylase activity was measured to elaborate on sympathetic nervous system activity in athletes.

Materials and Methods: Six male subjects between 18-21 years of age participated in two 4-hour long trials (exercise and control) planned in a random crossover design. In the exercise trial, subjects ran for 105 minutes at 50% of maximum oxygen uptake and for 15 minutes at 75% of maximum oxygen uptake followed by a 120 min rest period. In the control trial, subjects rested for 4 h. Statistical analysis of the data was performed by two-way repeated measures analysis of variance during 4 hours of monitoring.

Results: Two-way repeated measures analysis showed a significant effect of time (Time; $F=20.332$, $p<0.001$), effect of trial (Trial; $F=52.99$, $p<0.001$) and effect of time and trial interaction (Trial & Time; $F=15.244$, $p<0.001$) for salivary alpha-amylase activity.

Conclusion: The fact that acute long-term aerobic exercise activates sympathetic nervous system was demonstrated by the algorithm of salivary alpha amylase activity increase in athletes.

Key Words: Exercise; salivary alpha-amylases; sympathetic nervous system

GİRİŞ

Egzersiz yaparken, tükürüğün değişen bileşenleri, immunglobulinler, hormonlar, proteinler ve elektrolitlerdir (1). Tükürük, bilhassa son yıllarda biyokimyasal ve fizyolojik algoritmayı açıklamaya yönelik çalışmalarda, örnek alınımının kolaylığı bakımında tercih edilmektedir (2). Tükürük alfa-amilazı (tAA), temel olarak parotis bezinde sentezlenen, tükürük bezinde üretilen tüm proteinlerin %10-20 kadarını oluşturmaktadır (3). tAA, konakçı savunmasında bazı bakterilerin hem büyümesini hem sağlam dokuya yapışmasını engelleme işlevi vardır (4). Hem sempatik hem de parasempatik innervasyonu olan tükürük bezlerinin, nörotransmitter stimülasyonuna cevap olarak tükürük bezlerinden salgılanan tAA düzeyi sempatik aktiviteyi göstermektedir (5-7). Son çalışmalarda, sempatoadrenal medullar aktivitenin potansiyel indirekt belirteci olarak görülen tAA'nın egzersiz sırasında aktivitesinin değiştiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (8).

Bu çalışmada, aerobik egzersiz yapan profesyonel atletlerde tAA'nın değişiminin gösterildiği algoritmanın incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Katılımcılar

Çalışma, yaşları 18-21 arası değişen altı profesyonel erkek sporcu üzerinde planlanmıştır. Çalışmaya alınan sporcular, son beş yıldır haftada üç kez düzenli egzersiz yapmakta, ayrıca medikal tedavi almayan, özgeçmişinde endokrin bir hastalık öyküsü olmayan, sigara içmeyen, son altı aydır diyet yapmaksızın kilo kaybı veya kilo artışı olmayan,

sindirim problemi olmayan, bilinen kardiyovasküler hastalık hikayesi olmayan, soygeçmişinde diyabet ve obezite öyküsü olmayan bireylerden oluşmuştur. Çalışma boyunca sporcuların sağlık durumunda bir anormallik gözlenmemiştir. Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırma Etik Kurulundan onay alınarak yapılmıştır.

Ön Testler

Egzersiz ve kontrol denemelerine başlamadan önce deneklerin antropometrik ölçümleri ve Maksimal Oksijen Tüketimi (Max. VO_2) ölçümleri yapılmıştır.

Antropometrik Parametre Testleri: Boy ölçümleri metal stadiometre ile çıplak ayak ile yapılmıştır. Ağırlık Ölçümleri bireylerin üzerinde sadece şort var iken "Tefal" marka baskül kullanılarak yapılmıştır. Bel çevresi ölçümleri doğal bel çizgisinden (veya başka bir deyimle önden bakışta görülen gövdenin en dar bölümünden) geçen horizontal hattan yapılırken kalça çevresi ölçümleri, arkadan kalçayı en geniş şekilde çevreleyen horizontal hattan, hep aynı mezura kullanılarak yapıldı ve mm cinsinden kaydedildi.

