مقاله پژوهشی

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۴ شماره ۵ آذر و دی ۱۳۹۱ صفحات ۳۴- ۲۸

تأثیر گرم کردن با شدت کم بر میزان پلاسمایی آنزیم‌های ضد اکسایشی و شاخص‌های تخریب اکسیداتیو بعد از فعالیت شدید در مردان غیر ورزشکار

کاظم خدائی دوشتور: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پارس آباد مغان، گروه تربیت بدنی، پارس آباد مغان، ایران، نویسنده رابط:
E- mail: k.khodai@yahoo.com
محمد رضا دهخدا: گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
سهراب ملک زاده : گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

دریافت: ۹۰/۱۲/۲۷ پذیرش: ۹۱/۲/۱۳

چکیده

زمینه و اهداف: گرم کردن با کاهش کسر اکسیژن می‌تواند باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد شود. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر گرم کردن با شدت کم بر میزان پلاسمایی آنزیم‌های ضد اکسایشی و شاخص‌های تخریب لیپیدی، پروتئینی و DNA بعد از فعالیت شدید در مردان غیر ورزشکار است.

مواد و روش‌ها: ابتدا میزان VO_{2peak} آزمودنی ها توسط گاز آنالیزر روی چرخ کارسنج اندازه‌گیری و میزان کار در شدت کم ۴۵ تا ۵۰ درصد VO_{2peak} محاسبه شد. سپس آزمودنی‌ها در دو جلسه با فاصله ۴۸ ساعت و در هر جلسه به دو گروه گرم کردن با شدت کم و بدون گرم کردن تقسیم شدند.
در ابتدای جلسه خون‌گیری استراحتی و سپس گروه اول گرم کردن با شدت کم به مدت شش دقیقه و بعد از آن اجرای فعالیت شدید و گروه دوم مستقیم بدون گرم کردن فعالیت شدید را انجام دادند، دو ساعت پس از فعالیت شدید خون‌گیری صورت گرفت.
در جلسه دیگر بصورت متقاطع جای اعضای گروه‌ها عوض شد. از روش آماری T همبسته برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد.

یافته‌ها: میانگین تغییرات مالون دی آلدئید در فعالیت با گرم کردن کاهش یافت اما تفاوت معنی داری نبود، ولی میانگین تغییرات کربونیل-پروتئین و ۸-هیدروکسی۲-دزوکسی گوانوزین بطور معنی‌داری افزایش یافته بود. میانگین تغییرات آنزیم SOD در فعالیت با گرم کردن پایین‌تر از فعالیت بدون گرم کردن بوده ولی تفاوت معنی دار نبود. میانگین تغییرات CAT و GPX در فعالیت با گرم کردن بطور معنی‌داری بالاتر از فعالیت بدون گرم کردن بود.

نتیجه‌گیری: گرم کردن با شدت کم می‌تواند تخریب لیپیدی را کاهش دهد ولی روی تخریب پروتئینی و DNA در مردان غیر ورزشکار اثری ندارد و باعث افزایش این تخریب‌ها می‌شود.

واژه‌های کلیدی: گرم کردن، آنزیم های ضد اکسایشی، تخریب اکسیداتیو، فعالیت شدید

مقدمه

رادیکال‌های آزاد با تخریب ساختارهای سلولی سبب آسیب رسانی به بدن شده و زمینه بسیاری از بیماری‌ها همچون بیماری-های قلبی عروقی، انواع سرطان، آلزایمر، (Multiple Sclerosis, MS) و آب مروارید را میسر ساخته و در کهولت نیز نقش دارد (۱). تشکیل رادیکال‌های آزاد نتیجه‌ی طبیعی حاصل از متابولیسم اکسیداتیو در عضلات اسکلتی و قلبی است. تقریبا ۲ تا ۵ درصد از اکسیژن جاری در دستگاه انتقال الکترون تبدیل به آنیون سوپر اکسید (O_2^-) و دیگر گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species, ROS) می‌شود. رادیکال‌های آزاد، گونه‌های شیمیایی فعالی هستند که دارای یک یا چند الکترون جفت نشده می‌باشند و می‌توانند به صورت مستقل در همه سلول‌های زنده تولید شوند.

بیشتر رادیکال‌های آزاد در محیط بدن دارای منشاء گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و یا گونه‌های فعال نیتروژن (Reactive NitrogenSpecies, RNS) می‌باشند.

