

اثرات دود قلیان و استرس بی حرکتی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و کراتین کیناز سرمی در موش‌های صحرایی ماده

رحیم احمدی: استادیار و دکترای فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، دانشکده علوم پایه، گروه فیزیولوژی، همدان، ایران. rahahmadi2001@yahoo.com

* الناز نقوی: دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، دانشکده علوم پایه، گروه فیزیولوژی، همدان، ایران (*نویسنده مسئول). Paradise00751@yahoo.com

صدیقه مولائی: دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، دانشکده پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، قم، ایران. molaei.sedigheh@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات نشان می‌دهند که بین فعالیت برخی آنزیم‌ها و سبک زندگی ارتباطاتی وجود دارد. هدف این مطالعه تعیین اثرات دود قلیان و استرس بی حرکتی بر میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز و کراتین کیناز سرمی در موش‌های صحرایی ماده می‌باشد.

روش کار: این تحقیق، یک تحقیق تجربی-آزمایشگاهی بود. موش‌های صحرایی ماده نژاد ویستار به گروه‌های ۷ سری شاهد، دریافت‌کننده دود قلیان، تحت بی حرکتی، دریافت‌کننده دود قلیان و بی حرکتی تقسیم شدند. دود تنباکو ۱۰ بار طی دوره‌های ۱۰ دقیقه‌ای و ۵ دقیقه استراحت بینشان و بی حرکتی مژمن طی دو نوبت ۲ ساعته روزانه انجام شد. پس از ۷ هفته، نمونه‌های خونی تهیه و فعالیت آنزیم‌ها در سرم با اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه بین گروه‌ها مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته‌ها: فعالیت سرمی کراتین کیناز و آلکالین فسفاتاز در موش‌های تحت بی حرکتی دریافت‌کننده دود قلیان نسبت به گروه دریافت‌کننده دود قلیان یا گروه تحت بی حرکتی، به‌طور معناداری بیشتر بود (مقادیر P به ترتیب ۰/۰۱۲، ۰/۰۰۹، ۰/۰۴۷ و ۰/۰۴۶) که نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی این دو عامل بر سطح آنزیم‌ها می‌باشد. علاوه بر این، فعالیت این آنزیم‌ها در موش‌های دریافت‌کننده دود قلیان نسبت به گروه تحت بی حرکتی بیشتر بود (مقادیر P به ترتیب برابر با ۰/۰۳۱ و ۰/۰۴۸).

نتیجه‌گیری: این تحقیق نشان داد که شیوع مصرف قلیان و بی حرکتی در ایران، خطری جدی برای سلامتی افراد محسوب می‌شود. ضرورت کنترل این عوامل و اطلاع‌رسانی علمی بیشتر در راستای تأمین سلامت افراد جامعه، امری اجتناب‌ناپذیر به نظر می‌رسد.

کلیدواژه‌ها: کراتین کیناز، آلکالین فسفاتاز، دود قلیان، بی حرکتی، موش صحرایی

مقدمه

امروزه سازمان بهداشت جهانی مصرف دخانیات بالأخص قلیان و تنباکو را به‌عنوان یک تهدید جهانی در نظر گرفته است (۱). از سوی دیگر، بررسی‌های متعددی در زمینه اثرات مصرف دخانیات بر سلامت افراد صورت گرفته است (۲). تحقیقات حاکی از این است که دود تنباکو حاوی بیش از ۴۸۰۰ ماده شیمیایی مختلف است که ۶۹ مورد آن‌ها سرطان‌زا هستند و برخی به پیشرفت تومورها کمک می‌کنند (۳). بررسی‌ها بیانگر رابطه میان مصرف دخانیات و بدخیمی‌های مجاری تنفسی، ریه، معده، کبد، کلیه، مجاری ادراری و لوکمی میلوئید می‌باشد (۴). از سوی دیگر، کراتین کیناز در مقادیر بسیار

