

تاثیر ورزش مستمر بر کاهش آسیب پذیری غشاء سلولی، وضعیت دفاع آنتی اکسیداتیو و استرس اکسیداتیو

چکیده

زمینه و هدف: اثرات بیولوژیک ترکیبات اکسید کننده قوی در بدن انسان، تحت کنترل عوامل آنتی اکسیدان است. اختلال در عمل اندامها ممکن است نتیجه واکنشهایی میان رادیکالهای آزاد با غشاء سلولها باشد. معلوم شده است که هدف اصلی رادیکالهای اکسیژن، لیپیدهای غشاء سلولها می باشد. برخی گزارشها نقش پراکسیدها را در پیشرفت آترواسکلروز نشان می دهند. بافتهای بدن انسان (مانند اریتروسیتها) حاوی آنتی اکسیدانهای مهمی مانند گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون می باشند، از این رو اریتروسیتهای طبیعی نسبت به صدمات اکسیداتیو مقاومند. برخی مطالعات متضاد، اثر ورزش را بر بهبود وضعیت آنتی اکسیدانها و ممانعت از صدمات اکسیداتیو نشان داده اند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی آسیب پذیری اریتروسیتها و ارزیابی آنتی اکسیدانهای مانند گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون در مردان ورزشکار و مقایسه این متغیرها با افراد غیر ورزشکار بوده است.

روش بررسی: در این مطالعه که از نوع مقطعی بود، ۱۲۱ مرد (۸۰ نفر ورزشکار و ۴۱ نفر غیر ورزشکار) مورد مطالعه قرار گرفتند. برای ارزیابی آسیب پذیری اریتروسیتها، پس از قرار گرفتن اریتروسیتها در معرض پراکسید هیدروژن (Hydrogen peroxide=H₂O₂)، مالون دی آلدئید (Malondialdehyde=MDA) اندازه گیری شد. مقدار گلوتاتیون با استفاده از DTNB (5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)) تعیین گردید. فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و کراتین فسفوکیناز (Creatine phosphokinase=CPK) با روش آنزیمی مورد ارزیابی قرار گرفت. آنتی اکسیدان تام پلاسما نیز، با روش FRAP (Ferric reducing ability of plasma) برآورد گردید و از آزمونهای Student T Test و Chi-square جهت مقایسه متغیرهای کمی و کیفی استفاده شد.

یافته ها: فعالیت کراتین فسفوکیناز در ورزشکاران به طور معنی داری بالاتر از افراد غیر ورزشکار بود. اریتروسیتهای جدا شده از خون افراد غیر ورزشکار، آسیب پذیرتر از ورزشکاران بود، زیرا مالون دی آلدئید حاصل از انکوبه نمودن اریتروسیتهای آنها با پراکسید هیدروژن در ورزشکاران (با مهار کننده کاتالاز: ۶۲۵/۲۳±۱۳۲/۹۰ نانومول در هر گرم هموگلوبین و بدون مهار کننده کاتالاز: ۲۱۷/۷±۱۲۵/۰۵ نانومول در هر گرم هموگلوبین) به طور چشمگیری کمتر از مالون دی آلدئید حاصل از غیر ورزشکاران بود (به ترتیب $P < 0.02$ و $P < 0.01$). میزان آنتی اکسیدان تام پلاسما، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و مقدار گلوتاتیون سلولها تفاوت معنی دار نشان نداد.

نتیجه گیری: اگر چه توان آنتی اکسیدانی در ورزشکاران متفاوت نبود، اما به نظر می رسد که لیپیدهای غشاء اریتروسیتها در آنها، آسیب پذیری کمتری نسبت به افراد غیر ورزشکار دارد.

کلیدواژه ها: ۱- آسیب پذیری اریتروسیتها ۲- گلوتاتیون ۳- گلوتاتیون پراکسیداز ۴- مالون دی آلدئید ۵- ورزشکاران

تاریخ دریافت: ۸۵/۷/۲، تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۰/۲۳

(I) دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران (* مؤلف مسئول).
(II) کارشناس ارشد قارچ شناسی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(III) کارشناس ارشد ژنتیک، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(IV) استادیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان، سمنان، ایران.

مقدمه

رادیکال‌های آزاد با لیپیدها واکنش‌های زنجیره‌ای مخربی را شروع می‌کنند. اکسیداسیون لیپید باعث تولید رادیکال بسیار فعال آلکیل می‌شود که به سرعت با اکسیژن واکنش داده و رادیکال پراکسیل تولید می‌کند. رادیکال‌های پراکسیل نیز می‌توانند باعث اکسید شدن لیپیدها شوند و لیپید هیدروپراکسیدهایی تولید کنند که به ترکیبات متعددی نظیر الکل‌ها، آلدئیدها، فورمات آلکیل‌ها، کتون‌ها و هیدروکربن‌ها و رادیکال‌هایی نظیر آلکوکسیل تجزیه می‌شوند. یکی از ترکیبات حاصل از پراکسیداسیون لیپید، مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde=MDA) است که در نتیجه تجزیه لیپید پراکسیدها در حضور آهن یا مس تولید می‌شود.^(۱) MDA و آلدئیدهای مشابه حاصل از پراکسیداسیون لیپید می‌توانند با مکان‌های فعال نوکلئوفیل در DNA، پروتئین‌ها و فسفولیپیدها واکنش داده و ضایعات متنوعی ایجاد کنند.^(۲) تغییر غشای اریتروسیت‌ها توسط مالون دی‌آلدئید سبب کاهش سیالیت دو لایه لیپیدی غشا و افزایش پایداری اسموتیک غشا می‌شود.^(۳) برخلاف لیپیدها، آلدئیدهای مشتق از آنها، محلول در آب هستند که این خاصیت باعث می‌شود این ترکیبات بتوانند از محل تولید به سایر مکان‌های سلول انتشار یابند و حتی آسیب را به خارج از سلول دست‌نخورده منتقل کنند.^(۴) آنتی‌اکسیدان‌های متعددی با منشأ داخلی و خارجی وجود دارند که اجزای سلول را در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌نمایند. این ترکیبات را بر اساس نحوه عملکرد به سه گروه اصلی تقسیم‌بندی می‌کنند:

الف - آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان که عبارتند از کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز و سوپراکسید دسموتاز.