ROS شامل رادیکال‌های آزاد وابسته به اکسیژن از جمله سوپراکسید (O_2^-)، هیدروکسیل (OH^-)، الکو اکسیل (RO)، پراکسیل (ROO) و هیدرو پراکسیل (ROOH) و RNS شامل رادیکال‌های آزاد نیتریک اکسید (NO) و نیتروژن دی اکسید (NO_2) و اکسیدان قوی پر اکسی نیتریک (($ONOO^-$ می‌باشد.

با افزایش جریان اکسیژن در میتوکندری در هنگام ورزش انتظار می‌رود تولید ROS در ماهیچه‌های قلبی و اسکلتی افزایش یابد. برای اثبات این مطلب، موش‌های صحرایی که تحت ورزش درمانده‌ساز ۳۰ دقیقه‌ای قرار گرفته بودند تولید رادیکال‌های آزاد در بافت هموژن قلب افزایش نشان داد و این ۳۰ دقیقه انقباض پیوسته تکراری در عضو عقبی موش صحرایی باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد سیاهرگی به اندازه ۷۰ درصد سطح استراحتی شد. در سال ۱۹۷۸، دیلارد و همکاران برای اولین بار نشان دادند که فعالیت دوچرخه‌سواری به مدت ۶۰ دقیقه با ۲۵ تا ۷۵ درصد VO_{2max} باعث پر اکسیداسیون لیپیدی حاصل از رادیکال‌های آزاد می‌شود. آنها افزایش ۱/۸ برابری در سطح پتان بازدمی مشاهده کردند. یکی از مکانیسم‌هایی که باعث تولید رادیکال‌های آزاد شود عبارت است از افزایش رهایش هورمون‌های کاتاکولامین در هنگام ورزش که با اکسیداسیون خودکار و همچنین آسیب‌های عضلانی بعدی در ورزش (در کوفتگی تاخیری) به لحاظ التهاب سبب آزاد شدن سوپر اکسید از نوتروفیل NADH اکسیداز می‌شود.

مکانیسم دیگری که در دوره‌های ورزش شدید موجب افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود مربوط به هیپوکسی و اکسیژن-گیری مجدد رخ دهنده در ماهیچه‌های فعال است که در یک چرخه انقباض و استراحت عمل می‌کنند.

در طی انقباض، رگ‌ها فشرده و یک شرایط ایسکمی رخ می-دهد که همان هیپوکسی است. در طی استراحت، جریان دوباره خون و اکسیژن‌گیری مجدد بعد از هیپوکسی احتمالاً موجب کاهش برابر تجمع در زنجیره الکترونی میتوکندریایی شود و در نتیجه پدیده‌ایی که به "کاهش استرس" معروف است رخ می‌دهد. در اکسیژن گیری دوباره کاهش پی در پی در مونو- الکترونیک می‌تواند تبدیل مولکول اکسیژن به رادیکال سوپر اکسیدافزایش دهد (۲). مک کورد نشان داد که در طی فقدان اکسیژن تولید گونه-های آزاد اکسیژن از جمله سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و به مقدار کمی هیدروکسیل رادیکال زیاد می‌شود (۳). همچنین آنتونی و جمیز با سه ساعت هیپوکسی و به دنبال آن اکسیژن‌گیری مجدد روی چهار بخش مغز موش‌های صحرایی نشان دادند که هیپوکسی باعث کاهش معنی‌داری در فعالیت آنتی اکسیدان‌های گلوتاتیون، کاتالاز GPX و SOD و افزایش تخریب لیپیدی می‌شود (۴). از آنجایی که کسر اکسیژن یا هیپوکسی عضلانی جز خانواده فقدان اکسیژن و هیپوکسی طبقه بندی می‌شود بنابراین کسر اکسیژن نیز می‌تواند باعث تولید رادیکال‌های آزاد شود (۴).

از طرفی گرم کردن به طور گسترده‌ای به عنوان یک مداخله-گر در تحقیقات مربوط به محدودیت‌های ریوی تنفسی (بوسیله مداخله در کار عضله) و افزایش اکسیژن مصرفی بعد از ورزش باعث سریع‌تر شدن پویایی اکسیژن مصرفی و اغلب با کاهش دامنه در قسمت آهسته باعث کاهش خستگی به وسیله کاهش در اندازه‌ی کسر اکسیژن عضله می‌شود (۵).

گربینو و همکاران ، پترسون، نظر علی و رضایی نشان دادند که گرم کردن می‌تواند باعث افزایش سرعت فاز دو پویایی اکسیژن و کاهش کسر اکسیژن در طی ورزش شود (۶).

