Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 9:28 IRST on Monday October 14th 2019

بررسی ارتباط آنتی اکسیدان تام با آنزیم کراتین فسفوکیناز و پراکسید هیدروژن در دختران ورزشکار؛ تحت تاثیر تمرینات شدید ورزشی

***بهروز بقایی:** کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ، ایران(*نویسنده مسئول). behrouz_phsport@yahoo.com
دکتر بختیار ترتیبیان: دانشیار و متخصص فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. ba.tartibian@gmail.com
دکتر بهزاد برادران: استادیار ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. behzad_im@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۹ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۰/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: بررسی ها نشان می دهد که ارتباط دقیق شاخص های آنتی اکسیدانی با تغییرات ایجاد شده در سطوح شاخص های التهابی و استرس اکسیداتیو به طور دقیق مشخص نشده است، لذا هدف از این تحقیق بررسی ارتباط آنتی اکسیدان تام با آنزیم کراتین فسفوکیناز و پراکسید هیدروژن در دختران ورزشکار؛ تحت تاثیر تمرینات شدید ورزشی می باشد.

روش کار: تحقیق حاضر از نوع نیمه تجربی با اندازه گیری متعدد می باشد که در آن ۲۵ زن ورزشکار با دامنه سنی ۲۱-۲۴ سال، داوطلب شده و رضایت نامه شرکت در تحقیق را تکمیل کردند.در سه مرحله قبل از انجام تست ورزشی(Graded Exercise Test GXT) (شیب ۵ درصد، سرعت ۱۲ کیلومتر بر ساعت، زمان ۲۰ دقیقه)، بعد از تمرین ورزشی و ۳ ساعت بعد از آن، خون گیری از ورید بازویی به عمل آمد. برای اندازه گیری سطح سرم آنتی اکسیدان تام و پراکسید هیدروژن و کراتین فسفوکیناز از دستگاه اتوآنالیزور و برای بررسی های آماری نیز از روش Mixed Model استفاده شد.

یافته‌ها: غلظت ((Total Antioxidant Status(TAS) بعد از فعالیت ورزشی با افزایش معنی داری مواجه شد ($p\leq۰/۰۳۱$) (۰/۱۶±۰/۸۹)، اما آنالیز آماری Mixed model نشان داد که سطح TAS ۳ ساعت بعد از تمرین شدید کاهش یافته است ($p\geq۰/۰۶۵$) (۰/۱۵±۰/۸۸). سطح پلاسمایی پراکسید هیدروژن بعد از انجام تست ورزشی تغییر معنی داری نیافت ($p\geq۰/۲۵۵$) (۱/۳۸±۲/۸۴) و فقط در مرحله بهبودی افزایش آن معنی دار گزارش شد($p\leq۰/۰۰۱$) (۱/۱۶±۳/۰۴).غلظت(CPK(Creatine PhosphoKinase، در هر دو مرحله بعد از فعالیت و بهبودی افزیش معنی داری یافت ($p\leq۰/۰۰۲$ و $p\leq۰/۰۳۶$) (۱۸±۹۶ و ۱۹±۹۰).

نتیجه گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که دستگاه ایمنی دختران ورزشکار در پاسخ به تمرین شدید بدنی از طریق افزایش سطح آنتی اکسیدان از آسیب های ناشی H2O2 و CPK به بافت ها جلوگیری می نماید و بر خلاف تصور، آنزیم CPK نیز در تحریک پاسخ های آنتی اکسیدانی در دختران ورزشکار نقش موثری دارد .

کلیدواژه‌ها: TAS، CPK، H2O2، دختران ورزشکار.

مقدمه

مطالعات نشان داده است که تمرینات ورزشی شدید با افزایش سطح رادیکال‌های آزاد و ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو همراه است (۱). استرس اکسیداتیو نیز به شرایطی اطلاق می شود که تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و قابلیت دفاعی آنتی اکسیدان‌ها در دستگاه ایمنی بدن بر هم زده شود. از سویی دیگر رادیکال های آزاد نیز به اتم یا مولکول‌هایی گفته می شود که یک یا چند الکترون جفت نشده داشته، در بیشتر سلول‌ها قابلیت تولید داشته و توانایی آسیب به بافت‌های مختلف را دارا می باشند (۲ و ۳).

محققین گزارش کردند که تمرینات ورزشی، افزایش اکسیژن مصرفی در میتوکندری ها را سبب می شود که نتیجه آن افزایش سطح رادیکال های آزاد در سلول‌ها می‌باشد (۴). همچنین بر طبق مطالعات، ۲ تا ۵ درصد از اکسیژن مصرفی از سوی میتوکندری ها در شرایط عادی می تواند به تولید رادیکال‌های آزاد منجر شود، که این شرایط در طول تمرینات شدید ورزشی به چند برابر حالت استراحت افزایش پیدا می‌کند (۴). اما افزایش رادیکال‌های آزاد با آسیب های مختلف مانند

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 9:28 IRST on Monday October 14th 2019

آسیب غشای پلاسمایی، آسیب DNA،کاهش ایمنی بدن، عفونت، سرطان، بیماری های قلبی عروقی، بیماری های مفصلی و حتی بیماری های روحی، روانی همراه است (۵ و۶). پراکسید هیدروژن (H_2O_2) نیز جزیی از این رادیکال آزاد بوده و در ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو، آسیب‌های بافتی در بافت ها نقش مهمی را ایفا کرده و آسیب های بافتی در لنفوسیت ها را سبب می‌شود (۷).

