

## EGZERSİZ SONRASI OLUŞAN PROTEİNÜRİ \*

Bil. Uzm. Ahmet YILMAZ\*, Dr. Neyhan ERGENE\*\*, Dr. Hüseyin UYSAL \*\*,

Uzm. A. Kerim Kasım BALTACI\*\*, Bio. Recep ÖZMERDİVENLİ\*\*\*

\* S.Ü. T. F. Hematoloji Laboratuvarı , \*\* S.Ü. T. F. Fizyoloji Anabilim Dalı,

\*\*\* Erciyes Ün. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

### ÖZET

Egzersiz sonrası oluşan proteinüri üzerinde yapılan bu çalışmada, Amatör Futbol Ligi müsabakalarına katılan muhtelif takımlardaki 16-25 yaşları arasında, sağlıklı 44 futbolcunun maç öncesi ve maç sonrası alınan idrar örnekleri elektroforez metodu ile incelendi. Çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, kontrol numuneleriyle kıyas edildiğinde, egzersiz sonrası oluşan proteinüride  $\alpha$ -globulinin egzersiz öncesine göre miktarının değişmediği, özellikle albumin başta olmak üzere  $\beta$  ve  $\gamma$ -globulinlerin miktarlarında egzersizden sonra artış olduğu görülmüştür. Nitrosellüloz filmlerle ayrıştırılan idrar proteinlerinin elektroforez densitometresiyle elde edilen ve kalitatif yönü ifade eden grafiklerin eğim değerlendirmesinden çıkan sonuçlar, dışarda yapılan çalışmalarda da olduğu gibi, glomeruluslarda artan permeabilite, filtrattan emilimin yeterliliği veya tübüler salgılanma sonucu nonselektif olarak gelişmesi nedeniyle egzersiz sonrası oluşan proteinürinin glomerulo-tübüler tipte olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler : Egzersiz, proteinüri

### SUMMARY

#### *Exercise Induced Proteinuria*

*Exercise induced proteinuria was studied on 44 healthy players of the Amateur Football Tournament League. Their ages ranged from 16 to 25 years. Urine samples were collected from the players before and after the games, 44 samples were obtained from healthy players and analyzed for urine proteins electrophoretically. Compared to values obtained from the control pregame values, the urine protein content increased significantly containing mainly albumin,  $\beta$ -globulin, and  $\gamma$ -globulins. But the values for  $\alpha$ -globulins did not change significantly. Urine proteins separated by nitrocellulose films were also qualitatively determined from the proportions of the densitometric values of the peaks on the graphs. The values found in this study and the values cited elsewhere indicated that exercise induced proteinuria is nonselective proteinuria and is due to increased permeability of glomerulus and, to impaired reabsorption of normal amounts of protein from the glomerular filtrate or to tubular excretion. Therefore, proteinuria appearing after physical activity can be classified as glomerulo-tubular type.*

*Key Words: Exercise, proteinuria*

### GİRİŞ

Boşaltım sisteminin ve özellikle böbreğin parankim hastalıklarında böbrek fonksiyonunun kaybolduğuna dair radyolojik muayeneler, ultrasonografi ve biyopsi gibi incelemelerle elde edilen bulgular yanında (1-4), serum veya idrarda bu bozukluğa işaret eden bir çok patolojik bulguya da rastlanmaktadır. Bunlardan birisi de proteinüridir. Proteinürinin ciddi bir hastalık belirtisi olduğu yıllar önce dikkati çekmiştir. Sağlıklı kişilerde de

idrara normal plazma proteinlerini ihtiva edebilir. Bu proteinler büyük oranda glomerular filtrasyon ile atılırlar (5,6). Bu nedenle böbrek hastalıklarının tanınması, takip ve tedavisinde, prognozun belirlenmesinde idrar proteinlerinin kalitatif ve kantitatif ölçümleri önemli bilgiler sağlamaktadır (7,8).