بنابراین احتمال دارد گرم کردن سبب کاهش رادیکال‌های آزاد و کاهش تخریب‌های لیپیدی و پروتئینی و DNA شود.

از آنجایی که رادیکال‌های آزاد نیمه عمر پایینی دارند و اندازه گیری مستقیم آن مشکل می‌باشد (۲) به نظر می‌رسد که بهتر است شاخص‌های تخریب های اکسیداتیو که نیمه عمر بالایی دارند مورد اندازه گیری قرار گیرد.

بنابراین محقق قصد دارد اثر گرم کردن با شدت کم را بر میزان پلاسمایی شاخص‌های تخریب لیپیدی، پروتئین و DNA بعد از فعالیت شدید اندازه‌گیری کند و به این سوال پاسخ دهد که آیا ممکن است گرم کردن روی تخریب‌های اکسیداتیو تاثیر داشته باشد یا خیر؟

همچنین میزان پلاسمایی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز گرفته می‌شود تا اثر تغییرات آن‌ها نیز روی تخریب‌ها بررسی شود.

مواد و روش‌ها

برای انجام پژوهش ۱۲ نفر از دانشجویان غیر ورزشکار دانشگاه تربیت معلم بصورت داوطلبانه شرکت کردند. ابتدا رضایتنامه کتبی شرکت در تحقیق توسط آزمودنی ها پر شد، سپس پرسش‌نامه rPar-Q جهت ثبت میزان تندرستی و آمادگی جسمانی آزمودنی‌ها استفاده شد.

از آزمودنی‌ها خواسته شد تا دو روز قبل از انجام عملیات تحقیق فعالیت بدنی خاصی انجام ندهند. یک هفته برای دوره‌ی اعمال متغیر مستقل پژوهش جهت آشنایی و آمادگی روانشناختی آزمودنی‌ها و تعیین VO_{2peak} و شدت کار در گرم کردن در نظر گرفته شد. آزمودنی‌ها طی دو جلسه و با فاصله‌ی در حدود ۴۸ ساعت بین جلسات در آزمایشگاه حضور یافتند، به‌طوری که در هر جلسه به صورت متقاطع برای حذف اثر یادگیری در دو گروه شش نفری گرم کردن و بدون گرم کردن تقسیم شدند. در هر جلسه، خون‌گیری قبل از شروع کار در حالت استراحت انجام شد.

گرم کردن گروه اول شامل شش دقیقه فعالیت روی چرخ کارسنج (۶) با شدت کم ۴۵ تا ۵۰٪ VO_{2peak} (۷) و گروه دوم به عنوان گروه کنترل بدون گرم کردن بود.

گروه اول بعد از گرم کردن شش دقیقه ای شروع به انجام فعالیت شدید روی چرخ کارسنج (Monak E939 ساخت کشور سوئد) که به صورت اجرای متناوب شش وهله رکاب زدن ۳۰ ثانیه‌ای روی چرخ کارسنج با ۳۰۰ وات و بازیافت فعال ۳۰ ثانیه‌ای با ۴۰ وات در بین وهله‌های تمرینی (۸) و گروه دوم بدون گرم

کردن مستقیم فعالیت شدید ذکر شده را اجرا کردند. دو ساعت پس از پایان فعالیت شدید به علت زمان تاخیری نمایان شدن شاخص‌های تخریبی در خون، خون‌گیری انجام می‌شد.

در جلسه بعد جای آزمودنی‌ها در گروه‌ها عوض شد. در طول دورهٔ عملیات پژوهش مصرف دارویی آزمودنی‌ها کنترل شد. تغذیه بصورت مشترک غذای دانشگاه بود که تا حد امکان کنترل شد.

روش اندازه گیری VO_{2peak}

این کار توسط دستگاه گاز آنالیزر(Meta Max 3B ساخت شرکت Cortexآلمان) و آزمون فزآینده‌ای که بصورت سه دقیقه پدال زدن بدون بار روی چرخ کارسنج ، سپس هر دقیقه ۳۰ وات (W) بار اضافه شد تا جایی که آزمودنی‌ها به واماندگی رسیدند و نتوانستند آزمون را ادامه دهند.

سرعت پدال زدن بین ۷۰ تا ۹۰ rpm بود. طی این آزمون فزاینده داده‌های تبادل گازهای ریوی بصورت نفس به نفس جمع آوری شد. مقدار VO_{2peak} از بیشترین مقدار میانگین ۳۰ ثانیه آخر هنگام واماندگی آزمودنی‌ها در آزمون محاسبه شد (۹) . شدت گرم کردن نیز از روی نمودار VO_2 محاسبه گردید.