ب - پروتئین‌هایی که به فلزات متصل می‌شوند مانند فریتین، ترانسفرین، لاکتوفرین و سرولوپلاسمین.

پ - آنتی‌اکسیدان‌های متوقف‌کننده واکنش‌های زنجیره‌ای (Chain breaking antioxidants) که دو دسته هستند:

۱) آنتی‌اکسیدان‌های عمل‌کننده در فاز لیپیدی شامل

ویتامین E، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و کوآنزیم Q.^(۵)
 ۲) آنتی‌اکسیدان‌های عمل‌کننده در فاز آبی شامل ویتامین C، اسیداوریک، بیلی‌روبین متصل به آلبومین و پروتئین‌های حاوی گروه تیول نظیر گلوکاتایون.^(۶)
 ورزش کردن به علت بالا بردن متابولیسم بدن سبب تولید رادیکال‌های آزاد بیش‌تری در فرد می‌شود. عوامل موثر در این تغییر عبارتند:

۱) افزایش مقدار اپی‌نفرین و سایر کاتکول‌آمین‌ها
 ۲) افزایش تولید اسید لاکتیک که رادیکال‌های آزاد با اثر کمتر (سوپراکسیدها) را به رادیکال‌های آزاد موثرتر (هیدروکسیل) تبدیل می‌نماید.

۳) افزایش پاسخ‌های التهابی به آسیب‌های ماهیچه‌ای در اثر ورزش‌های شدید.^(۷-۱۷)

به نظر می‌رسد که آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند ویتامین C و E و گلوکاتایون ممکن است از بافت‌هایی که در آنها ذخیره شده‌اند، برای مبارزه با استرس اکسیداتیو در خون ریخته شده و به نقاط دیگر مهاجرت کنند.^(۱۷-۲۱) خروج گلوکاتایون اکسید شده (Glutathione disulfide=GSSG) از سلولها به داخل پلاسما را شاخصی برای استرس اکسیداتیو بیان نموده‌اند.^(۷)

تغییرات وضعیت ردوکسی‌گلوکاتایون خون پس از ورزش مشاهده شده است^(۱۸)، همچنین نشان داده شده است که بلافاصله پس از ورزش شدید، میزان GSSG خون افزایش می‌یابد و در فاصله یک ساعت بعد، به میزان اولیه برمی‌گردد، اما میزان GSH (Reduced glutathione) خون دچار تغییر معنی‌داری نمی‌شود.^(۱۹) در مطالعه دیگری نشان داده شد که پس از ورزش نسبتاً شدید، GSSG، افزایش و GSH، کاهش می‌یابد.^(۲۰-۲۳)

مطالعات دیگری از افزایش GSH خون پس از ورزش شدید و طولانی خبر داده‌اند.^(۲۴ و ۲۵) با توجه به نتایج متناقض بدست آمده، نتیجه‌گیری درست ناممکن است. مطالعاتی نیز در خصوص تغییرات فعالیت گلوکاتایون ردوکتاز گویچه‌های قرمز، انجام و افزایش فعالیت این آنزیم را پس از ورزش گزارش نموده‌اند.^(۲۶ و ۲۷)

۶ ماه ورزش می‌کردند، این افراد عمدتاً به طور نیمه حرفه‌ای و مرتب به فوتبال و بدنسازی می‌پرداختند و ۴۱ فرد غیرورزشکار نیز که ورزش روزانه نداشتند، به عنوان کنترل مورد مطالعه قرار گرفتند. همه افراد مرد بوده و محدوده سنی آنها ۲۰ تا ۳۰ سال بود. میانگین سن افراد ورزشکار و غیرورزشکار، اختلاف معنی‌داری نشان نداد. افراد ورزشکار و غیرورزشکار مورد مطالعه از میان افرادی انتخاب شدند که به طور روزانه برای انجام آزمایشات مورد نیاز جهت ازدواج به مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران مراجعه می‌کردند.

۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی از هر یک از افراد مورد مطالعه، در صبح تهیه شد که با آخرین دفعه ورزش، ۱۲ ساعت فاصله زمانی داشت، این خون به لوله حاوی EDTA (Ethylene-diamine tetra acetic acid) انتقال داده شده و میزان MDA، GSH، GSH-Px، هموگلوبین (Hb)، کلسترول، تری‌گلیسرید، کراتین فسفوکیناز (Creatine =CPK)، HDL-C و اندازه‌گیری شد. کلسترول، تری‌گلیسرید، CPK و HDL-C پلاسما به روش آنزیمی - رنگ‌سنجی و به وسیله کیت‌های تجاری پارس آزمون (تهران - ایران) و با استفاده از اسپکتروفتومتر Pharmacia Ultraspec 3000 اندازه‌گیری شدند. هموگلوبین با استفاده از دستگاه کولتر کانتر در مرکز تحقیقات آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد.

نمونه خون همراه با ضد انعقاد بلافاصله پس از نمونه‌گیری، در ظرف حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شد و بلافاصله آزمایش بر روی آن آغاز گردید. ۳ میلی‌لیتر خون، به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و پلاسما و لایه لکوسیتی آن جدا گردید. پلاسما به سرعت به فریزر با دمای -۸۵- درجه سانتی‌گراد منتقل شده و تا زمان انجام آزمایش در آن نگهداری گردید.