کمی در خون یافت می‌شود، اما بیشترین مقدار آن در عضلات مخطط، بافت مغز و قلب می‌باشد (۵). عوامل متعددی مانند فعالیت عضلانی، آسیب عضلانی، نارسائی مژمن کلیوی، بیماری‌های ریوی و یا فعالیت شدید عضلات تنفسی بر سطح سرمی آنزیم کراتین کیناز تأثیرگذار می‌باشند (۶). بررسی‌ها بیانگر ارتباط قابل‌ملاحظه بین مصرف دخانیات و تغییرات سطوح آنزیم‌های بیوشیمیایی بدن می‌باشند (۷).

آلکالین فسفاتاز نیز یک آنزیم غشائی هیدرولازی است که باعث انتقال گروه فسفات از انواع مولکول‌ها شامل نوکلئوتیدها، پروتئین‌ها و آلکالوئیدها می‌شود (۸). عملکرد اصلی آنزیم آلکالین فسفاتاز، احتمالاً تسهیل در انتقال

و سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کبدی می‌شود (۲۲). تحقیقات دیگر نشان‌دهنده تغییرات اکسیداتیو در پاسخ به استرس سرمایی-بی‌حرکتی می‌باشد (۲۳).

در مجموع، گرچه مطالعات گوناگونی در زمینه اثرات مصرف دخانیات بر سطح آنزیم‌ها انجام گرفته، اما مطالعات مقایسه‌ای، به‌ویژه در جنس مؤنث، با وجود شیوع نوپدید مصرف دخانیات در میان جنس ماده (۲۴)، بسیار محدود می‌باشد. بر این مبنا و با توجه به شیوع کم‌ترکی در جامعه ماشینی مدرن، تحقیق حاضر به بررسی اثرات توأم دود قلیان و استرس بی‌حرکتی بر میزان فعالیت سرمی آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و کراتین کیناز در موش‌های صحرانی ماده می‌پردازد.

روش کار

حیوانات: این تحقیق، یک تحقیق تجربی آزمایشگاهی بوده و طی آن کلیه قوانین بین‌المللی حقوق نمونه‌ها بر اساس استانداردهای بین‌المللی رعایت شد (۲۵). در این پژوهش ابتدا موش‌های صحرانی بالغ نژاد ویستار (Wistar) با وزن 190 ± 10 گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. نمونه‌ها، در حیوان خانه و در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره نوری - تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شده. همچنین بررسی‌های بالینی لازم به‌منظور جستجوی علائم آسیب‌شناسی انجام پذیرفت. آب و غذای آماده موش تهیه کارخانه دام پارس به‌صورت نامحدود در دسترس حیوانات قرار گرفت.

برنامه اجرایی و گروه‌بندی‌ها: حیوانات به‌طور تصادفی در ۴ گروه ۷ سری شاهد، دریافت‌کننده دود قلیان، تحت بی‌حرکتی و تحت بی‌حرکتی دریافت‌کننده دود قلیان تقسیم‌بندی شدند. بر اساس تجربیات پیشین (۲۶ و ۲۷)، دستگاه ویژه‌ای به‌منظور مواجهه‌ی حیوانات با دود قلیان طراحی گردید. این دستگاه از بخش‌های مکند، هوا، سیلندر متراکم‌کننده دود در جعبه‌ی شیشه‌ای و دستگاه مکند، در بالای دستگاه جهت تهویه‌ی هوا تشکیل شده بود. ابتدا موش‌ها را وارد محفظه‌ی شیشه‌ای نموده، سپس تنباکو را