روش‌های اندازه‌گیری آزمایشگاهی

پس از خون‌گیری به اندازه ۵ میلی لیتراز ورید بازویی، کل خون هپارینی را به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰ دور در دقیقه سانتروفیوژ نموده و پلاسما را جدا و پس از آن گلبول‌های قرمز چهار بار توسط محلول ۰/۹٪ کلرید سدیم شستشو داده شد و گلبول‌های قرمز لیز شده جدا گردید. سنجش مالون دی آلدئید (MDA): غلظت مالون دی آلدئید در پلاسما توسط روش دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (مدل: crystal 200; Beckman Instrument Inc) اندازه‌گیری شد (۱۰) سنجش کربونیل – پروتئین بر اساس واکنش گروه کربونیل پروتئین‌های با DNHP که منجر به تولید هیدروژون‌ها می‌شود انجام می‌گیرد و جذب آن در ۳۷۰ نانومتر و بر حسب µmol/mg.p اندازه‌گیری شد (۱۱). سنجش ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین توسط محلول‌های کیت استخراج، DNA لکوسیت‌ها استخراج و تحت اثر ۰/۸واحد آنزیم P_1-نوکلئاز و یک واحد آنزیم اسید فسفاتاز در محلول حاوی یک میلی‌مول EDTA و ۱۰ میلی‌مول استات سدیم (PH=۴/۵) و شرایط C° ۳۷ به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت.

سپس مجموعه در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده، محلول رویی فیلتر گردید محلول فیلتر شده به ستون دستگاه HPLC تزریق شد. استاندارد ۸-OH-dG با غلظت ۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر نیز به دستگاه تزریق شد و اوج استاندارد آن ثبت گردید. براساس زمان بازدارندگی در ستون ODS-Ultrasphere به ابعاد ۴.۶×۲۵۰ nm مجهز به دتکتور الکتروکمیکال و سطح زیر منحنی، غلظت نمونه استاندارد بر حسب µmol/mg.p ارزیابی شد (۱۲). سنجش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس روش فلوه و اوتینگ (۱۳) و سنجش کاتالاز براساس روش ائبی (۱۴) و سنجش گلوتاتیون پراکسیداز براساس روش پاگیلا و والنتاین انجام شد (۱۵) و فعالیت نهایی هر سه آنزیم بر حسب واحد بر گرم در هموگلوبین (U/g.HB) بیان گردید.

پژوهش حاضر از نوع نیمه تجربی بود. برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از روش‌های آماری توصیفی و استنباطی استفاده شد. چون کلاً یک گروه بود و برای حذف اثر یادگیری به دو گروه در دو جلسه بصورت متقاطع تقسیم کردیم نیاز به همسان سازی گروه‌ها نبود و داده ها بصورت یک گروه در دو حالت وارد نرم افزار شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها از طریق آزمون کولموگروف – اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت.

جهت آزمون فرضیه‌های پژوهش از روش T همبسته در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزارSPSS16 انجام گردید.

یافته‌ها

میانگین و انحراف استاندارد مشخصات فردی آزمودنی‌ها و VO_{2peak} و میزان کار در گرم کردن با شدت کم در جدول(۱) ارائه شده است. میانگین و انحراف استاندارد میزان استراحتی متغیرها در هر جلسه در جدول (۲) و نتایج اطلاعات آماره‌ها و میانگین ± انحراف استاندارد متغیرها نسبت به حالت استراحتی در جدول (۳) نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات مالون دی آلدئید نسبت به حالت استراحتی بین فعالیت با گرم کردن و فعالیت بدون گرم کردن وجود نداشت (**P**<۰/۰۵).

اما میزان تغییرات مالون دی آلدئید در فعالیت با گرم کردن نسبت به فعالیت بدون گرم کردن کمتر بود. میزان تغییرات کربونیل-پروتئین و ۸-هیدروکسی۲-دزوکسی گوانوزین در فعالیت بدون گرم کردن نسبت به فعالیت با گرم کردن بطور معنی-داری کمتر بود (**P**<۰/۰۵).

همچنین میزان تغییرات آنزیمSOD در فعالیت با گرم کردن با نسبت به فعالیت بدون گرم کردن دارای تفاوت معنی‌دار نبود (**P**<۰/۰۵). اما در فعالیت با گرم کردن کمتر از فعالیت بدون گرم کردن بود. تغییرات CAT و GPX در فعالیت بدون گرم کردن نسبت به فعالیت با گرم کردن بطور معنی‌داری کمتر بود (**P**<۰/۰۵).