Postürdeki değişiklikler, emosyonel stresler, soğukta kalma, yüksek ateş ve egzersizle idrarla protein atılımını geçici olarak artırmaktadır (7,9). Sürekli olan proteinüri böbrek harabiyetini gösterebilir ve

\* Bu yazı daha önce 29 Ekim- 1 Kasım 1990 tarihleri arasında Antalya'da yapılan XVI. Ulusal Fizyoloji Kongresinde tebliğ edilmiştir.

Haberleşme Adresi: Bil. Uzm. Ahmet YILMAZ, S.Ü. Tıp Fakültesi Hematoloji Laboratuvarı, KONYA

daha fazla incelemeyi gerektirir. Fizyolojik şartlarda, glomerül kapillerinin endotel tabakası, glomerül bazal membranı ve epitel örtüsünden oluşan glomerül filtrasyon yüzeyi proteinlere karşı çok az geçirgendir (10,11). Glomerulustan plazma proteinlerinin geçebilmesi, protein molekülünün ağırlığına, yapısına ve elektriksel yüküne bağlı olduğu gibi bazı küçük moleküllerin büyük plazma proteinlerine bağlılık derecesiyle de yakından ilgilidir.

Sağlıklı ve yetişkin insanların idrarları 24 saatte yaklaşık olarak  $80 \pm 25$  mg total protein ihtiva eder. Ancak 150 mg/24 saate kadar olan değerler de erişkinler için normal kabul edilmektedir (12). Egzersiz esnasında plazma proteinlerinin idrarla atılımında artma gözlenmiştir. İstirahat idrarında bulunan proteinleri % 57'sinin plazma proteinleri olmasına karşılık, egzersizden sonra alınan idrardaki proteinlerin % 82'sinin plazma proteinlerinden ibaret olduğu ortaya konmuştur (8). Egzersizde böbrek fonksiyonları araştırılmışsa da bu konuda çok az derleme yapılmıştır. İnsanlarda daha çok böbrek hemodinamiği ve elektrolit atılımıyla ilgili konular araştırılmıştır (13,14). Egzersizden sonra ortaya çıkan proteinürinin önemi bir çok yazar tarafından belirtilmiştir (14,15). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, egzersiz sonrası proteinürinin egzersiz süresinden çok egzersizin yoğunluğu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (16).

Egzersiz proteinürisinde, proteinler glomerülden süzülmemekte ve tübüllerden tekrar geri emilmektedir. Tübüler reabsorpsiyon bozulmadan glomerular permeabilitedeki artışın veya filtre edilen proteinlerin tübüller reabsorpsiyonunun bozulmasıyla birlikte glomerular permeabilitedeki artışın proteinüri nedeni olduğu düşünülmektedir. Egzersiz proteinürisi fonksiyonel olup, efordan sonra oluşmaktadır. Reversibldir ve efordan sonraki saatlerde kaybolmaktadır. Bu nedenle bir böbrek patolojisi olarak kabul edilmemiştir (17-19).

Bu çalışmada, amatör futbolculardan maç öncesi ve maç sonrası alınan idrar örneklerinde, kantitatif ve kantitatif metodlar kullanılarak protein tayini yapıldı. Futbolculardaki faaliyetlerin özelliklerine bağlı olarak egzersiz sonunda ortaya çıkan proteinüri derecesinin etkilenişi, maç öncesi ve maç sonrası alınan idrar örneklerindeki protein değerleri birbirleriyle mukayese edilerek belirlendi

ve bu yolla böbrek fonksiyonlarının araştırılmasına katkıda bulunulması amaçlandı.

## MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, 1989 yılı amatör futbol liglerinin 1. devresinde, futbol müsabakalarına katılan çeşitli amatör futbol takımlarının, yaşları 16 ile 25 arasında değişen, sağlıklı 44 futbolcusundan müsabaka öncesi ve müsabaka sonrası alınan idrar numuneleri üzerinde gerçekleştirildi.

Materyali oluşturan numuneler 2 grupta incelendi:

1. Kontrol grubu: Müsabaka öncesi idrar numuneleri alınan 44 futbolcu kontrol grubu olarak belirlendi. Sağlık durumlarının kontrolü amacıyla bu futbolculardan alınan idrar numunelerinin rutin analizleri yapıldı. Normal bulunan idrar kontrol olarak kullanıldı.