متابولیت‌های مختلف غشاء سلولی است که این عمل در زمینه حمل و نقل چربی‌ها و استخوان‌سازی انجام می‌شود (۹). این آنزیم در بیشتر بافت‌های بدن به‌طور پراکنده فعالیت دارد، اما بیشترین مقدار فعالیت آنزیم در روده‌ها، کبد، استخوان، طحال، جفت و کلیه دیده می‌شود (۱۰). تحقیقات نشان داده‌اند فعالیت آلکالین فسفاتاز که یکی از شاخص‌های اختلالات کبدی و استخوانی است، در بسیاری بیماری‌ها از جمله بیماری‌های اتوایمیون، برخی بیماری‌های عفونی، کبدی، صفراوی، استخوانی، شرایط التهابی، آنمی و سوء‌تغذیه تغییرات آشکاری دارد (۱۱). مطالعات بسیاری نشان می‌دهد که بین مصرف دخانیات و بیماری‌های کبدی ارتباط وجود دارد (۱۲). همچنین گفته می‌شود که مصرف دخانیات می‌تواند سطح آنزیم‌های بیوشیمیایی بدن به‌ویژه کبد را تحت تأثیر قرار دهد (۱۳)؛ گرچه برخی نتایج نیز بیانگر عدم تأثیر قابل‌ملاحظه مصرف دخانیات بر سطوح آنزیم‌های کبدی به‌ویژه آنزیم آلکالین فسفاتاز، می‌باشد (۱۴). از طرفی، مصرف دخانیات بر مورفولوژی و آناتومی کبد و سایر اندام‌ها نیز تأثیر می‌گذارد (۱۵). تحقیقات متعددی در زمینه مکانیسم تأثیر دخانیات بر بدن انجام شده است که حاکی از تولید پراکسید هیدروژن متعاقب مصرف دخانیات می‌باشد که بر بروز بیماری‌های مختلف، به‌ویژه آسیب‌های کبدی، تأثیرگذار است (۱۶).

از سویی دیگر، اعمال بی‌حرکتی در موجودات مختلف، به‌عنوان متداول‌ترین استرس‌ها تلقی شده و می‌تواند همانند استرس‌های دیگر اثرات گوناگونی بر فیزیولوژی جانوران در حوزه‌های مختلف داشته باشد (۱۷). گرچه سازوکار دقیق اثرات استرس بر فیزیوپاتولوژی بدن شناخته شده نیست (۱۸)، فرضیاتی مبنی بر تأثیر استرس، به‌ویژه استرس بی‌حرکتی، بر متابولیسم بنیان‌های آزاد (۱۹) و بیماری‌های کبدی (۲۰) وجود دارد. در این راستا، برخی تحقیقات بیانگر ارتباط‌هایی میان استرس بی‌حرکتی و فعالیت برخی آنزیم‌ها می‌باشد (۲۱). همچنین، استرس بی‌حرکتی در موش‌های صحرانی سبب تغییر پاسخ استرس حاد

اختلاف در سطح ۰/۰۵، میان گروه‌ها با استفاده از آزمون توکی (Tukey) تعیین گردید.

یافته‌ها

جدول و نمودار شماره ۱ بیانگر میزان فعالیت سرمی آنزیم‌های آلكالین فسفاتاز و کراتین کیناز در موش‌های ماده مورد آزمایش می‌باشد. تجزیه و تحلیل آماری نشان دادند که سطح فعالیت سرمی کراتین کیناز و آلكالین فسفاتاز در موش‌های دریافت‌کننده دود قلبان، تحت بی حرکتی و تحت بی حرکتی دریافت‌کننده دود قلبان نسبت به شاهد، به‌طور معناداری بیشتر می‌باشد (مقادیر p به ترتیب ۰/۰۱۲، ۰/۰۰۹، ۰/۰۴۷ و ۰/۰۴۶). از طرفی، اختلاف فعالیت سرمی کراتین کیناز و آلكالین فسفاتاز در میان موش‌های تحت بی حرکتی دریافت‌کننده دود قلبان نسبت به گروه دریافت‌کننده دود قلبان یا گروه تحت بی حرکتی، معنادار بود (مقادیر p به ترتیب ۰/۰۱۲، ۰/۰۰۹، ۰/۰۴۷ و ۰/۰۴۶). میزان فعالیت کراتین کیناز و آلكالین فسفاتاز سرمی میان موش‌های دریافت‌کننده دود قلبان نسبت به گروه تحت بی حرکتی بیشتر بود (مقادیر P به ترتیب برابر با ۰/۰۳۱ و ۰/۰۴۸).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که دود قلبان و استرس بی حرکتی در موش‌ها باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم آلكالین فسفاتاز و کراتین کیناز سرمی می‌شود که در میان این دو عامل، دود قلبان محرک قوی‌تری محسوب می‌شود. همچنین افزایش بیشتر سطح فعالیت سرمی کراتین کیناز و