از دیگر عوامل موثر بر دستگاه ایمنی بدن آنزیم کراتین فسفوکیناز آنزیمی (CPK enzyme) است که در تولید انرژی در شرایط بی هوازی دخالت دارد. این آنزیم در اکثر سلول ها یافت می شود، اما ایزوفورم‌های(Isoform) مختلفی از آن در بافت‌های مختلف وجود دارد که در سلول های عضلانی ایزوفورم CPK-MM حضور بیشتری دارد. بررسی های محققین به افزایش آنزیم کراتین فسفوکیناز در اثر فعالیت شدید بدنی اشاره داشته و گزارش شده است که افزایش این آنزیم در خون، نشان دهنده آسیب های بافتی و شرایط التهابی می‌باشد. آنزیم CPK در شرایطی که فعالیت به سمت بی هوازی بودن تمایل پیدا کرده باشد، افزایش پیدا می کند (۸).

با افزایش شدت فعالیت ورزشی، سطح پراکسید هیدروژن و CPK افزایش می یابد که این فرایند موجب افزایش در تولید و رها سازی آنتی‌اکسیدان‌ها از دستگاه ایمنی بدن می شود. آنتی‌اکسیدان‌ها نیز به دو شکل آنزیماتیک و غیر آنزیماتیک وجود دارند (۸). آنزیم های آنتی‌اکسیدان که از بافت های مختلف در پاسخ به استرس اکسیداتیوها آزاد می شوند، خاصیت تخریبی رادیکال ها را از طریق کاهش انرژی یا الکترون های آن‌ها وجلوگیری از شکل گیری اولیه واکنش های اکسیداتیو کاهش می دهند و اکسیژن فعال را به آب تبدیل می کنند (۹). از آنزیم های آنتی اکسیدان آنزیمی می توان به سوپراکسیداز دیسموتاز ((Superoxide Dismutase (SOD))، گلوتاتینو کاتالاز اشاره کرد. آنزیم سوپر اکسیداز دیسموتاز در دو نوع مختلف وجود داشته (Cu/Zn SOD و Mn SOD) و جز نخستین آنزیم‌های دفاعی در برابر رادیکال های آزاد بوده که باعث تبدیل آن هابه H2O2 می شود و در نهایت آنزیم کاتالاز باعث تبدیل H2O2 به H2O و O2 می شود.

SOD + OFR (oxygen free radical) -->
H2O2 (Hydrogen Peroxide) + O (Oxygen)
2H2O2 --CAT--> H2O + O2

واکنش آنزیم های آنتی اکسیدان با رادیکال های آزاد

مطالعات نشان داده است که ورزش های منظم, سطح سرمی رادیکال‌های آزاد و کراتین فسفوکیناز را در افراد تمرین کرده، در حالت استراحت کاهش داده و در هنگام تمرینات ورزشی نیز با وجود این که سطح این شاخص ها با افزایش چند برابری نسبت به حالت پایه همراه است، اما همچنان سطح موارد فوق در افراد تمرین کرده و ورزشکار،کمتر از افراد کم تحرک می باشد (۱۰). از سویی دیگر گزارش شده است، افراد تمرین کرده نسبت به افراد کم تحرک در پاسخ های آنتی اکسیدانی به عوامل التهابی و رادیکال های آزاد نیز دارای تفاوت هایی هستند، چنانچه افراد ورزشکار در حالت پایه نسبت به افراد کم تحرک از سطح آنتی اکسیدان بیشتر و سطح پراکسید هیدروژن کمتری برخوردار هستند(۱۱و۱۲).

با توجه به مطالب فوق و با اهمیت به این که مصرف اکسیژن در اثر فعالیت های شدید ورزشی به ۱۰ تا ۲۰۰ برابر بیشتر از زمان استراحت افزایش می یابد و این احتمال وجود دارد که بین پاسخ های آنتی اکسیدانی و تولید و رهاسازی رادیکال های آزاد و عوامل التهابی در افراد ورزشکار ارتباط و تاثیراتی وجود داشته باشد، در نظر گرفتن ویژگی های فیزیولوژیکی زنان مانند هورمون‌های زنانه نیز بر عوامل آنتی اکسیدانی و اکسیدانی در کنار مطالب گفته شده، بسیار حایز اهمیت می باشد (۱۳). از این رو تحقیقاتی که میزان دقیق ارتباط و تاثیر بین آنتی اکسیدان تام و H2O2 و آنزیم CPK را در اثر تمرینات شدید ورزشی بررسی کرده و آن را در دختران ورزشکار به خصوص نژاد آسیایی و ایرانی مورد بررسی قرار داده باشد، از سوی محققین پژوهش حاضر یافت

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 9:28 IRST on Monday October 14th 2019

نشد و تاثیر عوامل التهابی بر پاسخ های آنتی اکسیدانی به طور یقین مشخص نشده است. از این رو محققین در این تحقیق به بررسی پاسخ های آنتی در تمرینات شدید ورزشی در دختران ورزشکار و تعیین ارتباط بین آنتی اکسیدان تام و H_2O_2 و آنزیم CPK خواهند پرداخت.

