

ANTRENE FARELERDE BİR SAATLİK EGZERSİZİN İNCE BARSAK, BÖBREK VE KAS DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONUNA VE ANTİOKSİDAN ENZİMLERE ETKİSİ

İlgi ŞEMİN*, Berkant Muammer KAYATEKİN*, Sevil GÖNENÇ*,
Osman AÇIKGÖZ*, Nazan UYSAL*, Yasemin DELEN**, Ataman GÜRE*

* Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

** Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

ÖZET

Egzersiz sırasında kas dokusunda kanlanma artarken, ince barsak ve böbrek dokularında azalmakta ve egzersizden sonra yeniden düzelmektedir. Bu kanlanma değişikliğinden yola çıkarak uzun süreli egzersizden sonra kas, ince barsak ve böbrek dokularında oksidan hasarı araştırmak amacıyla bu çalışma planlanmıştır. Denekler 7 hafta süreyle giderek artan şekilde, en son haftada 5 gün, günde 30 dakika, 5 derece eğimde 20 m/dak hızda küçük hayvan koşu bandında antrene edilmişler, son antrenmandan 2 gün sonra aynı eğim ve hızda 60 dakika koşturulmuşlardır. 2. grupta bulunan farelerin hemen egzersizin bitiminde, 3. gruptakilerin egzersizden 3 saat sonra, 4. gruptakilerin ise 24 saat sonra ince barsak, kas ve böbrek dokuları ve kontrol grubunun (1. grup) dokuları alınarak, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, ksantin oksidaz aktiviteleri ve tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) düzeyleri karşılaştırılmıştır. Süperoksit dismutaz aktivitesinde bütün dokularda gruplararası anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Glutatyon peroksidaz aktivitesi ince barsak ve böbrek dokularında gruplararası anlamlı farklılık göstermezken, kas dokusunda 2. ve 3. grupta kontrolde yüksek saptanmış ($p < 0.01$), sonra kontrol düzeylerine düşmüştür. Ksantin oksidaz aktivitesi böbrek dokusunda tesbit edilememiştir. İnce barsak dokusunda gruplararası anlamlı bir fark saptanmamıştır. Kas dokusunda ise 2.

Egzersiz, Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzimler

grupta anlamlı olarak düşüp ($p<0.05$), tedricen artarak 4. grupta anlamlı yükselme göstermiştir ($p<0.01$). Kas dokusunda TBARS düzeyleri deney gruplarında kontrolden yüksek bulunmuştur. İnce barsakta TBARS düzeyleri önce azalmış ($p<0.05$), sonra tedricen artmıştır ($p<0.01$), böbrek dokusunda 2. ve 4. gruplarda kontrolden yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.01$). Bu sonuçlar uzun mesafe koşusunun ince barsak, böbrek ve iskelet kası dokularında lipid peroksidasyon hasarına neden olabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: Egzersiz, fare, lipid peroksidasyonu, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, ksantin oksidaz

LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT ENZYME LEVELS OF INTESTINAL, RENAL AND MUSCLE TISSUES AFTER A 60 MIN- EXERCISE IN TRAINED MICE

ABSTRACT

To investigate the effect of blood perfusion difference on oxidant status, mice were trained by a 7-week running program. Two days after the last training session, mice were exercised for 60 minutes at the same training intensity. Changes in the concentration of thiobarbituric acid reactive substance (TBARS), as an index of lipid peroxidation, in intestine, kidney and muscle, were studied in trained mice immediately (0), 3 and 24 h after the running exercise and in unexercised control. The activities of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and xanthine oxidase were determined in these tissues. Tissue superoxide dismutase activities were unaffected by the exercise. Muscle glutathione peroxidase activity increased after exercise (0 and 3h groups, $p<0.01$) and returned to control levels, but there wasn't any significant difference in intestinal and renal tissues. Renal tissue xanthine oxidase activity couldn't determine. There wasn't any significant difference between groups in intestinal tissue xanthin oxidase activity. The activity of xanthine oxidase was decreased only in skeletal muscle at 0 h ($p<0.05$), then gradually increased at 24 h ($p<0.01$). TBARS levels of exercised groups were higher than control in muscle. Intestinal TBARS levels decreased first ($p<0.05$), then gradually increased ($p<0.01$). Renal TBARS levels of 0h and 24h group was higher than control ($p<0.01$, $p<0.01$ respectively). The results show that a long distance running exercise may cause lipid peroxidation damage in skeletal muscle, intestine and kidney.