2. Müsabaka sonunda idrarlarında protein tesbit edilen grup: Müsabaka sonunda futbolculardan alınan idrar numuneleri, biyokimya rutin idrar laboratuvarında strip okuyucu otomatik idrar analizöründe tek tek değerlendirildi. Protein değeri 150 - 350 mg/dl arasında olan idrarlar daha sonra konsantrasyon muamelesine tutulmak üzere belirlendi.

Masabaka öncesi ve sonrası toplanan, miktarları 30 ve 80 ml arasında değişen tüm idrar numuneleri 500 ml hacminde ağız kapaklı ve otoklavda steril hale getirilmiş olan cam kavanozlara alındı. Bakteriyel kirlenmeyi önlemek üzere litresinde 1 g sodyum azid ihtiva eden solüsyondan bu numuneler üzerine 4-5 damla ilave edildi (20-22). Daha sonra yapılacak olan çalışmalar için buzdolabında 2-4 °C'de muhafaza edildi.

Protein elektroforezi "Helena Laboratories" firmasının "Titan - III selüloz asetat plağı" ve "electra HR buffer (tris-barbital-sodium barbital buffer, pH 8.6-9.0)" tamponu ile yapıldı (23). Proteinlerin pH'ı 8 ve 8'den yüksek tampon çözeltiler içinde negatif yüklü olarak elektirik bir alanda anoda doğru göç etmeleri prensibine dayanan protein elektroforez tekniği kullanıldı (21,23,24-29). Bu çalışma S.Ü. Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Negatif atmosfer basıncında evaporasyon ci-

hazında konsantre edilmiş olan idrarlar, verilen sıra numarasına göre 20 µl 'lik otomatik pipetle "Süper Z Well Plate" üzerinde bulunan numune çukurlarına alındı ve üzerine temiz bir lam kapatıldı.

"Electra HR buffer" in 70 ml distile suda eritilmesiyle elde edilen protein tampon çözeltisi plak ıslatma kabına dolduruldu. "Strip rack" 'a yerleştirilen sellüloz asetat plak tampon içine daldırılarak 20 dakika süreyle ıslatıldıktan sonra elektroforez kabının her iki yanındaki havuzlara 50'şer ml buffer konuldu. İki kağıt-fitil buffer içinde ıslatıldıktan sonra her iki destek köprüsü üzerine temas edecek şekilde yerleştirildi. Böylece kab (chamber) elektroforez işlemi için hazır hale getirildi.

20 dakika süre ile ıslatılmış olan plak, ıslatma kabı içinden alınarak bir defaya mahsus olmak üzere iki kurutma kağıdı arasında bir hamlede kurutuldu. Selüloz asetatlı yüzü yukarı gelecek şekilde ayar tablası üzerine ve bir kenarı "center application" çizgisine temas ettirilerek yerleştirildi. "Applicator" numune ile yüklendi ve ayar tablasındaki asetat plak üzerine getirilerek 5 saniye süre ile düğmesine basıldı. Numune tatbik edilmiş olan bu plak daha sonra elektroforez kabındaki destekler üzerine yerleştirildi. Elektroforez kabına bağlı

bulunan güç tankının düğmesine basılarak akım verildi. Güç kaynağının kronometresi 15 dakikaya, voltajı ise 180 volta ayar edildi. Süre bitince plak yerinden alınarak 5 dakika süreyle "poncesau-S" boyası ile boyandı. 2'şer dakika % 5'lik asetik asit içerisinde 3 seri şekilde yıkanarak fazla boyaları alındı. 2'şer dakika % 100'lük metanolle de 2 seri işleme tutularak suyu giderildikten sonra bu plak densitometrik değerlendirme için şeffaflandırma solüsyonunda (70 ml methanol + 30 ml asetik asit + 4 ml "clear-aid" solüsyonu) 5 dakika süre ile tutuldu. Daha sonra çıkartılarak 1 dakika oda ısısında bekletildi ve 50-60 °C arasında etüvde kurutulurak 525 nm dalga boyunda densitometrede okundu. Protein fraksiyonlarının skanner ekranındaki kantitatif değerleri ve bu değerlere ait grafikleri alınarak değerlendirildi.