روش بررسی

آزمودنی‌ها: ۲۵دختر ورزشکار آمادگی جسمانی کار شهر ارومیه در محدوده سنی ۲۱-۲۴ سال داوطلب شرکت در تحقیق حاضر شدند. آزمودنی‌ها در خصوص اهداف تحقیق، شرایط شرکت در آزمون‌ها و مراحل مختلف تحقیق توجیه شدند و به منظور آگاهی از وضعیت تندرستی آنان، پرسشنامه تندرستی را تکمیل نمودند. جهت شرکت در تحقیق رضایت نامه از آنان اخذ گردید.تمام آزمودنی‌ها از نظر دوره قاعدگی در مرحله پیش از این دوره قرار داشتند. ویژگی های فردی آزمودنی‌ها شامل قد(متر)، وزن(کیلوگرم)، شاخص توده بدنی (BMI=Body Mass index)، درصد چربی، فشار خون استراحت (میلی متر جیوه) و ضربان قلب استراحت (ضربان/ دقیقه) و حداکثر اکسیژن مصرفی(Volume of O2 V02max=maximum)(میلی لیتر/کیلوگرم /دقیقه) اندازه‌گیری شد.

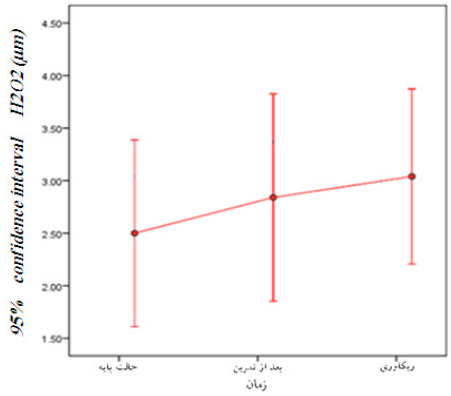
در شرایط پایه و ناشتا به منظور بررسی غلظت پایه توتال آنتی اکسیدان و پراکسید هیدروژن و کراتین فسفوکیناز به مقدار ۴ سی سی خون وریدی جمع آوری شد. تا در آزمایشگاه مرکز تحقیقات ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز سایر فرایندهای تحلیل را طی نماید.

برنامه پروتکل فعالیت بدنی: در تحقیق حاضر از پروتکل ورزشی GXT (Graded exercise test) استفاده شد که در آن آزمودنی‌ها ابتدا به مدت سه دقیقه روی حداقل شیب نوار گردان شروع به راه رفتن کردند. سپس در مرحله بعد با افزایش زمان فعالیت، شیب و سرعت فعالیت افزایش یافت و حداکثر به شیب ۵ درجه و سرعت ۷/۵ مایل (۱۲ کیلومتر بر ساعت) در ساعت رسید و آزمودنی ها ۲۰ دقیقه فعالیت مورد نظر را انجام دادند. ۵ ثانیه پس از اتمام فعالیت نمونه خون به مقدار ۴سی‌سی جمع آوری گردید. بعد از ۳ ساعت از اتمام فعالیت فزاینده، مجددا به مقدار ۴ سی‌سی خون‌گیری سوم به عمل آمد.

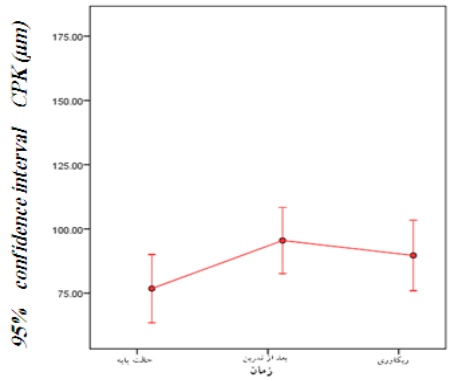
نحوه محاسبه V02max:(این فرمول به دختران اختصاص دارد):

:حداکثر اکسیژن مصرفی
+ (وزن بر حسب کیلوگرم× ۰/۱۹۳) – ۵۴/۰۷
– (سرعت به ساعت/مایل × ۴/۴۷)
(ضربان قلب × ۰/۱۴۵۳)