Beden Kitle İndeksi: Bireylerin beden kitle indekslerinin belirlenmesinde aşağıdaki formül kullanılmıştır;

$$BKİ = \frac{\text{Vücut ağırlığı (kg)}}{\text{Boy}^2 \text{ (m)}}$$

Max VO_2 Testi: Max. VO_2 ölçümleri ana denemelerden 1 hafta önce yapılmıştır ve Bruce protokolü kullanılmıştır. Bu protokolda maksimal oksijen kullanım kapasitesi 3 dk. aralıklı artan yük protokolü ile koşu bandında yapılmıştır. Bu teste 2.74 km/s'lik hız ve % 10 eğim ile başlanır ve treadmillin eğimi ve hızı her 3 dakikada bir artırılmaktadır. Egzersiz

protokolüne katılımcılar tükürük eninceye kadar devam edilmiştir. Egzersiz bırakma kriterleri şunlardır: Max.VO₂'nin plato yapması, RER (respiratory exchange ratio)(solunum değişim oranı) değerinin >1.1 olması, Maksimal kalp atım hızının 220-yaş formülüne uygun olmasıdır. Maksimal oksijen kullanım testi ile egzersiz denemesinde kullanılan bireysel egzersiz şiddetleri belirlenmiştir. Max. VO₂ egzersiz testi, Cortex II Metalyser (Cortex Biophysik, Leipzig, Germany) gaz analizatörü cihazıyla solunumdan solunuma, O₂ kullanımı (VO₂) ve CO₂ üretimi (VCO₂) ölçülerek uygulanmıştır. Her test öncesi volüm ve gaz kalibrasyonları yapılmıştır.

Deneyel Protokol ve Ana Denemeler

Çalışmada randomize çapraz desenli (crossover design) deneme modeli kullanılmıştır. Bu modelde katılımcılardan yarısı önce egzersiz denemesine ve daha sonra kontrol denemesine katılırken, diğer yarısı önce kontrol denemesine ve daha sonra egzersiz denemesine katılmaktadırlar. Bu dizayn'da katılımcılar hem egzersiz grubunu hemde kontrol grubunu oluşturmaktadır.

Egzersiz denemesi: Katılımcılar 2 saatlik koşu bandı egzersizine katılmışlar ve daha sonra 2 saat istirahat etmişlerdir. Egzersiz toplamda 120 dk. sürmüş ve bu sürenin ilk 105 dk. Max. VO₂'nin %50'de ve sonraki 15 dk. da Max. VO₂ %75'de yapılmıştır.

Kontrol denemesi: Bu denemede katılımcılar 4 saat istirahat (televizyon izleme, okuma ve ağır olmayan uğraşlar yapmışlardır) etmişlerdir.

Denemelerin birbirini etkilememesi için egzersiz ve kontrol denemeleri arasında bir hafta ara verilmiştir. Her bir deneme aynı atletler üzerinde egzersiz ve kontrol denemesi olarak planlanmıştır. Egzersiz ve kontrol denemesine farklı zamanlarda katılan aynı katılımcılar, 10 saatlik gece açlığı takiben laboratuvara gelmiştir. Saat 9:00'da Amilaz I (egzersiz öncesi), saat 10:00'da Amilaz II (birinci saat egzersiz), saat 11:00'de Amilaz

III (ikinci saat egzersiz) ve saat 12:00'de Amilaz IV (egzersiz sonrası toparlanma) olmak üzere dört kere tükürük örneği alınmıştır.

Diyet ve Egzersiz Kontrolü

Katılımcılardan, ilk denemeden 2 gün önce yaptıkları bütün fiziksel aktiviteleri ve denemelerinden 48 saat önce tükettikleri bütün yiyecek ve içecekleri kaydetmeleri ve bunu ikinci denemeden önce tekrarlamaları istenmiştir. Ayrıca bu sürelerde alkol, nikotin, kafein ve uyarıcı ilaç kullanmamaları gerektiği hatırlatılmıştır.

Tükürük Biriktirilmesi

Uyarılmamış tükürük örneği dört kere alınmıştır, öncesinde distile su ile ağız çalkatılmış akabinde beş dakika ağızda yutmadan tuttuğu tükürük örneği steril plastik kaba alınmıştır. Biriktirmenin ardından 2000xg'de 15 dakika santrifüj yapılarak süpernatant kısmı -70°C deney gününe kadar bekletilmiştir. Örnekler deney günü aşamalı olarak oda ısısına getirilmiştir.

Analiz

Tükürük distile su ile 1:200 dilüsyonu takiben, tAA, Salimetrics ticari kit kullanılarak alfa amilaz aktivitesi ölçülmüştür (Salimetrics, PA, ABD, Katalog no: 1-1902). Test prensibi 2-kloro-p-nitrofenol oluşum hızına dayanan aktivite ölçümünü 405 nm'de ölçümüne dayanmaktadır. Deneyde kullanılan kinetik kolorimetrik testin gün içi tekrarlanabilirlik %6.5 ve günler arası tekrarlanabilirlik %7.2 olarak bulunmuştur. tAA aktivitesi U/ml olarak ifade edilmiştir.