نیمی از اریتروسیت‌های حاصل، ۲ بار با بافر فسفات حاوی (Sodium chloride) NaCl با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (یک حجم بافر فسفات با pH=۷/۴ به اضافه ۹ حجم کلرید سدیم ۰/۱۵ مولار) (Buffer phosphate solution=PBS)

افزایش MDA در خون ورزشکاران دهنده و دوچرخه‌سوار پس از انجام ورزش گزارش شده است (۲۸-۳۴)، اما مطالعات روی ورزشکاران دهنده تیم استقامت پس از ۶۰ دقیقه دویدن و یا پدال زدن روی دوچرخه ثابت، تغییری در MDA خون نشان نداد. (۲۶ و ۳۵-۳۸) در مطالعه دیگری، پس از ۶۰ دقیقه پدال زدن روی دوچرخه ثابت، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز در ورزشکاران، کاهش یافت و برای ۴۸ ساعت ثابت ماند (۳۹)، در حالی که MDA پلاسما افزایش یافت و برای ۴۸ ساعت تغییری نکرد. کاهش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز را به تولید مقدار زیاد رادیکال‌های آزاد مربوط دانسته‌اند. (۳۹)

در عین حال مطالعه بر روی افراد دهنده نشان داده است که در دهنده‌های مبتدی و غیرمبتدی، دویدن اثری بر افزایش پراکسیداسیون لیپید نداشت است (۴۰) در حالی که دویدن بر اکسیداسیون گلوتاتیون موثر بوده است. (۴۱)

این نتایج همراه با یافته‌های دیگر که حاکی از کاهش تری‌گلیسرید، کلسترول و LDL (Low density lipoprotein) و افزایش HDL (High density lipoprotein) می‌باشند، برخی از محققین را به این فرضیه رساند که علت موثر بودن ورزش در کاهش بروز بیماری‌های عروق کرونر قلبی، کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش LDL و افزایش HDL می‌باشد. (۴۲)

در این مطالعه جهت نشان دادن تاثیر ورزش بر مقاومت غشاء سلولی، وضعیت عوامل اکسیداتیو، آنتی‌اکسیداتیو، تغییرات استرس اکسیداتیو و سطح آنتی‌اکسیدان بدن ورزشکاران در مقایسه با افرادی که ورزش نمی‌کرده‌اند، مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این بررسی که یک مطالعه مقطعی بوده است، مقادیر متغیرها در دو گروه مورد مقایسه قرار گرفت. دو گروه مورد مطالعه از ۱۲۱ نفر تشکیل شده بودند که ۸۰ نفر آنها ورزشکار بوده و حداقل روزی یک ساعت برای مدت حداقل

شسته شدند. این اریتروسیت‌های شسته شده برای اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید مورد استفاده قرار گرفتند. قسمت دوم اریتروسیت‌ها، ۳ مرتبه با کلرید سدیم ۹ گرم در لیتر با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد شستشو داده شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از این اریتروسیت‌ها با ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه در حد صفر درجه سانتی‌گراد مخلوط شد تا یک همولیزیت ۵۰٪ بدست بیاید. این همولیزیت بلافاصله به فریزر با دمای ۸۵- درجه سانتی‌گراد منتقل شد تا برای اندازه‌گیری گلوکاتیون پراکسیداز مورد استفاده قرار بگیرد.

برای اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید، روش Buege و Aust مورد استفاده قرار گرفت.^(۴۶) در این روش یک مولکول MDA با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric acid=TBA) واکنش داده و ترکیبی با رنگ قرمز تولید می‌کند که پرتوهای با طول موج حدود ۵۳۵-۵۲۲ نانومتر را جذب می‌کند.^(۴۷) مطابق این روش ابتدا یک محلول TCA-TBA-HCl شامل تری‌کلرواستیک اسید (Trichloroacetic acid=TCA) ۱۵٪ (وزن/حجم)، تیوباربیتوریک اسید (TBA) ۳۷۵/۰٪ (وزن/حجم) و اسید کلریدریک (HCl) ۰/۲۵ نرمال تهیه شد. سپس یک میلی‌لیتر از نمونه فوق با ۲ میلی‌لیتر از محلول TCA-TBA-HCl مخلوط شد و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری جوش قرار داده شدند. بعد از خارج کردن نمونه‌ها از بن‌ماری، لوله‌ها به سرعت با استفاده از آب سرد، خنک شده و به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریژ شدند. مایع رویی به دقت جدا شد و جذب آن در ۵۳۵ نانومتر در برابر بلانک (blank) که حاوی تمام ترکیبات به استثنای گلوبول‌های قرمز بود، خوانده شد. غلظت مالون دی‌آلدئید با استفاده از ضریب خاموشی (extinction coefficient) آن که عبارت است از $10^4 \times 1.56 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ سانتی‌متر مولاریته محاسبه شد. نتایج بر حسب نانومول در هر گرم هموگلوبین گزارش شده است. با استفاده از رابطه زیر حداکثر آزاد سازی مالون دی‌آلدئید به کمک پراکسید هیدروژن محاسبه شده است:

اریتروسیت‌های شسته شده با محلول بافر فسفات (PBS) مورد استفاده قرار گرفتند. از آنجایی که مقدار لیپیدپراکسیداسیون و بالتبع مقدار MDA در اثر نگهداری نمونه افزایش می‌یابد^(۴۳)، آزمایش روی گلوبول‌های قرمز، ظرف ۱ الی ۲ ساعت بعد از نمونه‌گیری آغاز شد. به این ترتیب که ابتدا گلوبول‌های قرمز در معرض H_2O_2 قرار داده شدند تا لیپیدهای غشا، اکسید شده و حداکثر مالون دی‌آلدئید تولید شود. برای این منظور روش Stocks و Dormandy با توجه به تغییرات اعمال شده توسط Cynamon و همکارانش، مورد استفاده قرار گرفت.^(۴۴ و ۴۵) ابتدا از اریتروسیت‌های تهیه شده به روش فوق دو سری سوسپانسیون ۵٪ تهیه شد (۱۰۰ میکرولیتر اریتروسیت بعلاوه ۱/۹ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات)، به این نحو که برای تهیه یک سوسپانسیون تنها از محلول بافر فسفات استفاده شد، در حالی که بافر استفاده شده در سوسپانسیون دوم حاوی سدیم آزاید (مهارکننده کاتالاز) (۲۶ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر) بود، سپس H_2O_2 (۷۵/۰٪ برای نمونه‌های حاوی سدیم آزاید و ۳٪ برای نمونه‌های بدون سدیم آزاید) به میزان هم حجم با