## BULGULAR

Yaşları 16 ile 25 arasında değişen sağlıklı 44 futbolcudan maç öncesi ve maç sonrası alınan idrar numunelerinde selüloz asetat elektroforez ile elde edilen protein fraksiyonlarına ait değerlerin aritmetiksel ortalamaları karşılaştırmalı olarak Tablo-1'de verilmektedir.

İdrarda, Albümin/Globulin (A/G) oranı istirahatte % 0.53 düzeyinde iken egzersiz sonrası

Tablo 1. İdrar örneklerinin proten elektroforezi (n= 44)

İdrar Örnekleri	Albümin	$\alpha_1 + \alpha_2$ - globulin	$\beta + \gamma$ - globulin	A / G	$\alpha/\beta + \gamma$ -globulin
İstirahat	% 35.0	% 38.9	% 26.1	% 0.53	% 1.49
Egzersiz	% 73.1	% 10.7	% 16.2	% 2.71	% 0.66

% 2.71'e yükselmektedir. Bu değer, öncelikle plazma albümin atılımının önemli derecede arttığını göstermektedir. Aynı zamanda,  $\alpha$ -globulin /  $\beta$ -globulin +  $\gamma$ -globulin oranının istirahatte % 1.49 iken egzersiz sonrasında % 0.66'ya düşmesi  $\beta$  ve  $\gamma$ -globulinlerin atılımında da belirgin bir artışın olduğunu ortaya koymaktadır.

## TARTIŞMA

Şiddetli egzersizler böbrek hemodinamiğinde ve idrarın protein bileşiminde önemli değişikliklere neden olmaktadır. Egzersiz esnasında kan akım hızının artmasıyla birlikte nefronlardaki kan akım hızı da artmaktadır. Buna bağlı olarak glomerul filtrasyon hızı büyük ölçüde artar (13). Ayrıca hor-

monal aktivitede de artışlar görülür. Renin, anjiotensin, aldosteron ve antidiüretik hormon egzersiz esnasında böbrek üzerinde etkili olmaktadır (12,22). İdrardan protein atılışını etkileyen hemodinamik değişikliklerin mekanizmaları iyi bilinmemektedir. Ancak, anjiotensin ve norepinefrin gibi vazoaaktif bileşikler ile egzersiz idrardan proteinlerin atılımını arttırmaktadır (30).

Alyea ve Parish (1958) yaptıkları çalışmalarda futbol, boks, kürek, yüzme ve koşu gibi sporlarda ağır egzersiz yapılmasından sonra atletlerin % 70-80'inde proteinüri tesbit etmişlerdir (31). Egzersiz proteinürisi fonksiyonel olup, kişinin eforunu izleyen saatlerde ortaya çıkmaktadır. Efora bağlı olarak böbrek kan akımındaki değişiklikler glomerul diffüzyonundaki artışa ve proksimal tubuluslardaki geçici iskemiye neden olarak proteinüri oluşmaktadır. Gerek egzersiz esnasında ve gerekse böbreğin patolojik durumlarında, idrarda en çok rastlanan protein türleri serum albümin ve serum globulindir (6,12,13).

Egzersiz böbrek fonksiyonları üzerine olan etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, selülöz asetat elektroforez yöntemi kullanılarak futbolculardan maç öncesi istirahat devresinde alınan idrarların protein değerleri ile 90 dakikalık maç süresinin sonunda alınan idrarların protein değerleri karşılaştırılmalı olarak incelendi. Kalitatif ve kantitatif olarak yapılan değerlendirmeler sonucunda egzersizde öncelikle ve önemli olarak sırasıyla plazma albümin ile  $\beta$  ve  $\gamma$ -globulinlerin itrahında artış olduğu tesbit edildi.