Key words: Exercise, mice, lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, xanthine oxidase

GİRİŞ

Serbest oksijen radikallerinin belli başlı kaynakları; mitokondriyal solunum ve aktive olmuş lökositlerdir. Kapiller endotelinde bulunan ksantin oksidaz (XO) serbest oksijen radikal kaynaklarından biridir ve başlıca iskemi/reperfüzyon durumlarında araştırılmaktadır. Fizyolojik antioksidan savunmanın birincil komponentleri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidazdır (GPx). İnsanlarda iskelet kasının antioksidan savunması zayıf olduğu için kas dokusu oksidatif strese kolaylıkla maruz kalabilir. Aerobik egzersiz sırasında enerji metabolizmasının hızlanması, hücre içinde serbest oksijen radikallerinin konsantrasyonunu artırır, bu da lipid peroksidasyon hızını artırır ve kasta hasara neden olur (Benzi, 1993; Duarte, Appell ve Calvalho, 1993; Laughlin ve ark.,1990; Sen, 1995).

Özellikle aerobik egzersiz sırasında enerji gereksiniminin artması aktif dokularda oksijen

ihtiyacını birkaç kat artırır (Sen, 1995) ve dokular arasında büyük kanlanma farklılıkları meydana gelir. Perfüzyon iskelet kasında artarken, splanknik alanda azalır ve egzersiz sonrasında yeniden normale döner (Akgün, 1994). Dayanıklılık sporcularında özellikle maraton koşularından 24-48 saat sonra ağrı, melena ve hematüri gibi gastrointestinal ve üriner şikayetler (Fogoros, 1980; Steward ve ark., 1984; Weight, Klein ve Noakes, 1992) ve eritrositlerde peroksidasyona yatkınlık artışı bildirilmiştir (Duthie, Robertson ve Maughan, 1990). İskelet kasında egzersiz sonrası dönemde lipid peroksidasyonunun arttığını gösteren çalışmalar vardır (Duar-te ve ark., 1993; Radak ve ark., 1995), ancak barsak dokusunda yapılan araştırmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışma, antrene farelerde perfüzyonları farklı özellik gösteren ve özellikle dayanıklılık sporcularında etkilendiği bildirilen iskelet kası, barsak ve böbrek dokularında, egzersizden sonraki dönemde lipid peroksidasyon hasarı olup olmadığını araştırmak için planlandı.

GEREÇ - YÖNTEM

Kimyasallar:

RANSOD and RANSEL kitleri Randox laboratuvarlarından (Crumlin, UK) alındı. Diğer bütün kimyasal maddeler Sigma'dan (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) temin edildi.

Deney Hayvanları:

Çalışmada $29,8 \pm 3,0$ g (ort \pm SD) ağırlığında erkek Swiss Albino fareler (n=31) kullanıldı. Fareler 12 saat aydınlık (07.00-19.00), 12 saat karanlık (19.00-07.00) ortamda, 20 ± 2 °C'de barındırıldı, standart pellet yemlerinde ve içme sularında kısıtlama yapılmadı.