جدول۱: اطلاعات آماری مشخصات نمونه‌ی پژوهش

شاخص / گروه	تعداد	سن (سال) M±SD	وزن (کیلوگرم) M±SD	قد (سانتی متر) M±SD	VO_{2peak} (ml/kg.min) M±SD	بار کار در شدت کم (وات) M±SD
غیرورزشکار	۱۲	۲۳/۲۵±۱/۷۱	۷۲/۰۲±۸/۳۷	۱۷۴/۳۳±۵/۱۵	۳۰/۲۳۲±۴/۸۳۳	۶۴/۵۸±۱۶/۷۱۴

جدول ۲: میانگین ± انحراف استاندارد میزان استراحتی متغیرها در هر جلسه

متغیرها	جلسه ها	
	جلسه اول	جلسه دوم
مالون دی آلدئید*	۲/۴۶۳±۰/۲۶۶	۳/۹۰۹±۰/۶۳۷
کربونیل - پروتئین*	۵/۹۵۶±۰/۷۲۶	۸/۹۱۸±۱/۱۶۳
۸-هیدروکسی۲-دزوکسی‌گوانوزین*	۸/۰۸۵±۰/۶۶۰	۱۰/۰۷۸±۰/۹۲۲
سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)**	۲/۴۸۷±۰/۲۳۳	۳/۰۳۶±۰/۲۹۳
کاتالاز (CAT)**	۱۵/۶۵۵±۱/۰۰۷	۱۷/۰۸۰±۱/۶۴۲
گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)**	۳۱/۴۶۱±۲/۱۳۷	۳۵/۵۵۵±۲/۵۸۴

* داده ها بر حسب μmol/mg.pگزارش شده است.
**داده ها بر حسب واحد بر گرم در هموگلوبین (U/g.HB) گزارش شده است

جدول۳: اطلاعات آماره‌ها و میانگین± انحراف استاندارد متغیرها نسبت به حالت استراحتی

متغیرها	فعالیت با گرم کردن M±SD	فعالیت بدون گرم کردن M±SD	تفاوت میانگین‌ها	T	مقدار P
مالون دی آلدئید*	۱/۵۷۰	۱/۶۳۶	-۰/۰۶۵	-۱/۱۲۶	۰/۲۸۴
کربونیل - پروتئین*	۳/۵۲۱	۲/۶۲۰	۰/۹۰۱	۲/۱۹۷	†۰/۰۴۹
۸-هیدروکسی۲-دزوکسی‌گوانوزین*	۳/۱۵۴	۲/۴۷۲	۰/۹۳۴	۲/۵۲۶	†۰/۰۲۸
سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)**	۰/۹۶۷	۱/۰۵۰	-۰/۰۸۲	-۱/۸۵۵	۰/۰۹۱
کاتالاز (CAT)**	۳/۳۹۶	۲/۶۱۰	۰/۷۸۵	۲/۴۶۱	†۰/۰۳۲
گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)**	۷/۲۵۷	۶/۴۰۴	۰/۸۵۳	۲/۲۱۲	†۰/۰۴۸

* داده ها بر حسب μmol/mg.pگزارش شده است
**** داده ها بر حسب واحد بر گرم در هموگلوبین (U/g.HB) گزارش شده است.**
† در سطح ۰/۰۵ معنی دار می‌باشد.

بحث

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر گرم کردن با شدت کم بر میزان پلاسمایی آنزیم‌های ضد اکسایشی و شاخص‌های تخریب لیپیدی، پروتئینی و DNA بعد از فعالیت شدید در دانشجویان غیر ورزشکار است. از آنجایی که پژوهشی که اثر گرم کردن بر تخریب های اکسیداتیو و آنزیم های ضد اکسایشی را به طور مستقیم بررسی کند یافته نشد.

بنابراین سعی می شود رابطه بین تخریب‌ها و کسر اکسیژن و همچنین کسر اکسیژن با گرم کردن با هم بررسی شود. میزان تغییرات پلاسمایی مالون دی آلدئید نسبت به حالت استراحت در تحقیق حاضر دارای تفاوت معنی‌دار نبود ولی میانگین فعالیت با گرم کردن با شدت کم کمتر از فعالیت بدون گرم کردن بود. التان و همکارانش (۲۰۰۹) و آنتونی و جمیز (۲۰۱۰) نشان دادند که هیپوکسی باعث افزایش میزان بالای تخریب لیپیدی (مالون دی آلدئید) و میزان TABARS می‌شود (۴،۱۶) برای اینکه استرس اکسایشی در نتیجه ورزش وامانده ساز و شدید سطوح بالایی از تخریب لیپیدی را ایجاد می‌کند و سطوح MDA افزایش می‌یابد (۱۷).