اریتروسیت‌های شسته شده با محلول بافر فسفات (PBS) مورد استفاده قرار گرفتند. از آنجایی که مقدار لیپیدپراکسیداسیون و بالتبع مقدار MDA در اثر نگهداری نمونه افزایش می‌یابد^(۴۳)، آزمایش روی گلوبول‌های قرمز، ظرف ۱ الی ۲ ساعت بعد از نمونه‌گیری آغاز شد. به این ترتیب که ابتدا گلوبول‌های قرمز در معرض H_2O_2 قرار داده شدند تا لیپیدهای غشا، اکسید شده و حداکثر مالون دی‌آلدئید تولید شود. برای این منظور روش Stocks و Dormandy با توجه به تغییرات اعمال شده توسط Cynamon و همکارانش، مورد استفاده قرار گرفت.^(۴۴ و ۴۵) ابتدا از اریتروسیت‌های تهیه شده به روش فوق دو سری سوسپانسیون ۵٪ تهیه شد (۱۰۰ میکرولیتر اریتروسیت بعلاوه ۱/۹ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات)، به این نحو که برای تهیه یک سوسپانسیون تنها از محلول بافر فسفات استفاده شد، در حالی که بافر استفاده شده در سوسپانسیون دوم حاوی سدیم آزاید (مهارکننده کاتالاز) (۲۶ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر) بود، سپس H_2O_2 (۷۵/۰٪ برای نمونه‌های حاوی سدیم آزاید و ۳٪ برای نمونه‌های بدون سدیم آزاید) به میزان هم حجم با

$$\frac{\text{MDA release (without catalase inhibition)}}{\text{MDA release (with catalase inhibition)}} \times 100 = \% \text{ maximal release (MDA)}$$

۵۹۳ نانومتر دارای حداکثر جذب است. این واکنش غیراختصاصی است و هر نیم واکنشی که تحت این شرایط، پتانسیل احیای کمتری از نیم واکنش Fe^{III}/Fe^{II} -TPTZ داشته باشد، باعث احیای Fe^{III} -TPTZ می‌شود. در صورتی که یک ترکیب احیا کننده موجود باشد، شرایط آزمایش برای احیای کمپلکس و ایجاد رنگ آبی مطلوب است. در این روش مقدار زیادی Fe^{III} بکار برده می‌شود و بنابراین عامل تعیین کننده سرعت تشکیل Fe^{II} -TPTZ و بالتبع رنگ آبی، تنها قدرت احیاکنندگی نمونه مورد آزمایش است. به همین دلیل با این روش می‌توان مقدار هر ترکیب آنتی‌اکسیدانی را که دارای خاصیت احیاکنندگی باشد، تعیین کرد.

تمامی داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. داده‌های حاصل ابتدا از نظر نرمال بودن توزیع، تست آماری شدند و با توجه به این که تست آماری معنی‌دار بود، نرمال بودن داده‌ها تأیید شد و لذا بررسی‌های مقایسه‌ای از طریق Independent-Samples T Test و Chi-square test انجام شد. کلیه آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (version 11) انجام شد. اختلاف میان داده‌ها زمانی معنی‌دار تلقی شد که $P < 0.05$ بود.

یافته‌ها

افراد مورد مطالعه (۱۲۱ نفر) که در دو گروه ورزشکار (۸۰ نفر) و غیرورزشکار (۴۱ نفر) قرار داشتند، از نظر سن و BMI (Body mass index) با یکدیگر یکسان بودند (جدول شماره ۱).

برای اندازه‌گیری گلویتایون، روش Beutler و همکارانش بکار رفته است.^(۴۸) در این روش، محلول DTNB (Diothiobis-2 nitrobenzoic acid) که به معرف المن (Ellman) مشهور است، برای ایجاد رنگ بکار می‌رود. گلویتایون با احیای این معرف، کمپلکس زردرنگی ایجاد می‌کند که پرتوهای با طول موج ۴۱۲ نانومتر را جذب می‌نماید.

اندازه‌گیری گلویتایون پراکسیداز به روش آنزیمی و از طریق روش Paglia و Valentine که توسط Andersen و همکارانش تغییراتی در آن ایجاد شده است، انجام شد.^(۴۷ و ۴۸) در این روش، سرعت اکسیداسیون گلویتایون توسط H_2O_2 که به وسیله گلویتایون پراکسیداز موجود در همولیزیت کاتالیز می‌شود، سنجیده می‌شود. گلویتایون اکسید شده حاصل، تحت اثر آنزیم گلویتایون ردوکتاز مجدداً احیا می‌شود و در این حین یک مولکول NADPH به نیکوتین آمید آدنین دی‌فسفات (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate=NADP) مبدل می‌گردد. با اندازه‌گیری تغییرات جذب NADPH در ۳۴۰ نانومتر می‌توان به سرعت تولید گلویتایون اکسید پی‌برد.

برای اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌های تام، از روش Benzie و همکارانش استفاده شد.^(۴۹) در این روش، توانایی پلاسما در احیای یون فریک یا FRAP (Feric reducing ability of plasma) اندازه‌گیری می‌شود. در PH اسیدی، زمانی که کمپلکس Fe^{III} -TPTZ (ferric-tripyridyltriazine) به فرم Fe^{II} احیا می‌گردد، رنگ آبی تولید می‌شود که در طول موج

جدول شماره ۱- مقایسه سن، BMI و نحوه ورزش در دو گروه مورد مطالعه

ورزشکار		غیرورزشکار		
انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
۴/۲۸	۲۵/۵۳	۳/۹۹	۲۵/۷۳*	سن (سال)
۳/۴۵	۲۴/۱۷	۳/۵۵	۲۳/۷۳*	BMI (kg/m^2)
۴۹/۵۹	۷۲/۲۵	-	-	مدت ورزش روزانه (دقیقه)
۵/۵۶	۶/۵۰	-	-	تعداد سالهای انجام ورزش

* تفاوت میانگین‌ها در دو گروه معنی‌دار نبود.

غیرورزشکار در اثر استرس های اکسیداتیو بوده است.

درصد مالون دی آلدئید آزاد شده (% MDA release) نیز در گروه غیر ورزشکار به طور چشمگیری بیش تر از گروه ورزشکار بود ($p=0/001$) (جدول شماره ۳). این درصد شاخص بهتری برای نشان دادن آسیب پذیری غشای گویچه های قرمز خون است.

در دو گروه ورزشکار و غیرورزشکار، میزان شاخص های آنتی اکسیدانی مانند آنتی اکسیدان تام پلاسما، گلو تاتیون و فعالیت گلو تاتیون پراکسیداز گلوبول های قرمز تفاوت شاخصی نشان ندادند (جدول شماره ۴).