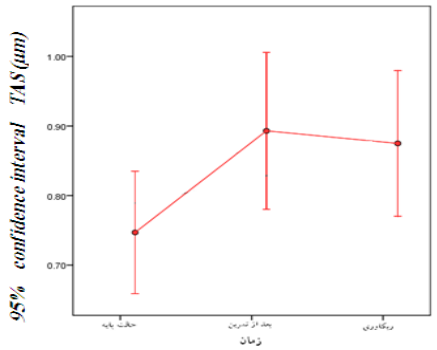
روش آزمایشگاهی اندازه گیری پراکسید هیدروژن: اساس روش اندازه گیری پراکسید هیدروژن سرمی بر پایه واکنش با تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric Acid (TBA)، استخراج با بوتانل نرمال، اندازه گیری جذب باروش اسپکتروفتومتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد می باشد. اندازه گیری پراکسید هیدروژن با حل کردن ۵۰۰ میکرو لیتر سرم در ۳ میلی لیتر اسید فسفریک (شرکت مرک) ۱٪ آغاز می گردد. پس از ورتکس کردن (Vortex) به میزان ۱ میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید ۰/۶۷٪ (شرکت مرک)به لوله آزمایش اضافه شده و پس از ورتکس کامل به مدت ۴۵ دقیقه در داخل یک بن ماری در حال جوش قرار داده می شود. بعد از اتمام مدت لازم، لوله های آزمایش را زیر آب سرد خنک کرده، به میزان ۲ میلی لیتر بوتانل نرمال اضافه نموده، به مدت ۱ الی ۲ دقیقه ورتکس و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ نموده و پس از جدا کردن فاز آلی (محلول رویی) اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل بوتانل نرمال به عنوان بلانک انجام گرفت. غلظت پراکسید هیدروژن سرمی نمونه‌های حاصل پس از انتقال به منحنی استاندارد (۱،۱،۳و۳ تترامتوکسی پروپان (C7H16O4) در ۶ غلظت مختلف ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۲ نانو مول در میلی لیتر با استفاده از حل کردن در آب دیونیزه تهیه و جهت رسم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت) و غلظت



نمودار ۱- سطح H_2O_2 در سه مرحله از فعالیت در دختران ورزشکار



نمودار ۲- سطح CPK در سه مرحله از فعالیت در دختران ورزشکار



نمودار ۳- سطح Total antioxidant در سه مرحله از فعالیت در دختران ورزشکار

پراکسید هیدروژن سرمی نمونه ها تعیین گردید.

اندازه گیری توتال آنتی اکسیدان: اندازه گیری آنتی اکسیدان تامبا استفاده از کیت (Randox, Uk) و دستگاه اتوآنالیزور COBAS-MIRA plus (ساخت کمپانیRoche) انجام یافت.

اندازه گیری آنزیم کراتین فسفوکیناز: اندازه‌گیری کراتین فسفوکیناز با استفاده دستگاه اتوآنالیزور COBAS-MIRA plus (ساخت کمپانیRoche) و روش نوین گوزل و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد (۷).

یافته‌ها

تحقیق حاضر از نوع نیمه تجربی با اندازه‌گیری‌های متعدد می باشد که در آن از آزمون کلموگروف- اسمرینف(Kolmogorov-Smirnov) برای تعیین توزیع طبیعی داده ها و از روش آماری Mixed model شامل آزمون های تست تعقیبی بن فریونی Bonfreoni برای مقایسه مراحل مختلف فعالیت با حالت پایه و آزمون رگرسیون regression برای تعیین ارتباط داده ها با استفاده نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ و Excel 2010 استفاده گردید.

در جدول ۱ ویژگی های فیزیولوژیکی دختران ورزشکار نشان داده شده است. آنالیر آماری Mixed Model نشان داد که سطح H2O2 بلافاصله بعد از فعالیت، افزایش یافت، اما این تغییرات از لحاظ آماری معنی دار گزارش نشد (۲/۸۴±۱/۳۸)(p≥۰/۲۵۵)؛ در حالی که ۳ ساعت بعد از فعالیت غلظت H2O2 افزایش معنی دار پیدا کرد (۳/۰۴±۱/۱۶)(p≤۰/۰۰۲) (نمودار ۱).

غلظت پلاسمایی آنزیم CPK نیز بعد از فعالیت افزایش معنی داری یافت (p≤۰/۰۰۲) (۹۶±۱۸)، اما در مرحله بهبودی(Recovery) بهبودی نیز با وجود کاهشی که در سطح CPK رخ داد، همچنان در مقایسه با حالت پایه تفاوت معنی داری داشته و بیشتر از آن گزارش شد (p≤۰/۰۳۶) (نمودار ۲) (۹۰±۱۹).