İstatistik Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Egzersiz ve Kontrol denemeleri ön testleri arasındaki farka Bağımlı t-testi ile bakılmıştır. Egzersiz ve kontrol denemeleri arasında zamanla

oluşan tAA aktivite si farkının gösterilmesinde tekrarlı ölçümlerde varyans (Repeated-measures, two factor ANOVA) analizi yapılmıştır. Deneme x zaman etkileşiminde anlamlı fark bulunması durumunda denemeler arasında, hangi zaman dilimlerinde farkın oluştuğunu bulmak için Bonferroni post hoc testi yapılmıştır. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Katılımcıların fiziksel karakteristikleri Tablo 1'de verilmiştir. Kontrol ve egzersiz denemelerinin başlangıç tAA aktivitelerinde istatistiksel bir fark saptanmamıştır (denemeler; kontrol: 81.50 ± 66.44 U/ml ve egzersiz: 97.83 ± 93.25 U/ml, $p = 0.116$). Tekrarlı ölçümlerde iki faktörlü varyans (ANOVA) analizi sonucu tAA'nın zamanla (Zaman: $F=20.332$; 1.690 , $p < 0.001$, etki alanı=0.670) her iki denemede de değiştiği (Deneme: $F=52.99$; 1 , $p < 0.001$, etki alanı=0.841) ve denemeler arasında da istatistiksel olarak anlamlı (Zaman x Deneme: $F=15.244$; 1.690 , $p < 0.001$, etki alanı=0.604) fark olduğu bulunmuştur. Bonferroni testi sonucunda egzersiz ve kontrol denemeleri arasında tüm zaman dilimlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların ($p < 0.05$) olduğu saptanmıştır. Tablo 2'de kontrol ve egzersiz denemelerinde tAA'nın zamanla değişimi ve Bonferroni testi sonuçları verilmiştir.

Tablo 1. Katılımcıların Fiziksel Karakterleri (ortalama \pm SD).

Cinsiyet	n	Yaş	Vücut Kilosu(kg)	Boy (m)	Bel-Kalça Oranı (m)	VKI ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$)*
Erkek	6	19.35 ± 1.03	73.67 ± 1.50	1.78 ± 0.03	0.89 ± 0.01	23.14 ± 0.96

* Vücut Kitle İndeksi (BMI): Vücut Kilosu (kg) / Boyun Karesi (m^2)

Tablo 2. Tükürük Alfa-Amilaz Aktivitesi (U/ml).

	Egzersiz Deneme (Ortalama \pm SD) U/ml	Kontrol Deneme (Ortalama \pm SD) U/ml
Amilaz I	97.83 ± 93.25	81.50 ± 66.44
Amilaz II	189.17 ± 116.51^a	100.16 ± 69.79
Amilaz III	592.20 ± 193.50^b	124.50 ± 84.58
Amilaz IV	284.00 ± 160.84^c	185.66 ± 156.18

Amilaz I ile Amilaz II-III-IV post hoc Bonferroni Metodu ile karşılaştırılması sonucu, sırası ile, aradaki fark $a p = 0.043$, $b p = 0.000$, ve $c p = 0.002$ olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA

Bu çalışmada egzersiz yapan atletlerde sempatik aktivitedeki değişiklikleri yansıtan parametre olarak tAA aktivitesi dört saatlik algoritması ölçüldü. Stimulasyona bağlı tAA belirgin yükseklik bulundu. Daha önceki çalışmalarda soğuğa maruziyetle, bisiklet, hafif koşu, yüksek basınçlı odada kalma ile tAA yüksekliği saptanmış olup, bizim çalışmamızda kullanılan treadmill egzersizi gibi strese maruz kalarak tAA'nın sempatik sistem aktivasyonunu göstermiştir (11-12).

Capranica ve arkadaşlarının, 12 genç erkek tekvandocu ile yapılan, 15-30-60-90 dakika tükürük alfa amilaz ve tükürük kortizol ölçtükleri çalışmalarında, maç sonunda amilaz aktivite yüksekliği ve tükürük kortizolünün ise ilk 30 dakikada pik yaptığı gösterilmiştir (13). Ayrıca tükürük kortizolünün hipopitüiter aks ile ilgili yorumlamalarda kullanılabilirliği belirtilmiştir. Benzer bir çalışmada 10 erkek ve 6 kız tekvandocu da, tükürük kortizolu ilk 30 dakikada pik yaparken, tükürük alfa amilaz düzeyi ise maç sonunda tükürük alfa amilazın %115 artışını ortaya konmuş olup, bu iki parametrenin duyu durumu gösterecek noninvazif bir yöntem olduğu belirtilmiştir (14). Bizim çalışmamıza benzer olarak tükürük alfa amilazının sempatik sistem aktivasyonunu göstermekte kullanılacağı belirtilmiştir.