دو گروه مورد مطالعه از نظر پارامترهای بیوشیمیایی مربوط به چربی ها، تفاوت معنی داری نداشتند، اما میزان هموگلوبین و فعالیت آنزیم CPK در ورزشکاران به طور چشمگیری از گروه غیر ورزشکار بالاتر بود ($P=0/04$) (جدول شماره ۲).

میزان مالون دی آلدئید (MDA) تولید شده از لیپیدهای غشاء گلوبول های قرمز که در معرض یک اکسید کننده قوی یعنی H_2O_2 قرار داشتند (در حضور یا بدون حضور سدیم آزاد) در گروه ورزشکاران کمتر از گروه غیرورزشکار بود (به ترتیب $p=0/001$ و $p=0/001$) که نشان دهنده آسیب پذیری بیشتر غشاء گلوبول های قرمز افراد

جدول شماره ۲- مقایسه میانگین، پارامترهای چربی، هموگلوبین و فعالیت CPK در سرم خون در دو گروه مورد مطالعه

ارزش p	مقدار t	ورزشکار		غیرورزشکار		
		انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
0/56	0/59	65/75	106/54	60/21	99/34	تری گلیسرید (mg/dl)
0/17	1/38	64/69	174/42	81/96	193/27	کلسترول (mg/dl)
0/43	0/79	9/37	35/12	15/73	63/94	HDL-C (mg/dl)
0/24	1/18	74/47	124/12	170/00	160/41	LDL-C (mg/dl)
0/04	2/11	1/45	16/09	1/11	15/48	هموگلوبین (g/L)
0/04	2/12	176/2	130/57	18/52	50/52	CPK (IU/L)

جدول شماره ۳- مقایسه آسیب پذیری گلوبول های قرمز برحسب میزان تولید مالون دی آلدئید (MDA) در دو گروه مورد مطالعه

ارزش p	مقدار t	ورزشکار		غیرورزشکار		
		انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
0/001	2/32	208/49	295/20	174/94	421/39	مالون دی آلدئید با حضور آزاد (nmol/grHb)
0/0001	4/04	177/44	190/96	149/68	324/31	مالون دی آلدئید بدون حضور آزاد (nmol/grHb)
0/071	-1/82	20/97	330/78	155/69	268/72	مالون دی آلدئید کنترل (nmol/grHb)
0/001	3/56	24/65	62/89	12/87	78/07	درصد مالون دی آلدئید آزاد شده

جدول شماره ۴- مقایسه شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی یعنی آنتی‌اکسیدان تام در سرم خون، گلوکاتایون و گلوکاتایون پراکسیداز در گلبول‌های قرمز

		در دو گروه مورد مطالعه				
		ورزشکار		غیرورزشکار		
ارزش p	مقدار t	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
۰/۶۰	۰/۵۲	۳۶/۸۷	۱۲۴/۹۵	۳۹/۳۸	۱۲۱/۱۵	گلوکاتایون ($\mu\text{mol/grHb}$)
۰/۱۸	۱/۳۵	۷/۷۱	۴۸/۳۴	۸/۸۲	۵۰/۶۳	گلوکاتایون پراکسیداز (u/grHb)
۰/۷۹	۰/۲۰۷	۱۲۷/۹۲	۶۲۱/۶۴	۱۲۸/۵۳	۶۲۸/۲۲	آنتی‌اکسیدان تام (mmol/l)

بحث

متابولیسم آنتی‌اکسیدان‌ها، خود را بسیج می‌نمایند و در صورت مقابله آنتی‌اکسیدان‌ها با استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد، سلول به حیات خود ادامه می‌دهد و در غیر اینصورت ترکیبات آسیب‌پذیر آزاد مانند چربی‌های حاوی پیوندهای دوگانه در مقابل رادیکال‌ها به ترکیبات اپوکسید و پراکسید تبدیل می‌گردند که به تخریب و اختلالاتی در سلول منجر می‌گردد.

کاهش آسیب‌پذیری گلبول‌های قرمز و یا به عبارت دیگر مقاومت بهتر غشاء گلبول‌های قرمز در مقابل اکسیدان‌ها به طور چشمگیری در ورزشکاران دیده شد. نشان داده شده است که بلافاصله پس از انجام ورزش‌های شدید، میزان CPK در خون افزایش می‌یابد.^(۶۷) در افراد مورد مطالعه که به طور مرتب و روزانه ورزش می‌نمایند نیز، افزایش چشمگیری نشان داد. افزایش CPK در پلاسما خون گرچه منجر به تغییرات متابولیکی زیادی در سلولها نمی‌شود اما فعالیت بالای CPK در خون، شاخصی برای فعالیت افزایش یافته آن در سلولها بویژه سلولهای ماهیچه‌ای افراد ورزشکار است؛ این پارامتر در ورزشکاران شرکت کننده در این مطالعه همراه با افزایش شاخص هموگلوبین بوده است که این امر قابل توجهی می‌باشد.

عوامل آنزیمی اصلی آنتی‌اکسیداتیو شامل سوپراکساید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز است که رادیکال‌های سوپراکساید، هیدروژن پراکساید یا هیدروپراکساید‌های آلی و هیدروپراکساید را حذف می‌نمایند. مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی شامل ویتامین‌های E، C و K، بتاکاروتن، GSH، یوبی‌کینون و بیلی‌روبین هستند که

دو گروه ورزشکار و غیرورزشکار از نظر سن، BMI و پارامترهای لیپیدی یکسان بودند. میانگین مدت روزانه انجام ورزش در گروه ورزشکاران، $۷۲/۲۵ \pm ۴۹/۵۹$ دقیقه و میانگین سالهای ورزش، $۶/۵ \pm ۵/۵۶$ بود. افراد گروه غیرورزشکار اصولاً ورزش روزانه نداشتند. افزایش چشمگیری در میزان هموگلوبین ($۱۶/۰۹ \pm ۱/۴۵$ گرم در لیتر) و فعالیت CPK سرم ($۱۳۰/۵۷ \pm ۱۷۶/۲$ واحد بین‌المللی در لیتر) آنها وجود داشت ($p=۰/۰۴$). میزان گلوکاتایون و فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز گلبول‌های قرمز و نیز آنتی‌اکسیدان تام پلاسما در ورزشکاران و غیرورزشکاران تفاوت معنی‌داری نداشت، در صورتی که میزان MDA تولید شده از پراکسیداسیون چربی‌های موجود در غشاء گلبول‌های قرمز در حضور پراکسید هیدروژن که نشان دهنده میزان آسیب‌پذیری غشاء می‌باشد، در ورزشکاران به میزان چشمگیری کمتر از افراد غیرورزشکار بود ($p=۰/۰۰۱$).