سطح آنتی اکسیدان تام (Total antioxidant status) نیز بعد از فعالیت افزایش معنی داری را از نظر آماری نشان داد(p<۰,۰۳۱)(۰/۸۹±۰/۱۶)، اما آنالیز آماری Mixed model نشان داد که سطح این شاخص آنتی اکسیدانی ۳ ساعت بعد از تمرین شدید کاهش یافته است که نسبت به حال پایه تفاوت معنی‌داری نداشت (p≥۰/۰۶۵) (۰/۸۸±۰/۱۵) (نمودار ۳). (لازم به ذکر

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 9:28 IRST on Monday October 14th 2019

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 9:28 IRST on Monday October 14th 2019

جدول ۱- ویژگی های فیزیولوژیکی دختران ورزشکار

متغییر	Mean± SD
سن	۱± ۲۳
قد	۴/۳۴ ± ۱۶۰/۸
وزن	۵/۸۷ ± ۵۳/۱
حداکثر اکسیژن مصرفی	۱/۸۳± ۵۲/۶
شاخص توده بدنی	۱/۶۱ ± ۲۰/۵۱

جدول۲- ارتباط و تاثیر بین تغییرات TAS و H2O2 و CPK بر اساس روش آماری Mixed Model

پاسخ	متغییر	B (۹۵% confidence interval فاصله اطمینان)	p
Total antioxidant status	H_2O_2	۰/۰۵۱	۰/۱۱
	CPK	۰/۰۲	۰/۰۱

تمام pvalue ها در مقایسه با حالت پایه به دست آمده‌اند). همچنین بررسی آماری که با استفاده از آزمون آماری mixed Model (regression) انجام یافت، نشان داد که بین تغییرات سطح آنتی اکسیدان تام و H_2O_2 در طول مراحل فعالیت ارتباط معنی داری وجود دارد (p≤۰/۰۵۱) و به ازای هر یک واحد افزایش H_2O_2 ، سطح Total antioxidant status ۰/۱۱ واحد افزایش داشته است (جدول ۲).

بین تغییرات Total antioxidant status و CPK نیز ارتباط و تاثیر معنی داری گزارش شد (p≤۰/۰۲) به طوری که به ازای هر یک واحد افزایش CPK، Total antioxidant status ۰/۰۱ افزایش یافت (جدول ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر سطح H_2O_2 در آزمودنی های ورزشکار دختر، بعد از تمرین شدید بدنی با افزایش مواجه شد، که این تغییر از نظر آماری معنی دار گزارش نشد. اما ۳ ساعت بعد از فعالیت این افزایش معنی دار گزارش گردید. افزایش H_2O_2 در یافته‌های پژوهش حاضر نشان دهنده شدت فعالیت می باشد، به طوری که هر اندازه شدت این فعالیت بیشتر باشد سطح رادیکال های آزاد نیز متعاقب آن بیشتر خواهد بود (۱۴و۱۵). افزایش رادیکال های آزاد و از آن جمله افزایش پراکسید هیدروژن با افزایش آسیب های بافتی همراه است، و از غلظت رادیکال های آزاد می توان به شدت آسیب های وارد شده به بافت ها پی برد. چنانچه محققین در مطالعه دیگری نیز افزایش سطح H_2O_2 در سرم را نشان دهنده التهاب و آسیب برای عضلات دانسته‌اند(۱۶). از سویی دیگر گزارش شده است که افزایش رادیکال های آزاد در سلول‌ها و بافت ها باعث رها سازی و دفع تدریجی آن‌ها در خون شده و در ایجاد آسیب در سایر بافت‌ها ازجمله لنفوسیت ها نیز موثر است (۱۵). از این رو دلیل افزایش پراکسید هیدروژن در مرحله بهبودی را می توان دفع تدریجی این ماده از بافت‌ها و تجمع آن در خون دانست .اما عوامل متعددی دیگری نیز در افزایش سطح رادیکال های آزاد موثر هستند که از جمله آن‌ها می توان به سن، هورمون ها، سلامت قلبی عروقی، ژنتیک، جنسیت و سبک زندگی اشاره کرد (۱۷ -۱۹).

دانشمندان اعتقاد دارند که افراد ورزشکار از سطح رادیکال های آزاد کمتری نسبت به افراد کم تحرک برخوردار هستند و میتوکندری و سلول‌های این افراد در مقایسه با افراد غیر ورزشکار، در اثر فعالیت های ورزشی رادیکال های آزاد کمتری را تولید می‌کنند (۲۰). یافته های محققین نشان می‌دهد ورزش شدید سطح اکسیداتیو استرس‌ها را افزایش می دهد، اما فعالیت منظم ورزشی نه تنها از افزایش سطح رادیکال های آزاد در حالت پایه و در طول ورزش ممانعت به عمل می آورد، بلکه سطح آن را نسبت به افراد کم تحرک کاهش می‌دهد. بنابراین می توان سطوح پایین H_2O_2 در افراد ورزشکار را به سازگاری بافت ها و سلول ها در تولید غلظت پایین از این اکسیدان ها و مقاومت در برابر آن‌ها دانست (۱۹).