Gruplar ve Antrenman Programı:

Antrenman ve koşma egzersizleri dört adet küçük hayvan koşu bandında yapıldı. Deneyler 9:00-12:00 saatleri arasında gerçekleştirildi. 31 denek rasgele olarak; egzersiz yapmayan kontrol (K, n=8), egzersizden hemen sonra (0s, n=8), 3 saat sonra (3s, n=8) ve 24 saat sonra (24s, n=7) servikal dislokasyon uygulanan deney grupları olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Denekler 5 gün, küçük hayvan koşu bandında 20 m/dak hızda, 5° eğimde, günde 5 dakika koşmaya alıştırıldıktan sonra 2 gün dinlendirildiler. Antrenman periyodunda süre giderek artırıldı, 2. hafta günde 15 dak, 3. ve 4. haftalarda günde 20 dak, 5., 6. ve 7. haftalarda günde 30 dak, eşit hız ve şiddette antrene edildiler. Kontrol grubu benzer strese maruz bırakılmak için haftada 1 gün, 20 m/dak hızda, 5° eğimde 5 dakika koşturuldu.

Akut Egzersiz ve Doku Örnekleme

Son antrenmandan 48 saat sonra antrene farelere küçük hayvan koşu bandında 20 m/dak hızda, 5° eğimde, 60 dakika egzersiz yaptırıldı. Akut egzersizden sonra hayvanlara gruplarına göre; hemen egzersizi takiben (0s), egzersizden 3 saat sonra (3s) ve 24 saat sonra (24s), kontrol grubuna (K) ise koşmadan servikal dislokasyon uygulandı. Gastroknemius kası, barsağın proksimal kısmı ve böbrek buzla soğutulmuş zemin üzerinde çıkarılarak homojenizas-

yoyn sıvısı iie hemen yıkandı, görünür pıhtılar kan kontaminasyonunu en aza indirmek amacıyla uzaklaştırıldı. Doku homojenatları Carrillo ve arkadaşlarının yöntemine göre hazırlandı (Carrillo, Kanai ve Nokubo, 1991). Homojenat ve supernatan, TBARS düzeyleri ve enzim aktiviteleri ölçülene kadar -70 °C'de saklandı.

SOD Aktivitesinin Belirlenmesi:

SOD aktivitesi Randox RANSOD kiti (Cat No SD 125) kullanılarak tayin edildi. Ksantin ve ksantin oksidaz, 2-(4-iodophenyl)3-(4-nitrophenol)-5 phenyl tetrazolium chloride (INT) ile reaksiyona girerek kırmızı rengi oluşturan süperoksit radikalleri üretmek için kullanıldı. Substratların konsantrasyonu ksantin için 0.075 µmoi, INT için 0.037 µmol idi. SOD, süperoksit radikallerini oksijene dönüştürerek bu reaksiyonu inhibe eder. Bir SOD ünitesi ksantin ve ksantin oksidaz kompleks sistemi içinde INT redüksiyon hızını %50 inhibe eder. Test belirli aralıklarda lineer olduğu için örnekler inhibisyon yüzdesi %30 ile %60 arasında olacak şekilde dilüe edildi. Kitteki standartlar kullanılarak bir standart eğrisi belirlenerek, süpernatın için değeri okundu. SOD aktivitesi süpernatanda Shimadzu UV-1201V spektrofotometrede 505 nm'de okundu. Sonuçlar SOD U/mg protein olarak saptandı.

GPx Aktivitesinin Belirlenmesi:

GPx aktivitesi Randox RANSEL kiti ile (Cat No RS 504) Paglia ve Valentine'ın tanımladığı yöntemine göre belirlendi (Paglia ve Valentine, 1967). GPx kumen hidroperoksitle (5 µmol konsantrasyonda) glutatyonun oksidasyonunu katalize eder. Glutatyon redüktaz (konsantrasyon $\geq 0.75 \cdot 10^{-3}$ U) ve 0.35 µmol NADPH varlığında, okside glutatyon hemen indirgenmiş hâle dönüşürken, NADPH'ın da NAD⁺'a oksidasyonu gerçekleşir. 37 °C'de, 340 nm'de absorbans azalma ölçülür. Ölçüm süpernatanda yapıldı. GPx ünitesi, 1 dakikada 1 µmol NADPH'ı NADP'ye dönüştürmek için gerekli enzim aktivitesi olarak ifade edildi. Sonuçlar GPx U/mg protein olarak ifade edildi.