به نظر می‌رسد که ورزش به جهت مصرف بیش‌تر اکسیژن توسط اندام‌ها با تولید رادیکال‌های آزاد همراه است. از طرفی در هنگام ورزش، افزایش ترشح هورمون‌هایی مانند اپی‌نفرین یا کاتکول آمین‌های دیگر می‌تواند رادیکال‌های آزاد تولید نماید.^(۵۰-۵۵، ۴۶) آنزیم‌ها و عوامل آنتی‌اکسیدان متعددی جهت حذف این رادیکال‌های آزاد مشخص شده است. در ورزش‌های شدید همین رادیکال‌های آزاد می‌توانند به آسیب و ضعف ماهیچه‌ای کمک کنند.^(۵۶)

سلولهای بدن جهت انجام فعالیت‌های طبیعی و حفظ تمامیت خود در مقابل رادیکال‌های آزاد تولید شده از

این ورزشکاران تصویر روشنی از وضع گلوکوتاتیون ارائه داد. این موضوع در خصوص آنتی‌اکسیدان‌های دیگر مانند آنتی‌اکسیدان تام پلاسمای خون نیز صادق است. تجربیات نشان می‌دهد که تغییرات آنتی‌اکسیدان‌ها نه تنها به نوع، مدت و شدت ورزش بستگی دارد بلکه وضعیت دفاع آنتی‌اکسیدانی از اندامی به اندامی دیگر نیز متفاوت است.^(۸۱)

نتیجه‌گیری

به طور واضح می‌توان تولید کمتر MDA را در افراد ورزشکار نشان داد و گرچه این برآورد به صورت *in vitro* انجام شده است، اما به نظر می‌رسد همین اتفاق می‌تواند در بدن انسان نیز صورت پذیرد که نشان دهنده کاهش آسیب‌پذیری غشاء گلبول‌های قرمز و شاید سلولهای دیگر بدن در ورزشکاران باشد، اما عدم تفاوت میزان گلوکوتاتیون و فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز گلبول‌های قرمز و نیز آنتی‌اکسیدان تام را شاید بتوان به دلیل تغییرات سریع این آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن دانست، اما می‌توان حدس زد که تعادل میان آنتی‌اکسیدان‌ها و استرس اکسیداتیو در ورزشکاران مناسب‌تر از افراد غیرورزشکار باشد.

تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران در قالب طرح تحقیقاتی انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله، مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسئولین آن مرکز ابراز می‌دارند.

فهرست منابع

- 1- Rumely AG, Paterson JR. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Annals of Clinical Biochemistry* 1998; 35: 181-200.
- 2- Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine* 1991; 11: 81-128.
- 3- Bryszewska M, Zavodnik IB, Niekurzak A, Szosland K. Oxidative processes in red blood cells from normal and

ویتامین K، بتاکاروتن و یوبی‌کینون در بخش لیپیدی سلول قرار دارند، در حالی که بقیه، در بخش آبی سلول جای دارند.^(۵۴)

مطالعات بر روی حیوانات نشان دادند که گرچه عوامل آنتی‌اکسیدان، اثر اکسیدان‌ها را خنثی می‌نمایند اما آیا می‌توان گفت که مصرف خوراکی بیش‌تر آنهايي که همراه غذا می‌توانند جذب خون گردند، قادر است استرس اکسیداتیو را به طور موثری کاهش دهد؟^(۵۸) افراد ورزشکار در این مطالعه از نظر میزان گلوکوتاتیون و گلوکوتاتیون پراکسیداز موجود در گلبول‌های قرمز، تفاوتی با افراد غیرورزشکار نشان ندادند. سوالی که اینجا مطرح می‌شود این است که آیا عدم تفاوت در این دو عامل آنتی‌اکسیداتیو در سلولهای دیگر بدن نیز وجود دارد یا خیر؟ جواب این سوال مشخص نیست. در بسیاری از مطالعات نیز افزایش این عوامل آنتی‌اکسیدان نشان داده نشده است.^(۵۸) پرسشی که مطرح می‌شود این است که آیا این نتایج شاخص در مطالعات مختلف ناشی از تفاوت‌های فردی میان افراد مورد مطالعه بوده یا به علت اختصاصی نبودن روشهای ارزشیابی آنها بوده است که می‌بایست به این پرسش، پاسخ داده شود.

نتایج بدست آمده در مطالعات مختلفی که بر روی حیوانات یا انسان‌های جوان و پیر انجام شده، تناقض بیشتری دارند. انجام مطالعات نشان می‌دهد که در سنین جوانی، ورزش اثر بهتری روی میزان آنتی‌اکسیدان‌ها دارد.^(۵۹ و ۶۰) شاید التیام سریع‌تر ورزشکاران جوان نسبت به افراد مسن تا اندازه‌ای مربوط به افزایش عوامل آنتی‌اکسیدان در ورزشکاران جوان باشد.^(۶۰)

عدم تفاوت گلوکوتاتیون در ورزشکاران نسبت به افراد غیرورزشکار می‌تواند به این علت باشد که تبدیل GSSG به GSH و برعکس، فرآیندی است که در چند ثانیه اتفاق می‌افتد، لذا چنانچه بلافاصله پس از ورزش، نمونه خون گرفته شود، وضعیت گلوکوتاتیون را می‌توان بهتر نمایش داد.^(۵۷) اما منظور از این مطالعه برآورد میزان آنتی‌اکسیدان‌ها در ورزشکارانی بود که به طور مرتب روزانه ورزش می‌نمودند، طبیعی است چنانچه تغییرات مقدار گلوکوتاتیون فوری باشد، نمی‌توان در