علاوه بر این یافته های ما مشخص کرد که سطح CPK بعد از فعالیت هوازی شدید و در حالت بهبودی تفاوت معنی داری با قبل از فعالیت داشت، به طوری که نسبت به حالت پایه افزایش معنی‌داری یافت. در ارتباط افزایش در سطح آنزیم CPK، در اثر فعالیت هوازی دلایل متعددی را

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 9:28 IRST on Monday October 14th 2019

می‌توان ذکر کرد که از آن جمله نوع فعالیت ورزشی مورد استفاده در تحقیقات می باشد. برنامه تمرینی به کار گرفته شده تحقیق حاضر، تست ورزشی هوازی شدیدی بود که در آن مصرف اکسیژن به صورت چشمگیری افزایش یافت. اما همان طور که گزارش شد، این آنزیم در اثر شرایط بی هوازی افزایش معنی داری می یابد، بنابراین دلیل افزایش غلظت پلاسمایی آنزیم CPK را می‌توان تمایل به بی هوازی بودن فعالیت در لحظات آخر آن دانست; به طوری که در دقایق آخر انجام فعالیت شدید و به علت شدت آن، فعالیت به سمت بی هوازی بودن تمایل پیدا کرده و فرد بخشی از انرژی مورد نیاز خود را از طریق آنزیم CPK تامین نموده است. همچنین این احتمال وجود دارد که آسیب غشای فیبرهای عضلانی و در نتیجه رهاسازی آنزیم CPK از عضله‌ها به خون، از دلایل افزایش پلاسمایی آن باشد. علاوه بر اینعوامل موثر دیگری مانند کم خونی موضعی بافت‌ها، افزایش الکترون ها محیطی، تجمع کاتکولامین ها و اسید لاکتیک نیز در ایجاد شرایط التهابی موثر هستند (۱۵).

در تحقیق حاضر سطح total antioxidant status (TAS) در اثر تمرین ورزشی در دختران افزایش یافت. همان طور که می دانیم دستگاه ایمنی بدن برای مقابله با رادیکال های آزاد از آنتی اکسیدان ها بهره می گیرد. اما مطالعه ای که ارتباط و تاثیر بین آنتی اکسیدان تام (کل) و شاخص های H_2O_2 و CPK را بررسی کرده باشد، و میزان دقیقی از این همبستگی به خصوص در افراد ورزشکار را بیان کرده باشد، از سوی محققین این تحقیق یافت نشدو به طور یقین مشخص نشده است که آیا آنزیم CPK نیز بر پاسخ های آنتی اکسیدانی موثر است یا خیرو این ارتباط و پاسخ ها تا چه اندازه معنادار بوده و در چه حدی قرار دارند.در تحقیق حاضر افزایش سطح H_2O_2 و CPK در افزایش سطح آنتی اکسیدان ها موثر بوده است اما تعیین میزان دقیق این تاثیرات از اهمیت فراوانی برخوردار است. نتایج بررسی های آماری ما نشان می دهد به ازای هر یک واحد افزایش H_2O_2 سطح TAS ۰/۱۱ واحد و به ازای هریک واحد افزایش در سطح CPK، سطح TAS ۰/۰۱ واحد افزایش یافت. بنابراین آنزیم کراتین فسفوکیناز در افزایش سطح آنتی اکسیدان ها و در تحریک دستگاه ایمنی در دختران ورزشکار موثر می باشد. اما موثر ترین عامل در افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان را رادیکال های آزاد و از آن جمله پراکسید هیدروژن می توان دانست.

اما همان طور که گفته شد سن نیز جز عوامل موثر بر پاسخ های اکسیدانی و آنتی اکسیدانی می‌باشد، در تحقیق حاضر نیز افراد شرکت کننده دختران جوانی بودند که از نظر شاخص‌های فیزیولوژیک نیز در سطح مناسبی قرار داشتند. بررسی های محققین دلالت بر این دارد که افراد جوان از پاسخ های آنتی اکسیدانی بهتری نسبت به افراد با سن بالا بهره مندند، درحالی که افراد مسن به دلیل تضعیف دستگاه قلبی عروقی، افزایش رادیکال های آزاد و سطوح کم آنتی‌اکسیدان ها؛ از دستگاه ایمنی ضعیف‌تری برخوردار هستند(۲۳).

اما بسیاری از دانشمندان معتقدند که دختران ورزشکار از پاسخ های آنتی اکسیدانی بهتری در مقایسه با پسران ورزشکار برخوردار هستند در تحقیقی گزارششد که فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در اثر حرکت های تمرینی مانند شنا در دختران بیشتر بوده و آسیب عضلات و بافت ها در پسران بیشتر از دختران می باشد (۱۳). دلیل برتری دستگاه ایمنی دختران نسبت به پسران را می توان در هورمون استروژن دانست، هورمونی که در پسران در سطح بسیار کمی وجود دارد. استروژن از عوامل موثر بر آنزیم های آنتی اکسیدان در دختران می باشد، به گونه ای که این هورمون در افزایش فعالیت آنزیم هایی مانند SOD و کاتالاز موثر بوده و از طریق ایجادبرخی سیگنال‌ها فعالیت این آنزیم ها را افزایش می‌دهد (۲۴).