روشن کرده و همزمان مکش شروع می‌گردید. بعد از اتمام تنباکو، مکش به‌صورت اتوماتیک قطع شده و دود متراکم به محفظه‌ی شیشه‌ای انتقال پیدا می‌کرد. طول این روند ۱۵ دقیقه بود که شامل ایجاد دود و مواجهه سازی موش‌ها به مدت ۱۰ دقیقه (۱ دقیقه متراکم شدن دود و ۹ دقیقه مواجهه سازی) می‌شد. سپس ۵ دقیقه استراحت لحاظ می‌گردید. این روند در هر روز ۱۰ بار تکرار شده، حاصل آن ۹۰ دقیقه دریافت کردن دود قلبان بود. همزمان، گروه شاهد در شرایط کاملاً مشابه فیزیکی، اما در معرض هوای اتاق قرار می‌گرفتند. از طرفی استرس بی حرکتی به مدت ۴ ساعت در روز (دو دوره ۲ ساعته با فاصله ۲ ساعت استراحت بین دوره‌ها) و از طریق قرار دادن نمونه‌ها در محدودکننده، اعمال می‌گردید (۲۸). زمان کل دوره، مشتمل بر ۷ هفته بود.

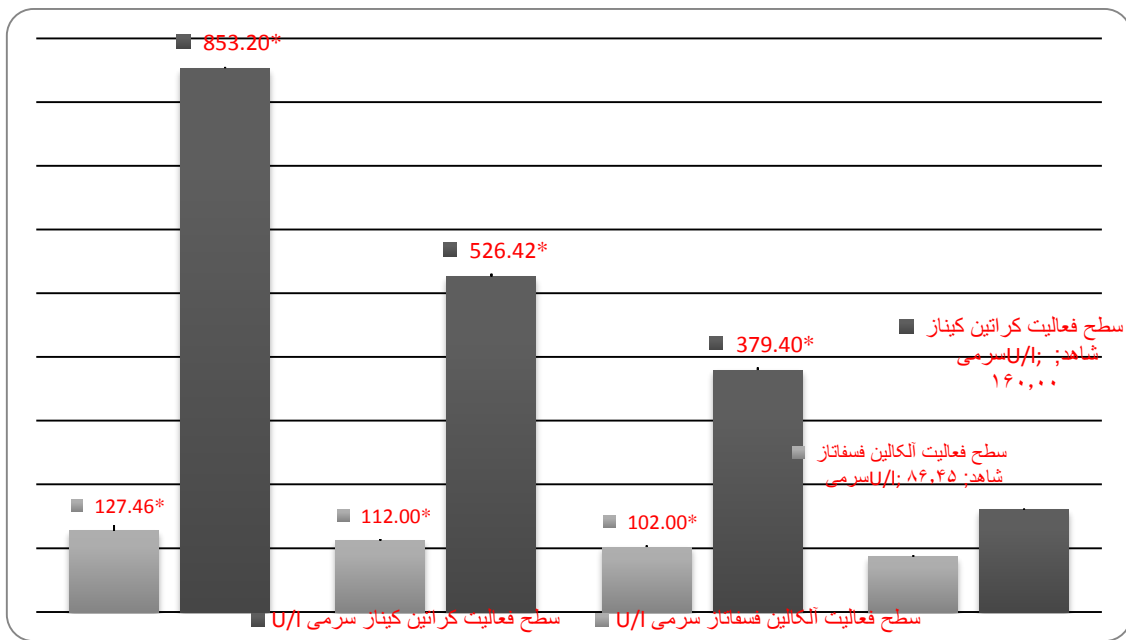
خون‌گیری و تهیه سرم: بعد از اتمام ۷ هفته، حیوانات مورد مطالعه توسط اتر تحت بی‌هوشی عمیق قرار گرفتند و آسان کشی شدند. متعاقباً نمونه‌های خون از طریق تکنیک خون‌گیری از قلب تهیه شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری گردیدند. به‌منظور تهیه سرم، نمونه‌های خونی در ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و در نهایت، سطح فعالیت آلكالین فسفاتاز و کراتین کیناز سرم به روش اسپکتروفتومتری مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های نرمال به‌صورت میانگین و انحراف استاندارد با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS ۱۹ و روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل واقع شدند. در آنالیز واریانس، معناداری