- diabetic individuals. *Biochemistry and Molecular Biology International* 1995; 37: 345-54.
- 4- Tesoriere L, Darpa D, Butera D, Pintandi AM, Allegra M, Livrea MA. Exposure to malondialdehyde induces an early redox unbalance proceeding membrane toxicity in human erythrocytes. *Free Radical Research* 2002; 36: 89.
- 5- Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology* 2001; 54: 176-86.
- 6- Aruoma OI. Free radicals and antioxidant strategies in sport. *J Nutr Biochem* 1994; 5: 370-81.
- 7- Ji LL. Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 1079-86.
- 8- Tiidus PM, Houston ME. Vitamin E status and response to exercise training. *Sports Med* 1995; 20: 12-23.
- 9- Clarkson PM. Antioxidants and physical performance. *Clin Rev Food Sci Nutr* 1995; 35: 131-41.
- 10- Maxwell DRJ. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1995; 49: 345-61.
- 11- Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol*, 1995; 79: 675-86.
- 12- Dekkers JC, van Doornen LJP, Kemper HCG. The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Med* 1996; 21: 213-38.
- 13- Alessio HM. Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25: 218-24.
- 14- Packer L. Oxidants, Antioxidant nutrients and the athlete. *J Sports Sci* 1997; 15: 353-63.
- 15- Ji LL, Leeuwenburgh C, Leichtweis S, Bejma J, Ji LL. Oxidative stress and aging. Role of exercise and its influences on antioxidant systems. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 20: 854: 102-7.
- 16- Ashton T, Rowlands CC, Jones E, Young IS, Jackson SK, Davies JR, et al. Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centered radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur J Appl Physiol* 1998; 77(6): 498-502.
- 17- Kanter M. Free radicals, exercise and antioxidant supplementation. *Proc Nutr Soc* 1998; 57: 9-13.
- 18- Sastre J, Asensi M, Gasco E, Pallardo FV, Ferrero JA, Furukawa T, et al. Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. *Am J Physiol* 1992; 263(5pt2): 992-5.
- 19- Tessier F, Margaritis I, Richard M, Moynot C, Marconnet P. Selenium and training effects of the glutathione system and aerobic performance. *Med Sci Sports Exerc* 1995; 27: 390-6.
- 20- Camus G, Felekidis A, Pincemail J, Deby-Dupont G, Deby G, Juchmes-Ferir A, et al. Blood levels of reduced/oxidized glutathione and plasma concentration of ascorbic acid during eccentric and concentric exercises of similar energy cost. *Arch Int Physiol Biochem Biophys* 1994; 102(1): 67-70.
- 21- Gohil K, Viguie C, Stanley WC, Brooks GA, Packer L. Blood glutathione oxidation during human exercise. *J Appl Physiol* 1988; 64: 115-9.
- 22- Laires MJ, Madeira F, Sergio J, Colaco G, Vaz G, Felisberto GM, et al. Preliminary study of the relationship between plasma and erythrocyte magnesium variations and come circulating pro-oxidant and antioxidant indices in a standardized physical effort. *Magnes Res* 1993; 6(3): 233-8.
- 23- Viguie CA, Frei B, Shigenaga MK, Ames BN, Packer L, Brooks GA. Antioxidant status and indexes of oxidative stress during consecutive days of exercise. *J Appl Physiol* 1993; 75: 566-72.
- 24- Sahlin K, Ekberg K, Cizinsky S. Changes in plasma hypoxanthine and free radical markers during exercise in man. *Acta Physiol Scand* 1991; 142(2): 275-81.
- 25- Ji LL, Katz A, Fu R, Griffiths M, Spencer M. Blood glutathione status during exercise: effect of carbohydrate supplementation. *J Appl Physiol* 1993; 74: 788-92.
- 26- Ohno H, Sato Y, Yamashita K, Doi R, Arai K, Kondo T, et al. The effect of brief physical exercise on free radical scavenging enzyme systems in human red blood cells. *Can J Physiol Pharmacol* 1986; 64(9): 1263-5.
- 27- Evelo CTA, Plamen NGM, Artur Y, Janssen GME. Changes in blood glutathione concentrations, and in erythrocyte glutathione reductase and glutathione S-transferase activity after running training and after participation in contests. *Eur J Appl Physiol* 1992; 64: 354-8.
- 28- Kanter MM, Lesmes GR, Kaminsky LA, La Ham-Saeger J, Nequin ND. Serum creatine kinase and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometer race. *Eur J Appl Physiol* 1988; 57: 60-3.
- 29- Kanter MM, Nottle LA, Holloszy JO. Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and peroxidation. *J Appl Physiol* 1993; 74: 965-9.