Ksantin Oksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi:

Majkic-Singh ve ark'nın yöntemine göre spektrofotometrik olarak belirlendi (Majkic-Singh, Bogavac ve Kalimanovska, 1987).

TBARS Düzeyinin Belirlenmesi:

TBARS düzeyleri Rehncrona ve arkadaşlarının yöntemine göre ölçüldü (Rehncrona, Smith ve Akesson, 1980). 0.5 ml homojenat, 0.5 ml triklor asetik asit (20 % wt/vol) ile ekstrakte edildi. Santrifüje edildikten sonra, 1 ml tiyobarbitürik asite (0.67 % wt/vol) 0.9 ml süpernatın eklendi. Örnekler kaynar suda 10 dak bekletildi. Örnekler soğutulduktan sonra 532 nm'de absorbans 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

Süpernatın ve homojenatların protein içeriği siğir serum albumini standart olarak kullanılarak, Lowry metodunun Markwell ve arkadaşlarının önerdiği modifikasyona göre tayin edildi (Markwell, Haas ve Bieber, 1978).

İstatistiksel Analiz:

Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. İstatistiksel değerlendirme Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

BULGULAR

Doku SOD aktivitelerinde gruplararası anlamlı farklılık saptanmadı. Kas GPx aktivitesi egzersizden sonra 0s ve 3s gruplarında arttı ($p<0.01$) ve sonra kontrol düzeyine döndü. Barsak ve böbrek dokularında ise anlamlı bir farklılık yoktu. XO aktivitesi yalnız kas dokusunda 0s anlamlı olarak düşüp ($p<0.05$), tedricen artarak 24 s'te anlamlı yükselme göstermiştir ($p<0.01$). Antrene grupların TBARS düzeyleri kas dokusunda kontrolden yüksekti ($p<0.01$). Barsak dokusunda önce düşüp ($p<0.05$), sonra giderek yükseldi ($p<0.01$). Böbrek dokusunda ise 0s ve 24s gruplarında kontrolden yüksek bulundu ($p<0.01$) (Tablo 1, 2, 3).

TABLO 1. Kas dokusundaki SOD, GPx, TBARS, XO değerleri (Ort. \pm SH)

Gruplar	SOD U/mg prot	GPx U/mg prot	TBARS nm/mg prot	XO U/mg prot
Kontrol	2.63 \pm 0.17	0.02 \pm 0.001	0.32 \pm 0.03	6.22 \pm 1.50
0. saat	2.68 \pm 0.11	0.04 \pm 0.001*	0.83 \pm 0.10 \diamond	1.85 \pm 0.46 π
3. saat	2.79 \pm 0.19	0.04 \pm 0.001*	0.94 \pm 0.13 \diamond	17.83 \pm 10.70
24. saat	2.51 \pm 0.12	0.02 \pm 0.001*, δ	1.09 \pm 0.17 \diamond	34.75 \pm 15.92 δ

* Kontrolden yüksek $p<0.01$

• 0. Saatten düşük $p<0.01$

o 3. Saatten düşük $p<0.05$

\diamond Kontrolden yüksek $p<0.01$

π Kontrolden düşük $p<0.05$

δ 0. saatten yüksek $p<0.01$

TABLO 2. İnce barsak dokusundaki SOD, GPx, TBARS, XO değerleri (Ort. \pm SH)

Gruplar	SOD U/mg prot	GPx U/mg prot	TBARS nm/mg prot	XO U/mg prot
Kontrol	1.85 \pm 0.15	0.11 \pm 0.01	1.19 \pm 0.06	428.60 \pm 113.18
0. saat	1.72 \pm 0.14	0.10 \pm 0.01	0.98 \pm 0.05•	410.17 \pm 179.87
3. saat	1.88 \pm 0.14	0.13 \pm 0.01	1.18 \pm 0.09*	422.63 \pm 204.22
24. saat	1.71 \pm 0.13	0.11 \pm 0.02	1.29 \pm 0.07*	341.71 \pm 78.79

• Kontrolden düşük $p<0.05$

* 0. saatten yüksek $p<0.01$

Egzersiz, Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzimler

TABLO 3. Böbrek dokusundaki SOD, GPx, TBARS değerleri (Ort. \pm SH)