هیپوکسی عضلانی باعث تولید رادیکال سوپراکسید و هیدروکسید می‌شود (۳،۱۸) وگونه‌های واکنش پذیر اکسیژن شامل سوپراکسید، هیدروکسید و پراکسید هیدروژن می‌توانند آغازگر و انتشار دهنده واکنش‌های تخریب اکسیداتیو لیپیدی باشند (۱۷). از طرفی باچیتو همکاران (۲۰۰۹)، گئور و همکاران (۲۰۰۰) از تحقیق روی انسان و اسب ها نشان دادند که گرم کردن با شدت کم باعث کاهش کسر اکسیژن بیشتری نسبت به بدون گرم کردن و گرم کردن با شدت زیاد می‌شود (۱۹) همچنین جونس آ و همکاران در سال (۲۰۰۸) و بورنلی و همکاران در سال (۲۰۰۰) نشان داده‌اند که گرم کردن با شدت زیاد روی کسر اکسیژن (کاهش VO_2مولفه آهسته پویایی اکسیژن) تاثیری ندارد (۶) البته در تحقیقات اندکی نشان داده شده که روی کاهش کسر اکسیژن موثر است که در این نوع تحقیقات پروتکل گرم کردن و شدت متفاوت بود (۹).

در تحقیق حاضر احتمالاً چون گرم کردن با شدت کم باعث کاهش کسر اکسیژن و هیپوکسی عضلانی شده و این نیز سبب کاهش تولید رادیکال سوپراکسید و هیدروکسید شده بنابراین ممکن است سبب کاهش تولید مالون دی آلدئید شده است با اینکه میانگین فعالیت با گرم کردن با از گروه بدون گرم کردن کمتر بود ولی تفاوت معنی‌دار نبود، بنابراین شاید رادیکال های آزاد حاصل از کسر اکسیژن خیلی زیاد نبوده که اثر گرم کردن پر رنگ تر شود و نیزممکن است از جنبه سوخت وسازی و مصرف اکسیژن، شش دقیقه فعالیت گرم کردن سبب افزایش تولید رایکالها نیز شده باشد و اثر کاهش کسر اکسیژن معنی دار نشده است.

در این پژوهش میانگین تغییرات کربونیل-پروتئین و۸-هیدروکسی ۲- دزوکسی‌گوانوزین نسبت به حالت استراحتی درفعالیت با گرم کردن بالاتر از فعالیت بدون گرم کردن بود. برای اینکه تخریب پروتئین‌ها به وسیله اکسیداسیون مستقیم آمینو اسیدهای خاص یا گسستگی ساختار پروتئین‌ها در نتیجه اختلال

در فعالیت بیولوژیکی یا تغییر در ساختارهای دوم و سوم پروتئینی رخ می‌دهد و پروتئین‌ها می‌توانند توسط گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن مشتق شده از غشا یا تولید شده به وسیله مراحل آبی مثل نیترید اکساید، رادیکال هیدروکسیل یا پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آلکوکسی یا پراکسی و رادیکال‌هایی با مرکزیت کربنی مورد حمله قرار گرفته و تخریب ایجاد شود و همچنین تخریب DNA توسط حمله رادیکال‌های هیدروکسیل روی می دهد (۲۰) اورسکاویچ و همکاران (۲۰۱۱) روی بیماران نشان دادند که هیپوکسی باعث تغییر معنی‌داری در میزان ۸- هیدروکسی ۲- دزوکسی گوانوزین نمی‌شود (۲۱)، چون رادیکال‌های آزادی که باعث تولید کربونیل-پروتئین و ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین می‌شوند متفاوت از رادیکال‌های تولیدی توسط کسر اکسیژن است بنابراین احتمال دارد گرم کردن بر روی رادیکال‌های تولید کننده این تخریب‌ها مانند هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن تاثیر نداشته بلکه خود نیز سبب تولید این نوع رادیکال‌ها شده است چون فعایت با گرم کردن شش دقیقه فعالیت اضافی به عنوان گرم کردن بیشتر از فعالیت بدون گرم کردن داشتند که می توانست سوخت وساز و مصرف اکسیژن را بالا ببرد و باعث افزایش این نوع تخریب‌ها در این فعالیت شود.