جدول ۱- سطح فعالیت آنزیم‌های آلكالین فسفاتاز و کراتین کیناز سرم در موش‌های صحرایی ماده

گروه	شاخص	کراتین کیناز (U/I)	مقدار احتمال	آلكالین فسفاتاز (U/I)	مقدار احتمال
شاهد		۱۶۰/۰۰±۲/۱۶		۸۶/۴۵±۲/۰۸	
دریافت‌کننده دود قلبان		۵۲۶/۴۲±۴/۵۱	۰/۰۱۱	۱۱۲/۰۰±۲/۱۶	۰/۰۴۷
تحت بی حرکتی		۳۷۹/۴۰±۴/۰۳	۰/۰۲۰	۱۰۲/۰۰±۲/۱۷	۰/۰۴۸
تحت بی حرکتی دریافت‌کننده دود قلبان		۸۵۳/۲۰±۲/۱۸	۰/۰۱۱	۱۲۷/۴۶±۸/۴۲	۰/۰۴۵

داده‌ها به صورت "میانگین ± انحراف معیار" می‌باشند. مقادیر P (حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه) نسبت به گروه شاهد مقایسه و بیان شده‌اند. توضیحات باید به صورت زیر نویس در انتهای جدول ارایه شوند.



نمودار ۱- سطح فعالیت کراتین کیناز و آلکالین فسفاتاز سرمی در موش

فعالیت سرمی آنزیم‌های کراتین کیناز و آلکالین فسفاتاز متعاقب بی‌حرکتی و مصرف دود قلیان را می‌توان به آسیب سلولی و یا افزایش نفوذپذیری غشای سلولی و نشت آنزیم‌های سیتوپلاسمی به خون، نسبت داد. در واقع، دود قلیان و استرس می‌توانند باعث تولید انواع بنیان‌های آزاد در بدن شوند (۱۶) و این بنیان‌های آزاد با پراکسید کردن اسیدهای چرب، می‌توانند غشاهای سلولی را تخریب کنند و سبب رهایش آنزیم‌ها در پلاسما گردند. از سوی دیگر، به‌خوبی پذیرفته شده است که استرس، فعالیت دستگاه عصبی خودمختار را تحریک می‌کند (۳۴) و فعال‌سازی این دستگاه احتمالاً در افزایش فعالیت آنزیم‌های پلاسمایی ناشی از استرس، مشارکت می‌نماید (۳۵).

تحقیق حاضر، تنها به بررسی اثرات دود قلیان و بی‌حرکتی در محدوده تغییرات سطح سرمی آنزیم‌های کراتین کیناز و آلکالین فسفاتاز پرداخته و با توجه به محدودیت استفاده از امکانات آزمایشگاهی مولکولی و سلولی، پژوهش حاضر از نظر بررسی‌های سطح سلولی و مولکولی، از محدودیت برخوردار می‌باشد. امید است در مطالعات آتی امکان بررسی در سطح سلولی و مولکولی فراهم آید.