Gruplar	SOD U/mg prot	GPx U/mg prot	TBARS nm/mg prot
Kontrol	5.16 \pm 0.34	0.41 \pm 0.40	0.40 \pm 0.06
0. saat	5.32 \pm 0.37	0.36 \pm 0.05	1.11 \pm 0.12*
3. saat	4.79 \pm 0.24	0.39 \pm 0.05	0.48 \pm 0.06 •
24. saat	5.65 \pm 0.38	0.39 \pm 0.05	1.07 \pm 0.14 o, *

* Kontrolde yüksek p<0.01

• 0. Saatten düşük p<0.01

o 3. Saatten yüksek p<0.05

TARTIŞMA

Bu çalışmada kas, barsak ve böbrek dokusu SOD aktivitelerinde gruplararası anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Literatürde bu konuda yapılan araştırmaların sonuçlarının çelişkili olduğu gözlenmiştir (Benzi, 1993; Radak, 1996; Sen, 1995).

Kas GPx aktivitesi egzersizden sonra 0s ve 3s gruplarında artıp ve 24. saatte kontrol düzeyine dönmüştür. Duarte ve arkadaşları (1993), şiddetli egzersizden 48 saat sonra bile glutasyon düzeyinin düşük olduğunu bildirmişlerdir. Radak ve arkadaşları (1995) kas GPx aktivitesinde tüketici egzersizden 1 gün sonra anlamlı yükselme saptamışlardır. Bu çalışmada uygulanan egzersiz şiddeti tüketici olmadığı için normale dönüş süresi kısalmış olabilir.

Radak ve arkadaşları (1996) böbrek GPx aktivitesinin şiddetli egzersizden hemen sonra, 1. ve 3. günlerde arttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada, sadece 24 saatlik değişiklikler incelendiği için, barsak ve böbrek dokularında GPx aktivitesinde anlamlı bir farklılık saptanmamış olabilir.

Tüketici egzersizden hemen sonra plazma XO aktivitesinde belirgin artış olduğu yayınlanmıştır (Radak, 1995). Duarte ve arkadaşları (1993) kas dokusunda egzersizden 48 saat sonra belirgin endotel kaynaklı oksidatif stres olduğunu ve bunun muhtemelen XO nedeniyle oluştuğunu öne sürmüşlerdir. Bu çalışmada kas dokusunda egzersizden 24 saat sonra XO aktivitesinde gözlenen artış Duarte ve arkadaşlarının (1993) çalışmasıyla uyumludur.

Egzersiz sırasında inaktif olan ince barsak ve böbrek dokularında XO aktivitesinde anlamlı bir değişiklik gözlenmediği için, bu dokulardaki lipid peroksidasyon artışından XO'nun sorumlu olmadığı düşünülmüştür.

Egzersiz kas dokusunda lipid peroksidasyon hasarına neden olduğunu gösteren birçok araştırma vardır (Benzi, 1993; Duarte ve ark., 1993; Radak, 1995; Sen, 1995). Bu çalışmada kas dokusunda lipid peroksidasyon göstergesi olan TBARS düzeylerinin 0, 3 ve 24. saatlerde kontrolden yüksek kalması diğer çalışmalarla uyumludur.

Böbrekte ağır koşu egzersizinden sonra TBARS düzeylerinin yükseldiği ve bir süre yüksek kaldığı bildirilmiştir (Radak, 1996). Bu çalışmada da böbrek dokusunda TBARS düzeyleri egzersizden hemen sonra ve 24 saat sonra kontrolden yüksek bulunmuştur. TBARS'taki bu artış biçimi, egzersiz sırasında ve sonrasında farklı kaynaklı serbest radikallerin lipid peroksidasyona neden olabileceğini düşündürmüştür.