هورمون استروژن از طریق جلوگیری از بیان ژنی رادیکال های آزاد در دختران مانع از افزایش این عوامل آسیب رسان به عضلات می شود. چنانچه گزارش شده است، میتوکندری دختران به اندازه نصف مقدار میتوکندری پسران رادیکال های آزاد و

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 9:28 IRST on Monday October 14th 2019

نشاته های التهابی از جمله CPK تولید می‌کنند (۲۱). گروهی گزاش نمودند که دختران یائسه به دلیل پایین بودن سطح هورمون استروژن، رادیکال‌های آزاد بیشتری نسبت به دختران جوان داشته و آسیب عضلات نیز که در این سنین بیشتر می‌باشد (۲۲). تحقیق دیگری نیز تاثیر استروژن را بر نشانه‌های التهابی بررسی کرده و گزارش نمودند که موش های تمرین کرده ای که مکمل استروژن دریافت نموده و نسبت به گروه کنترل از استروژن بالایی برخورد دار بودند، در اثر فعالیت بدنی، سطح پایینی از آنزیم CPK را تولید نمودند و آسیب های بافتی ناشی از فعالیت بدنی در گروه با استروژن بالا کمتر از با استروژن کم گزارش شد (۲۵).

از نتایج پژوهش حاضر می توان دریافت که در طول فعالیت های شدید بدنی که به صورت هوازی انجام می یابد، این احتمال وجود دارد که در دقایق پایانی، این حرکت ها به صورت بی هوازی ادامه یابند و باعث افزایش آنزیم های التهابی از جمله CPK شود; که در کنار H_2O_2 در ایجاد آسیب برای عضلات و بافت های مختلف موثر می‌باشند ،اما بیشترین آسیب در این فعالیت ها از پراکسید هیدروژن ناشی می شود. یافته های این تحقیق روشن می سازد که علاوه بر رادیکال های آزاد، آنزیم CPK نیز در پاسخ های آنتی اکسیدانی در دختران ورزشکار موثر می باشد، به طوری که این گروه در پاسخ به تمرین شدید بدنی از طریق افزایش سطح آنتی اکسیدان، از آسیب H_2O_2 و CPK به عضلات جلوگیری می نمایند و هورمون استروژن نیز بر این پاسخ های آنتی اکسیدانی و کاهش سطح H_2O_2 و CPK در دختران ورزشکار موثر می باشد.

در پژوهش حاضر سطح هورمون استروژن و سایر رادیکال های آزاد اندازه گیری نشده است که پیشنهاد می‌شود در تحقیقات بعدی مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

1. Radu MD, Schipu S, Coprean D. The effect of acute physical exercise on the antioxidant status of the skeletal and cardiac muscle in the Wistar rat. Romanian Biotechnological Letters.2010; 15:56-62
2. Ookawara T, Haga S, Ha S, et al. Effects of endurance training on three superoxide dismutase isoenzymes in human plasma. Free Radic Res. 2003; 37:713-719.
3. Via J, Gomez-Cabrera MC, Lloret A, et al. Free radicals in exhaustive physical exercise: Mechanism of production, and protection by antioxidants. IUBMB Life. 2000; 50:271-7.
4. Boveris A, Oshino N, Chance B. The cellular production of hydrogen peroxide. Biochem J. 1972; 128:617-30.
5. Fukai T. Extracellular superoxide dismutase and cardiovascular disease, Online ISSN - Print ISSN 0008-6363. Cardiovasc Res. 2002 Aug 1; 55(2):239-49.
6. Iharaa YÂ, Hayabaraa TÂ. Free radicals and superoxide dismutase in blood of patients with Alzheimer's disease and vascular dementia. J Neurol Sci. 1997; 15:76-81.
7. Nevin Atalay G. Effects of different resistance exercise protocols on nitric oxide, lipid peroxidation and creatine kinase activity in sedentary males. Journal of Sports Science and Medicine. 2007; 6:417-422
8. Ferrer M D, Sureda A, Tauler P, Palacı´n C. Impaired lymphocyte mitochondrial antioxidant defences in variegate porphyria are accompanied by more inducible reactive oxygen species production and DNA damage. Br J Haematol. 2010; 149:759-67.
9. Groussard C, Rannou-Bekono F,Machefer G. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. Eur J Appl Physiol. 2003;89:14-20.
10. Berzosa C, Cebrian I, Fuentes-Broto L, Gomez-Trull´en E. Acute Exercise Increases Plasma Total Antioxidant Status and Antioxidant Enzyme Activities in Untrained Men. J Biomed Biotechnol; 2011.87:5458.
11. Leelarugrayub1 N, Sutabhaha1 T, et al. Exhaustive Exercise Test and Oxidative Stress Response in Athletic and Sedentary Subjects. CMU. Journal.2005; 13: 179-183.
12. Valado A, Pereira L, Tavares P C, Ribeiro C F. Effect of the intense anaerobic exercise on nitric oxide and malondialdehyde in studies of oxidative stress. International Journal of Biology and Biomedical Engineering. 2007; 5:45-65.
13. Nikolaidis M G, Kyparos A, Hadziioannou M. Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. Appl Physiol Nutr Metab. 2007; 32:197-205.
14. Ficiclar H, Zergeroglu AM, Erdogan G,Ozdemir S, Tekin D. The Effects of Short-Term Training on Platelet Functions and Total Antioxidant Capacity in Rats. Physiol Res 2006; 55:151-156.