در مجموع، نتایج این پژوهش بیانگر اثرات مضر

آلکالین فسفاتاز در موش‌های تحت بی‌حرکتی دریافت‌کننده دود قلیان نسبت به گروه‌های تحت بی‌حرکتی یا دریافت‌کننده دود قلیان، نشانگر اثر هم‌افزایی قابل توجه این دو استرس بر افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های ذکر شده، می‌باشد. هم‌راستا با این یافته‌ها، تحقیقات نشانگر آن هستند که مواجهه با دود سیگار می‌تواند سبب کاهش قابل توجه وزن کبد و آسیب کبدی شده، همچنین باعث ایجاد تغییراتی در سطح آنزیم‌های کبدی گردد (۲۹ و ۳۰). از طرفی، مطالعات نشان می‌دهند که مصرف دخانیات باعث افزایش بیماری‌های قلبی و تغییرات فعالیت آنزیم‌های قلبی (۳۱) می‌شود. در مقابل، برخی بیانگر عدم تأثیر مصرف دخانیات بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌باشند (۱۴). نتایج برخی پژوهش‌ها حتی نشانگر سرعت بیشتر بهبودی در بیماران سیگاری مبتلا به سکت قلبی و پایین بودن درصد مرگ و میر میان آن‌ها نسبت به افراد غیر سیگاری می‌باشد (۳۲).

از سویی، نتایج این تحقیق منطبق با مطالعاتی است که نشان می‌دهند آنزیم‌های پلاسما پس از استرس بی‌حرکتی به همراه سرما (۳۳) و استرس غوطه‌وری در آب (۳۴) و استرس بی‌حرکتی و انزوا (۲۱)، دچار افزایش می‌شوند. افزایش میزان

of Citrus unshiu peel extracts on bone and lipid metabolism in OVX rats. *Molecules*. 2014;19:783-94.

10. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev*. 2005;4:97-122.

11. Knight JA. Liver function tests: their role in the diagnosis of hepatobiliary diseases. *J Infus Nurs*. 2005;28:108-17.

12. Wannamethee SG, Shaper AG. Cigarette smoking and serum liver enzymes: the role of alcohol and inflammation. *Ann Clin Biochem*. 2010;47:321-6.

13. Frost-Pineda K, Liang Q, Liu J, Rimmer L, Jin Y, Feng S, et al. Biomarkers of potential harm among adult smokers and nonsmokers in the total exposure study. *Nicotine Tob Res*. 2011;3:182-93.

14. Hermann AP, Brot C, Gram J, Kolthoff N, Mosekilde L. Premenopausal smoking and bone density in 2015 perimenopausal women. *J Bone Miner Res*; 2000. 4: 780-7.

15. Zapaterini JR, de Moura NA, Ribeiro DA, Rodrigues MA, Barbisan LF. Effects of cigarette smoke and ethanol intake on mouse oesophageal mucosa changes induced by dietary zinc deficiency and deoxycholic acid supplementation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2012;2:92-8.

16. Yan F, Williams S, Griffin GD, Jagannathan R, Plunkett SE, Shafer KH, et al. Near-real-time determination of hydrogen peroxide generated from cigarette smoke. *J Environ Monit*. 2005; 7:681-7.

17. Karamikheirabad M, Behzadi G, Faghihi M, Raoofian R, Ejtemaei Mehr S, Zuure WA, et al. A role for endocannabinoids in acute stress-induced suppression of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in male rats. *Clin Exp Reprod Med*. 2013;40: 155-62.

18. Thaker PH, Han LY, Kamat AA, Arevalo JM, Takahashi R, Lu C, et al. Chronic stress promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of ovarian carcinoma. *Nat Med*. 2006;8:939-44.

19. Rather SA, Saravanan N. Protective effect of gallic acid on immobilization induced stress in encephalon and myocardium of male albino Wistar rats. *Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis*. 2013;3:269-75.