Literatürlerde plazma proteinlerinin elektroforez metodu ile elde edilen fraksiyon değerlerinin total proteine göre yüzde oranları sırasıyla ve ortalama olarak albümin % 59.2,  $\alpha_1$ - globulin % 3.9,  $\alpha_2$ - globulin % 7.5,  $\beta$ - globulin % 12.1,  $\gamma$ - globulin % 17.3, A/G oranı ise % 1.67 şeklinde verilmektedir (12,32-34). İfade edilen bu değerler albüminin plazma konsantrasyon seviyesinin diğerlerine oranla daha fazla olduğunu göstermektedir. Ayrıca al-

büminin molekül ağırlığının (69.000) daha düşük olduğu da gözönüne alındığında, egzersiz sırasında atılımındaki artışın nedeni ortaya çıkmaktadır. Albümin ve albümine göre daha büyük moleküllü olan globulinlerin idrarda görülmeleri, egzersiz esnasında özellikle glomerul membranının permeabilitesindeki artıştan kaynaklanmaktadır. Ayrıca proteinlerin plazma konsantrasyon seviyeleri ve molekül büyüklüklerine ilaveten egzersiz esnasında glomerul membranındaki elektriksel bariyerin ortadan kalkması, artan filtrasyona karşı tübüllerin reabsorpsiyon gücündeki yetersizlik proteinüri nedenini oluşturmaktadır (8,12-14).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, istirahat idrarının albümin değeri % 35.0 iken egzersizde % 2.088 kat artarak % 73.1'e ve A/G oranı ise % 0.53'ten % 2.71'e yükselmiştir. Aynı zamanda  $\alpha$ -globulin /  $\beta$ -globulin+ $\gamma$ -globulin oranı, istirahatte % 1.49 olan değerden egzersiz sonrasında % 0.66'ya düşmektedir.

Poortmans ve Kerchove 1962'de yaptıkları benzer çalışmada, 20-35 yaşları arasında antrenmanlı 14 erkek atleti 30-45 dakika süren 8 km'lik bir kırı koşusuna tabi tutarak, koşu öncesi istirahat devresinde, koşunun bitiminde ve takip eden 30. dakikada olmak üzere üç aşamada idrar örneği almışlardır. Bu idrarların protein örneklerini elektroforez işlemine tabi tutarak incelemişler ve istirahat idrarında albüminin % 32.2, A/G oranının % 0.48, egzersizden sonra alınan idrarlarda ise albüminin % 70.3, A/G oranının % 2.37 düzeyinde olduğunu bulmuşlardır. Aynı zamanda istirahatte  $\alpha$ -globulin/ $\beta$ -globulin+ $\gamma$ -globulin oranını % 1.83, egzersizden sonra ise aynı oranı % 0.65 olarak tesbit etmişlerdir (20).

Futbolcular üzerinde yapılan çalışmalardan alınan sonuçlar ile literatürde sözü geçen benzer çalışmadan alınan sonuçlar arasında yakın bir ilgi olmakla birlikte, aradaki ufak sayısal farklılıkların egzersizin değişik özelliklerinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Earle DP. Manual of clinical nephrology. Philadelphia: WB Saunders Company, 1982;11-535.
2. Fang Leslie ST. Pretest manual of clinical nephrology. New York: Mc Graw-Hill Inc, 1983:104.
3. Berkseth RO, Kjellstrand CM. Radiologic contrast-induced nephropathy. Med Clin North Am 1984;68:351-70.
4. Maisey MN, Ogg CS. Advances in the use of radionuclides in clinical nephrology, recent advances in clinical medicine 2. New York: Churchill Ltd, 1982:213-41.