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 9:28 IRST on Monday October 14th 2019

15. Hamdi P, S, ukru Serdar B, Serkan R. Comparison of Oxidative Stress and Antioxidant Capacity Before and After Running Exercises in Both Sexes. Gend Med. 2009; 6:587-95.

16. Tauler P. Increased lymphocyte antioxidant defences in response to exhaustive exercise do not prevent oxidative damage. J Nutr Biochem. 2006; 17: 665-71.

17. Habif S, Mutaf I, Turgan N, et al. Age and gender dependent alterations in the activities of glutathione related enzymes in healthy subjects. Clin Biochem. 2001; 34:667-71.

18. Sartori-Valinotti JC, Iliescu R, Fortepiani LA, et al. Sex differences in oxidative stress and the impact on blood pressure control and cardiovascular disease. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2007; 34:938–994.

19. Sobocanec S, Balog T, Sverko V, Marotti T. Sex dependent antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in ageing mouse brain. Free Radic Res. 2003; 37:743-8.

20. M. J. Jackson, D. Pye, and J. Palomero. The production of reactive oxygen and nitrogen species by skeletal muscle Physiology. 2007. 102: 1664-1670.

21. Borras C, Gambini J, Vina J. Mitochondrial oxidant generation is involved in determining why females live longer than males. Front Biosci. 2007; 12: 1008-1013.

22. Jaiswar Shyam Pyari, Sachan Rekha, Singh R K, Agarwal Monica. Free radicals in female infertility. J Obstet Gynecol India. 2006; 65:64-67.

23. Lambertucci R H , Levada-Pires A C, Rossoni LV, Curi R, Pithon-Curi TC. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. Mech Ageing Dev. 2007; 128:267-75.

24. Tiidus PM. Can oestrogen influence skeletal muscle damage, inflammation, and repair. Br J Sports Med. 2005; 39:251–253

25. Sotriadou S, Kyparos A, Mougios V. Estrogen effect on some enzymes in female rats after downhill running. Physiol.2003; 52: 743-748.

Original Article

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 9:28 IRST on Monday October 14th 2019

The relationship between total antioxidant status with creatine phosphokinase and hydrogen peroxide in the athlete girls; influenced by acute exercise training

* **Behrooz Baghaiee, MSc.** Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, Urmia University, Urmia, Iran. (*Corresponding Author). behrouz_phsport@yahoo.com
Bakhtiar Tartibian, **PhD.** Associate Professor of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, Urmia University, Urmia, Iran. Emba.tartibian@gmail.com
Behzad Baradaran, PhD. Assistant Professor of Immunology, Immunology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences ,Tabriz, Iran. behzad_im@yahoo.com.

Abstract

Background: The research show that the relationship between antioxidant markers with inflammatory and oxidative stress markers levels changes was not clear, so the purpose of this study is investigation of relationship between total antioxidant status with creatine phosphokinase and hydrogen peroxide in the athlete girls influenced by acute exercise training

Method: This study was a semi-experimental research with a repeated measures design and 25 athlete girls within the age range of 21-24 years old volunteered to participate in the research after having expressed their consent through a consent form. Blood sample were collected in the three stages; pre of GXT (Graded exercise test) exercise test (grade: 5%, speed: 12 km/h, time: 20 minutes), immediately and 3 h after exercise test (recovery phase). Auto analyzer device was used for measurement of total antioxidant status, H_2O_2 and CPK level, also mixed model methods used for statically analysis.

Result: Total antioxidant status (TAS) concentration was faced with a significance increase after of exercise training ($p \leq 0/031$) (0.89 ± 0.16), but mixed model analysis indicated TAS levels has been reduced in 3h after exercise ($p \geq 0/065$) (0.88 ± 0.15). Plasma levels of hydrogen peroxide has not significantly changed after exercise ($p \geq 0/255$) (2.84 ± 1.38), and this increase was significant only in the recovery phase ($p \leq 0/029$) (3.04 ± 1.16), also CPK levels has been significance increased in both phases; after exercise and recovery phase ($p_1 \leq 0/031$, $p_2 \leq 0.002$) (96 ± 18 and 90 ± 19).

Conclusion: The results of this study show that the immune system in athlete girls by increasing in antioxidants levels, can prevented the tissue injury caused from CPK H_2O_2 in response to acute exercise training. And Contrary to popular belief, CPK enzymes are effective role in stimulate of antioxidant response in athlete girls.

Keywords: TAS, CPK, H_2O_2, Athlete girls.