در تحقیق حاضر میانگین تغییرات سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) نسبت به حالت استراحتی در فعالیت با گرم کردن پایین‌تر از فعالیت بدون گرم کردن بود. از آنجایی که آنزیم‌های ضد اکسایشی به صورت انتخابی، در یک جلسه ورزشی شدید و بسته به استرس اکسایشی تحمیلی به بافت ها علاوه بر سایر سیستم های ضد اکسایشی بدن فعال می‌شوند لذا آنزیم های ضد اکسایشی SOD، GPX و CAT اولین سد دفاعی بدن در برابرگونه‌های واکنش پذیر اکسیژن (ROS) هنگام فعالیت‌های ورزشی می‌باشند. همچنین یافته‌های بیشتر تحقیقات حاکی از آن است که فعالیت این آنزیم‌ها در پاسخ به فعالیت‌های ورزشی در بدن انسان تغییر می‌کند. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که ورزش شدید میزان SOD را در بدن بالا می‌برد. کله و همکاران (۱۹۹۹) افزایش در فعالیت SOD را به دنبال ۴ هفته تمرین استقامتی در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. بیشتر تحقیقات افزایش در فعالیت SOD در نتیجه تمرینات ورزشی را نشان داده اند که این افزایش احتمالاً در نتیجه افزایش تولید رادیکال‌های سوپراکسید ناشی از فعالیت ورزشی می‌باشد (۲۲).

فهم سازوکارهای موثر در افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی به صورت یک چالش باقی مانده است. یافته‌ها نشان می‌دهد کاهش در سطوح mRNA با افزایش میزان SODوGPX همراه بوده و مشخص شده که تمرینات ورزشی ممکن است سبب تعدیل پس ترجمه‌ای برای این آنزیم‌ها شود. نقش ROS در فعال کردن این فرایندهای پس ترجمه‌ای تا حدودی روشن می‌باشد. همچنین مشاهده شده ورزش شدید می‌تواند بصورت خاصی آنزیم‌های ضد اکسایشی را بدون ساخت پروتئین‌های جدید فعال کند، که این امر ممکن است ناشی از ساخت و ذخیره آنزیم‌های ضد اکسایشی بصورت نوعی سازگاری به فعالیت‌های ورزشی در سلول‌های بدن برای رویاروی با استرس اکسیداتیو پیش رو باشد.

یکی از مسیرهای مهم درگیری که توسط ROS تحریک می‌شود مسیرسیگنالی NF-kB می باشد که اخیراً نشان داده شده است که مسیرسیگنالی NF-kB در فعالیت شدید در عضلات اسکلتی رت ها سبب افزایش بیانMnSOD و آنزیم های درگیر در دفاع آنتی اکسیدانی می‌شود. همچنین با توجه به پژوهش‌ها به نظر می رسد سطوح بالای آنزیم های ضد اکسایشی نمایانگر بالاتر بودن قدرت دفاعی بدن در برابر تخریب اکسایشی نبوده بلکه به نظر می‌رسد بیشتر نمایانگر میزان خطر بالقوه‌ای است که ساختارهای مختلف بدن را تهدید می‌کند (۲۳). سازوکار افزایش تولید SOD در هیپوکسی شاید فاکتورهای هیپوگزانتین و گزانتین در شرایط هیپوکسی- اکسیژن گیری مجدد باشد.

التان و همکاران (۲۰۰۹) و کیران (۲۰۰۶) افزایش تولید SODرا در عضلات اسکلتی، قلبی و عضلات ریه را در شرایط هیپوکسی مشاهده کردند (۱۶). با توجه به مطالب بالا و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید و هیدروکسید در ورزش و کسر اکسیژن (هیپوکسی عضلانی) بنظر می‌رسد در تحقیق حاضر میزان کم میانگین تغییرات SOD در فعالیت با گرم کردن به خاطر تاثیر وجود گرم کردن تولید رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید و هیدروکسید یافته است و این باعث تولید SOD کمتری شده است.