20. Muriel P. Role of free radicals in liver diseases. *Hepato Int*; 2009. 3: 526-536

21. Tilbrook AJ, Rivalland EA, Turner AI, Lambert GW, Clarke IJ. Responses of the hypothalamopituitary adrenal axis and the sympathoadrenal system to isolation/restraint stress in sheep of different adiposity. *Neuroendocrinology*. 2008;87:193-205.

22. Djordjevic J, Djordjevic A, Adzic M, Niciforovic A, Radojic MB. Chronic stress differentially affects antioxidant enzymes and

دود قلیان و بی حرکتی بر فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و کراتین کیناز بوده؛ بر این مبنا، اثرات فیزیوپاتولوژیک این عوامل، به ویژه در خصوص قلب و کبد، بسیار قابل توجه است. در این راستا، کنترل شیوع مصرف قلیان و نیز ترویج سبک زندگی با تحرک بیشتر به هدف پیشگیری از آسیب‌های کبدی و قلبی، بسیار ضروری است.

تقدیر و تشکر

این پژوهش با حمایت‌های معنوی و مالی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان به انجام رسیده است. بدین وسیله از کمک و مساعدت این عزیزان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

1. Chaouachi K. The medical consequences of narghile (hookah, shisha) use in the world. *Rev Epidemiol Sante Publique*. 2007;3:165-70
2. Janssen E, Waters EA, van Osch L, Lechner L, de Vries H. The importance of affectively-laden beliefs about health risks: the case of tobacco use and sun protection. *J Behav Med*. 2014;37:11-21.
3. Yukihiro M, Hiramatsu T, Kawano T. Lethal impacts of cigarette smoke in cultured tobacco cells. *Tob Induc Dis*. 2011;9:8
4. Sasco AJ, Secretan MB, Straif K. Tobacco smoking and cancer: a brief review of recent epidemiological evidence. *Lung Cancer*. 2004;45 (Suppl 2):S3-9.
5. Banaee M, Sureda A, Mirvaghefi AR, Ahmadi K. Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pestic Biochem Physiol*. 2011;99:1-6.
6. Bessa A, Nissenbaum M, Monteiro A, Gandra PG, Nunes LS, Bassini-Cameron A, et al. High-intensity ultra endurance promotes early release of muscle injury markers. *Br J Sports Med*. 2008;42:889-93.
7. Ahmadi R, Asgary V, Abedi GR. [The comparison between the effects of cigarette and waterpipe smoke on serum level of TSH, T3 and T4 in male rats]. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2013;19(102):12-6. Persian.
8. Taliercio JJ, Schold JD, Simon JF, Arrigain S, Tang A, Saab G, et al. Prognostic importance of serum alkaline phosphatase in CKD stages 3-4 in a clinical population. *Am J Kidney Dis*. 2013; 62:703-10.
9. Lim DW, Lee Y, Kim YT. Preventive effects

and components in rats with water-immersion restraint stress. *J Clin Biochem Nutr*; 2009.45:347-54.

34-Jarczok MN, Jarczok M, Mauss D, Koenig J, Li J, Herr RM, et al. Autonomic nervous system activity and workplace stressors-a systematic review. *Neurosci Biobehav Rev*; 2013.37:1810-23.

modifies the acute stress response in liver of Wistar rats. *Physiol Res*; 2010.59:729-36.

23. Dekanski D, Ristić S, Radonjić NV, Petronjević ND, Dekanski A, Mitrović DM. Olive leaf extract modulates cold restraint stress-induced oxidative changes in rat liver. *J Serb Chem Soc*; 2011.76:1207-18.

24. Allen AM, Oncken C, Hatsukami D. Women and smoking: The effect of gender on the epidemiology, health effects, and cessation of smoking. *Curr Addict Rep*; 2014.1:53-60.

25. National Research Council (U.S.) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Institute for Laboratory Animal Research (U.S.). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. 8th ed. Washington, D.C.: National Academies Press; 2011.

26. Rajpurkar A, Jiang Y, Dhabuwalla CB, Dunbar JC, Li H. Cigarette smoking induces apoptosis in rat testis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*; 2002.3:243-8.