- 30- Maughan RJ, Donnelly AE, Gleeson M, Whiting PH, Walker KA. Delayed-onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run. *Muscle Nerve* 1989; 12: 332-6.
- 31- Lovlin R, Cotte W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN. Are indices of free radical damage related to exercise intensity? *Eur J Appl Physiol* 1987; 56: 313-6.
- 32- Sumida S, Tanaka K, Kitao H, Nakadomo F. Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation. *Int J Biochem* 1989; 21: 835-8.
- 33- Maxwell SRJ, Jakeman P, ThomMaughan RJ, Donnelly AE, Gleeson M, Whiting PH, et al. Delayed-onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run. *Muscle Nerve* 1989; 12: 332-6.
- 34- Sen CK, Rankinen T, Vaisanen S, Rauramma R. Oxidative stress after human exercise: effect of N-acetylcysteine supplementation. *J Appl Physiol* 1994; 76: 2570-7.
- 35- Viinikka L, Vuori J, Ylikorkala D. Lipid peroxides, prostacyclin, and thromboxane as in runners during acute exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1984; 16: 275-7.
- 36- Sahlin K, Cizinsky S, Warholm M, Hoberg J. Repetitive static muscle contractions in humans: a trigger of metabolic and oxidative stress. *Eur J Appl Physiol* 1992; 64: 228-36.
- 37- Rokitzki L, Logemann E, Sagredos AN, Murphy M, Wetzel-Roth W, Keul J. Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiol Scand* 1994; 151: 149-58.
- 38- Duthie GG, Robertson JD, Maughan RJ, Morrice PC. Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. *Arch Biochem Biophys* 1990; 82: 78-83.
- 39- Toskulkao C, Glinsukon T. Endurance exercise and muscle damage: relationship to lipid peroxidation and scavenging enzymes in short and long distance runners. *Jpn J Phys Fitness Sports Med* 1996; 45: 63-70.
- 40- Schneider CD, Barp J, Ribeiro JL, Bello-Kelin A, Oliver AR. Oxidative stress three different intensities of running. *Can J Appl Physiol* 2005; 30(6): 723-34.
- 41- Bloomer RJ, Goldfarb AH, Wedeman L, Mckenzie MJ, Consitt LA. Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *J strength Cond Res* 2005 19(2): 276-85.
- 42- Ginsberg GS, Agil A, Otoole M, Rimm E, Douglas PS, Rifai N. Effects of a single bout of ultraendurance exercise on lipid-levels and susceptibility of lipids to peroxidation in triathletes. *JAMA* 1996; 276: 221-5.
- 43- Knight JA, Voorhees RP, Martin L, Anstall H. Lipid peroxidation in stored red cells. *Transfusion* 1992; 32:354-7.
- 44- Stocks J, Dormandy TL. The Autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *British Journal of Haematol* Effects of a single bout of ultraendurance exercise on lipid-levels ogy 1971; 20: 95-111.
- 45- Cynamon HA, Isenberg JN, Nguyen CH. Erythrocyte malondialdehyde release in vitro: A functional measure of vitamin E status. *Clinical Chimica Acta* 1985; 151: 169-76.
- 46- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* 1978; 52: 302-10.
- 47- Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malondialdehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology* 1990; 186: 407-21.
- 48- Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1963; 61: 882-8.
- 49- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1967; 70: 158-69.
- 50- Andersen HR, Nielsen J, Nielsen F, Grandjean P. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry* 1997; 43: 562-8.
- 51- Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 1996; 239: 70-6.
- 52- Imlay JA, Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* 1998; 240: 1302-9.
- 53- Wallace SS. Biological consequences of free radical damaged DNA bases. *Free Radical Biology and Medicine* 2002; 33: 1-4.
- 54- Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence. *The Lancet* 1994; 344: 721-4.
- 55- Antolovich M, Prenzler PD, Pastalides E, McDonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst* 2002; 127: 183-98.

56- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry* 1995; 41: 1819-28.

57- Packer L, Rosen P, Tritschler HJ, King GL, Azzi A. Oxidative stress and antioxidants: The antioxidant network, α -lipoic acid and diabetes. In: Packer L. *Antioxidants in diabetes management*. 1st ed. Basel, Switzerland: Marcel Dekker inc; 2000. p. 1-15.

58- Pinchuk I, Lichtenberg D. The mechanism of action of antioxidants against lipoprotein peroxidation, evaluation based on kinetic experiments. *Prog Lipid Res* 2002; 41: 279-314.

59- Lee J, Goldfarb A, Reseino MH, Hegde S, Patrick S, Apperson K. Eccentric exercise effect on blood oxidative stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Med Scisports Exere* 2002; 34(3): 443-8.

60- Clarkson PM, Thesmpson HS. Antioxidants: What role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* 2000 Aug; 72(2 suppl): 6375-465.

61- Toshinai K, Oh-ishi S, Kiyaki T, Ookawara T, Haga S, Ohno H. Effect of Swinming training on antioxidant enzymes in kidney of young and old nice. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997 Mar; 95(3): 259-74.

Effect of Sports on the Reduction of Cell Membrane Susceptibility, Antioxidant Defense and Oxidative Stress

^I
*M. Firoozrai, PhD

^{II}
M. Sarasgani, MSPH

^{III}
B. Hesabi, MSc

^{IV}
A. Bandegi, PhD

Abstract

Background & Aim: The biological effects of potent oxidative agents in human body are under anti-oxidative control. Functional defects of organs may result from reactions of free radicals with the cell membrane. It is known that major targets of oxygen radicals are cell membrane lipids. Some reports indicate the role of peroxides in development of atherosclerosis. Human body tissues (eg. erythrocytes) contain major antioxidants including glutathione peroxidase and glutathione, hence normal erythrocytes are resistant to oxidative damage. Several controversial studies have demonstrated the effect of sport on improvement of antioxidants and prevention of oxidative damage. Our major objectives were to study the susceptibility of erythrocytes and to evaluate antioxidants such as glutathione peroxidase and glutathione in sports men and compare these variables with that of non-sports men.

Patients and Methods: In this cross-sectional study 121 male subjects (80 sportsmen and 41 non sportsmen) have been studied. To evaluate the susceptibility of the erythrocytes, Malondialdehyde (MDA) was measured after they were exposed to H₂O₂. Glutathione was measured by use of SS Dithio-bis(2-Nitrobenzoic acid) (DTNB). The activity of glutathione peroxidase and Creatine phospho-kinase (CPK) were assessed by enzymatic methods and plasma total antioxidants were estimated by Ferric reducing ability of plasma (FRAP) method. For statistical analysis of quantitative and qualitative variables Chi-Square and student T test were used.

Results: Creatinine phosphokinase activities in sportsmen were significantly higher. Erythrocytes obtained from non-sportsmen were more susceptible. Since, malondialdehyde resulting from incubation of erythrocytes with hydrogen peroxide in sportsmen (with catalase inhibition: 625.23±132.71 nmol/gHb and without catalase inhibition: 521.74±125.05 nmol/gHb) was significantly lesser than malondialdehyde of non-sportsmen (P<0.02 and P<0.01 respectively). Plasma total antioxidant levels, glutathione peroxidase activity and glutathione in the cells were not significantly different.

Conclusion: Although anti-oxidative power in sportsmen is not different but it seems lipids of erythrocyte membranes are less susceptible to oxidative stress as compared to nonsportsmen.

Key Words: 1) Erythrocytes Susceptibility 2) Glutathione 3) Glutathione Peroxidase
4) Malondialdehyde 5) Sportsmen

^I) Associate Professor of Biochemistry, Faculty of Medicine, Crossing of Hemmat and Chamran expressway, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran. (*Corresponding Author)

^{II}) MSPH, MSc in mycology, Biochemistry Group, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

^{III}) MSc in genetics, Biochemistry group, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

^{IV}) Assistant Professor of Biochemistry, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences and Health Services, Semnan, Iran.