Barsak dokusunda TBARS düzeylerinin önce düşüp, sonra giderek yükseldiği gözlemlendi. XO ve antioksidan enzim aktivitelerinde uyumlu değişikliklerin olmaması, böbrek ve barsakta meydana gelen lipid peroksidasyonunda farklı süreçlerin var olabileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak bu çalışmada, antrene farelerde yapılan bir saatlik egzersizden sonraki 24 saatlik izimde, barsak ve böbrek dokusunda 24. saatte lipid peroksidasyon hasarı göstergeleri belirginleşmiştir. Bu bulgular endürans sporcularında koşulardan 24-48 saat sonra yayınlanan hematüri, melena gibi şikayetlerin etyolojisinde barsak ve böbrek dokularında gözlenen oksidatif hasarın yer alabileceğini düşündürmüştür.

KAYNAKLAR

- Akgün N. (1994). **Egzersiz fizyolojisi**. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi.
- Benzi G. (1993). Aerobic performance and oxygen free-radicals. **J Sports Med and Physical Fitness**. 33: 205-222
- Carrillo M.C., Kanai S., Nokubo M. & Kitani K. (1991). (-)Deprenyl induces activities of both superoxide dismutase and catalase but not of glutathione peroxidase in the striatum of young male rats. **Life Sciences**. 48: 517-521,
- Duarte J.A.R., Appell H.J., Calvalho F., Bastos M.L. & Soares J.M.C. (1993). Endothelium-derived oxidative stress may contribute to exercise-induced muscle damage. **Int J Sports Med**. 14: 440-443
- Duthie G.G., Robertson J.D., Maughan R.J. & Morrice P.C. (1990). Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. **Arch Biochem Biophys**. 282: 78-83
- Fogoros R.N. (1980). Runner's trots. Gastrointestinal disturbances in runners. **JAMA**. 243: 1743-1744
- Laughlin M.H., Simpson T, Sexton W.L., Brown O.R., Smith J.K. & Korhuis R.J. (1990). Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes and exercise training. **J.Appl.Physiol**. 68: 2337-2343
- Majkic-Singh N, Bogavac L, Kalimanovska V., Jelic Z. & Spasic S. (1987). Spectrophotometric assay of xanthine oxidase with 2,2'-azino-di(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphate) (ABTS) as chromogen. **Clinica Chimica Acta**. 162; 29-36
- Markwell, M.A.K., Haas, S.M., Bieber, L.L. & Tolbert, N.E. (1978). A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples, **Anal Biochem**. 87: 206-210
- Paglia, D.E. & Valentine, W., N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **J Lab Clin Med**. 70:158-169
- Radak Z., Asano K., Inoue M., Kizaki T, Oh-Ishi S., Suzuki K., Taniguchi N. & Ohno H. (1996). Superoxide dismutase derivative prevents oxidative damage in liver and kidney of rats induced by exhaustive exercise. **Eur J Appl Physiol**. 72: 189-194
- Radak Z., Asano K., Inoue M., Kizaki T, Oh-Ishi S., Suzuki K., Taniguchi N. & Ohno H. (1995). Su-

Egzersiz, Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzimler

peroxide dismutase derivative reduces oxidative damage in skeletal muscle of rats during exhaustive exercise. **J Appl Physiol.** 79: 129-135

Rehncrona, S., Smith, D.S., Akesson, B., Westerberg, E. & Siesjo, B.K. (1980). Peroxidative changes in brain cortical fatty acids and phospholipids, as characterised during Fe^{2+} and ascorbic acid-stimulated lipid peroxidation in vitro, **J Neurochem.** 34: 1630-1638

Sen CK. (1995). Oxidants and antioxidants in exercise. **J Appl Physiol.** 79: 675-686

Steward J.G., Ahlquist D.A., McGill D.B., Illstrup D.M., Schwartz S. & Owen R.A. (1984). Gastrointestinal blood loss and anemia in runners. **Ann Int Med.** 100: 843-845

Weight L.M., Klein M., Noakes T.D. & Jacobs P. (1992). "Sports anemia" A renal or apparent phenomenon in endurance-trained athletes. **Int J Sports Med.** 13: 344-347

Not: Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından desteklenmiştir.