27. Ahmadnia H, Ghanbari M, Moradi MR, Khaje-Dalouee M. Effect of cigarette smoke on spermatogenesis in rats. *Urol J*; 2007. 3: 159-63.

28. Tavakoli P, Ahmadi R, Mafi M. Restraint Stress is Biomedically Important in Male Reproductive Failure. In: *Proceedings of: International Conference on Chemical, Biological and Medical Sciences (ICCBMS)*; 2012 Aug 25-26; Kuala Lumpur, Malaysia. P. 17-19.

29. Jang ES, Jeong SH, Hwang SH, Kim HY, Ahn SY, Lee J, et al. Effects of coffee, smoking, and alcohol on liver function tests: a comprehensive cross-sectional study. *BMC Gastroenterol*; 2012.12:145.

30. Kimm H, Kim S, Jee SH. The independent effects of cigarette smoking, alcohol consumption, and serum aspartate aminotransferase on the alanine aminotransferase ratio in Korean men for the risk for esophageal cancer. *Yonsei Med J*; 2010.51:310-7.

31. Gokulakrishnan A, Jayachandran Dare B, Thirunavukkarasu C. Attenuation of the cardiac inflammatory changes and lipid anomalies by (-)-epigallocatechin-gallate in cigarette smoke-exposed rats. *Mol Cell Biochem*; 2011.354:1-10.

32. Aune E, Røislien J, Mathisen M, Thelle DS, Otterstad JE. The "smoker's paradox" in patients with acute coronary syndrome: a systematic review. *BMC Med*; 2011.9:97.

33. Pajović SB, Pejić S, Stojiljković V, Gavrilović L, Dronjak S, Kanazir DT. Alterations in hippocampal antioxidant enzyme activities and sympatho-adrenomedullary system of rats in response to different stress models. *Physiol Res*; 2006.55:453-60.

35-Ohta Y, Kaida S, Chiba S, Tada M, Teruya A, Imai Y, et al. Involvement of oxidative stress in increases in the serum levels of various enzymes

The effect of waterpipe smoking and chronic immobilization stress on serum creatine kinase and alkaline phosphatase activities in female rats

Rahim Ahamdi, PhD, Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Science, Azad Isalmic University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran. rahahmadi2001@yahoo.com

***Elnaz Naghavi**, MSc student, Department of Physiology, Faculty of Science, Azad Isalmic University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran (*Corresponding author). Paradise00751@yahoo.com

Sedigheh Molaei, Student of Medicine, School of medicine, student Research Committee, Qum University of Medical Sciences, Qum, Iran. molaei.sedigheh@gmail.com

Abstract

Background: Various studies indicate that there is association between life style and various enzyme activities. This study was conducted to determine the effects of waterpipe smoking and immobilization on serum creatine kinase and alkaline phosphatase activities in female rats.

Methods: In this experimental study female Wistar rats were divided into control, waterpipe smoking, immobilized, and immobilized waterpipe smoking groups of 7 in each. Exposure to waterpipe smoke was performed 10 times/day for 10min with 5 min resting time interval and animals were chronically immobilized twice a day for 2 hr each time. After 7 weeks, blood samples were collected using cardiac puncture technique and enzyme activity was measured using spectrophotometry. The data were compared statistically between groups using ANOVA.

Results: Serum creatine kinase and alkaline phosphatase activity was significantly higher in immobilized waterpipe smoking than immobilized or waterpipe smoking rats ($p=0.009$, 0.012 and 0.046 , 0.047 , respectively). Moreover, the enzyme activity was higher in waterpipe smoking than immobilized rats ($p= 0.031$ and 0.048 , respectively).

Conclusion: Our findings indicate that prevalence of waterpipe smoking and immobilization in our society is a serious threat to health. The necessity to control these factors and publicizing the related information seems inevitable for public health.

Keywords: Creatin kinase, Alkalin phosphatase, Waterpipe smoke, Immobilization, Rat