5. Striegel J, Michael AF, Chavers BM. Asymptomatic proteinuria. Bening disorder or harbinger of disease. *Postgrad Med* 1988;83(8):287-94.
6. Berggard I. Plasma proteins in normal human urine. In: Manuel Y, Betuel H, Revillard JP, eds. *Proteins in normal and pathological urine*. Baltimore:Universty Park Press, 1970:7-19.
7. Chavers BM, Vernier RL. Proteinuria and enzymuria. *Sem Nephrol* 1986;6(4):371-88.
8. Poortmans Jr, Jeanloz RW. Quantitative immunological determination of 12 plasma proteins excreted in human urine collected before and after exercise. *J Clin Invest* 1968;47:386-93.
9. Poortmans Jr, Vancalck B. Renal glomerular and tubular impairment during strenous exercise in young women. *Eur J Clin Invest* 1978;8:175-8.
10. Hostetter TH. The hyperfiltering glomerulus. *Med Clin North Am* 1984;68:387-98.
11. Deen WM, Maddox DA, Robertson CR. Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat: Response to reduced renal mass. *Am J Pysiol* 1974;227:556.
12. Dennis VW, Robinson RR. Clinical proteinuria. *Adv Intern Med* 1988;91:249-69.
13. Poortmans Jr. Postexercise proteinuria in humans. Facts and mechanisms. *JAMA* 1985;253(2):236-40.
14. Poortmans Jr. Egzercise and renal function. *Sports Med* 1984;1:725-53.
15. Rah PJ, Wilson IO. Other body systems and exercise, II the kidney. In: Fall HB, ed. *Exercise physiology*. New York: Acedemic Press Inc, 1986:130-9.
16. Poormants Jr, Labilloy D, Niset G. Relationship between post-exercise proteinuria and venous lactate. *Med Sci Sport Exerc* 1981;13-84.
17. Foulkes EC. Tubular reabsorption of low molecular-weight proteins. *Physiologist* 1982;25:56-9.
18. Maack T. Renal handling of low-molecular weight proteins. *Am J Med* 1975;58:57-64.
19. Peterson PA, Evrin PE, Berggard I. Differentiation of glomerular, tubular and normal proteinuria: Determination of urinary excretion of  $\beta_2$ -microglobulin, albumin and total protein. *J Clin Invest* 1969;48:1189-98.
20. Poortmans Jr, Kerchove EV. La proteinurie d' effort. *Chem Acta* 1962;7:229-42.
21. Grand GH. The proteins of normal urine. *J Clin Path* 1957;10:360-8.
22. Bala RM, Beck JC. Human growth hormone in urine. *J Clin Endocr* 1971;33:799-806.
23. Gamblin JM. The theory of electrophoresis. *International Newsletter* 1977;8:46-59.
24. Ross DL, Neely AE. *Textbook of urinalysis and body fluids*. Conneticut: Appleton-Centry-Croffs, 1983.
25. Windisch RM, Bracken MM. Cerebrospinal fluid proteins: Concentrations by membrane ultrafiltration and fractionation by electrophoresis on cellulose acetate. *Clin Chem* 1970;16(5):416-9.
26. Lindstedt G, Lundberg P. Los of tubular proteinuria pattern during urine concentration with a commercial membrane filter cell (Minicon B-15 system). *Clin Chim Acta* 1974; 56:125-6.
27. Anderson NG, Anderson NL, Tollaksen SL, Hahn H, Giere F, Edward J. Analytical techniques for cell fractionation XXV. concentration and two-dimensional electrophoresis analysis of human urinary proteins. *Anal Biochem* 1979; 95(1):48-61.
28. Allchin JP, Evans GO. A simple rapid method for the detection of rat urinary proteins by agarose electrophoresis and nigrosine staining. *Lab Anim* 1986;20(3):202-5.
29. Alt JM. Urinary protein excretion in interstitial and tubular kidney disease as characterized by gradient electrophoresis. *Clin Wochenschr* 1983;61:641-8.
30. Mogensen CE, Vittinghus E, Solling K. Abnormal albumin excretion after two provocative renal tests in diabetes: Physical exercise and lysine injection. *Kidney Int* 1979;16:385-93.
31. Alyea EP, Parish HH. Renal response to exercise: urinary findings. *JAMA* 1958;167:808-13.
32. Baban N. *Protein biyokimyası*. İstanbul: Nazım Terzioğlu Matematik Araştırma Enstitüsü Baskı Atölyesi, 1980:80-5.
33. Dean W M, Satvat B. Determinant of glomerular filtration of proteins. *Am J Physiol* 1981;241:162-70.
34. Mentş NK, Mentş G. Harper'in biyokimyaya bakışı ("Riew of physiological chemistry" isimli kitabın çevirisi). İzmir: Ege Üniv. Basımevi, 1988:788-801.