Olivira ve arkadaşları (15), 12 erkek bisikletçide tükürük alfa amilaz, tükürük protein ve kan laktat artışının sırası ile %58, %83 ve %100 olarak bulmuşlardır. Yine her üç parametrenin birbiri ile ilişkisini ortaya koyan çalışmalarında, tükürük biyokimyasını ilgilendiren çalışmalarda noninvaziv bir yöntem olarak tAA kullanımını önermişlerdir. Biz de maliyeti az ve girişimsel olmayan bu yöntemin egzersiz algoritma çalışmalarında güvenle kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak çalışmamızda, atletlerde uzun süreli akut aerobik egzersizin sempatik sistem aktivitesine etkisi, tükürük alfa amilaz aktivitesinin artış algoritması ile gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Chicharro JL, Lucía A, Pérez M, Vaquero AF, Ureño R. Saliva composition and exercise. *Sports Med* 1998; 26 (1): 17-27.
2. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent* 2001; 85(2): 162-9.
3. Nater UM, Rohleder N, Schlotz W, Ehlert U, Kirschbaum C. Determinants of the diurnal course of salivary alpha-amylase. *Psychoneuroendocrinology* 2007; 32(4): 392-401.
4. Scannapieco FA, Solomon L, Wadenya RO. Emergence in human dental plaque and host distribution of amylase-binding streptococci. *J Dent Res* 2004; 73(10): 1627-35.
5. Rohleder N, Nater UM, Wolf JM, Ehlert U, Kirschbaum C. Psychosocial stress-induced activation of salivary alpha amylase: an indicator of sympathetic activity? *Ann NY Acad Sci* 2004; 1032(12): 258-63.
6. Yamauchi M, Dequishi M, Wakasuji J, Ono S, Takai N, Higashi T, et al. Hand-held monitor of sympathetic nervous system using salivary amylase activity and its validation by driver fatigue assessment. *Biosens&Bioelectron* 2006; 21(7): 1007-14.
7. Shirasaki S, Fujii H, Takahashi M, Sato T, Ebina M, Noto Y, et al. Correlation between salivary alpha-

amylase activity and pain scale in patients with chronic pain. *Reg Anesth Pain Med* 2007; 32(2): 120-3.

8. Bishop NC, Blannin AK, Armstrong E, Rickman M, Gleeson M. Carbohydrate and fluid intake affect the saliva flow rate and IgA response to after psychological stress. *Intern Journal Psychophysiol* 2000; 36(1): 59-68.
9. Allgrove JE, Gomes E, Hough J, Gleeson M. Effects of exercise intensity on salivary antimicrobial proteins and markers of stress in active men. *J Sports Sci* 2008; 26(6): 653-61.
10. Nexø E, Hansen MR, Konradsen L. Human salivary epidermal growth factor, haptocorrin and amylase before and after prolonged exercise. *Scand J of Clin Lab Invest* 1988; 48(3): 269-73.
11. Kennedy B, Dillon E, Mills PJ, Ziegler MG. Catecholamines in human saliva. *Life Sci* 2001; 69(1): 87-99.
12. Nater UM, Rohleder N, Gaab J, Berger S, Jud A, Kirschbaum C, et al. Human salivary-alpha amylase reactivity in a psychosocial stress paradigm. *Intern J Psychophysiol* 2005; 55(3): 333-42.
13. Capranica L, Lupo C, Cortis C, Cibelli G, Tessitore A. Salivary cortisol and alpha-amylase reactivity to taekwondo competition in children. *Eur J Appl Physiol* 2012; 112 (2): 647-52.
14. Shiodo S, Tessitore A, Cortis C, Cibelli G, Lupo C, Ammendolia A, et al. Stress-related hormonal and psychological changes to official youth Taekwondo competitions. *Scand J Med Sci Sports* 2011; 21 (1), 111-9.
15. De Oliveira VN, Bessa A, Lamounier RP, de Santana MG, de Mello MT, Espindola FS. Changes in the salivary biomarkers induced by an effort test. *Int J Sports Med* 2010; 31 (6): 377-81.

Yazışma adresi:

Dr. Güler Buğdaycı
Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Bolu
Tel : 0 374 253 46 56
Faks : 0 374 253 46 15
E-posta: gbugdayci@yahoo.com