در تحقیق حاضر میانگین تغییرات CAT و GPX نسبت به حالت استراحتی در فعالیت با گرم کردن بیشتر از فعالیت بدون گرم کردن بود. نقش اصلی کاتالاز دفع پراکسید هیدروژن تولید شده در پراکسیزوم‌ها می‌باشد. وقتی غلظت پراکسید هیدروژن بالا می‌رود نقش کاتالیکی کاتالاز برجسته می‌شود که در نتیجه آن، پراکسید هیدروژن به اکسیژن و آب تجزیه می‌شود و همچنین GPX احیای پراکسید هیدروژن و هیدرو پراکسید آلی را با استفاده از GSH به عنوان دهنده الکترون به ترتیب به آب و الکل کاتالیز می‌کند. هر چند گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز برای سوبسترای پراکسید هیدروژن همپوشانی دارند، اما گلوتاتیون پراکسیداز (دست کم در پستانداران) نسبت به کاتالاز میل ترکیبی بیشتری با پراکسید هیدروژن در غلظت‌های پایین دارد (۲۴). همانطور که قبلا بیان شد کسر اکسیژن باعث تولید رادیکال‌های سوپر اکسید و هیدروکسید شده و گرم کردن با کاهش کسر اکسیژن سبب کاهش تولید این نوع رادیکال‌های آزاد می‌شود در حالی که بر میزان پراکسید هیدروژن و هیدرو پراکسید آلی تاثیری چندانی ندارد تا سبب کاهش آن و در نتیجه کاهش CAT و GPX شود. از طرفی در فعالیت با گرم کردن چون شش دقیقه گرم کردن بیشتر از فعالیت بدون گرم کردن داشتند در نتیجه احتمال دارد میزان پراکسید هیدروژن و هیدرو پراکسید آلی در این فعالیت افزایش یافته است.

همانطور که در بالا اشاره شد ورزش شدید می‌تواند با تولید رادیکال‌های آزاد بصورت خاصی آنزیم‌های ضد اکسایشی را بدون ساخت پروتئین‌های جدید فعال کند. بنابراین به نظر می‌رسد با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در شش دقیقه گرم کردن میزان CAT و GPX نیز متناسب با آن افزایش یافته باشد.

نتیجه گیری

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر گرم کردن با شدت کم باعث کاهش تخریب لیپیدی شد ولی باعث افزایش تخریب پروتئینی و DNA شد. همچنین آنزیم‌های ضد اکسایشی نیز متناسب با تخریب‌ها افزایش و کاهش یافتند.

در پژوهش حاضر کاهش تولید رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید در اثر گرم کردن با شدت کم نشان دهنده کاهش تخریب لیپیدی بوده است ولی دیگر آنزیم‌ها با افزایش گونه‌های دیگر رادیکال-های آزاد و دیگر تخریب‌ها افزایش یافته‌اند. بنابراین از لحاظ تخریب‌های اکسیداتیو استفاده از گرم کردن با شدت کم روی تخریب لیپیدی که بیشتر در ورزش رخ می‌دهد موثر است ولی روی تخریب‌های دیگر موثر نیست. از آنجایی که تاثیر مثبت گرم کردن در بیشتر موارد فیزیولوژیکی و بیولوژیکی تمرین و ورزش به اثبات رسیده ولی گرم کردن برای افراد غیر فعال از لحاظ تولید تخریب های اکسیداتیو مناسب نیست.

تقدیرو تشکر

از دانشجویان دانشگاه تربیت معلم شرکت کننده در پژوهش، دکتر مسعود مشهدی اکبر بوجار به جهت انجام آزمایشات بیوشیمی ما را یاری نمودند، و مدیر تحصیلات تکمیلی دکتر حمید رجبی تشکر و قدردانی می شود.

References

1. Villa M, Cordova G, Tur A, Pons A. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. *J Nutr Biochem* 2003; **14**: 319-325.
2. Cooper CE, Vollaard NBJ, Choueiri T, Wilson M. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 2002; **30**(2): 280-285.
3. MC cord JM. Oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N Engel J Med* 1985; **312**: 159-163.
4. Antony M, James TJ. A study on the effect of isobaric hypoxia on antioxidant enzyme activity and lipid preoxidation in rat brain. *IJPS* 2010; **1**(9): 67-75.
5. Burnley M, Doust JH, Jones AM. Time required for the restoration of normal heavy exercise VO2 kinetics following prior heavy exercise. *J Appl Physiol* 2006; **101**: 1320–1327.
6. Nazarali P, Rezayi N. Effect of warm up intensity below the lactate threshold on vo2 slow component during submaximal exercise in elite futsall players. *Middle-east J Sci Res* 2010; **5**(4): 252-255.
7. Mandengue HS, Miladi I, Bishop D, Temfemo A, Cisse F, Ahmaidi A. Methodological approach for determining optimal active warm-up intensity: predictive equations. *Science & Sports* 2009; **24**: 9–14.
8. Robertson A, Watt JM, Galloway SDR. Intensity cycling exercise effects of leg massage on recovery from high. *Br J Sports Med* 2004; **38**: 173-176.
9. Bailey JS, Vanhatalo A, Wilkerson PD, Dimenna J, Jones MA. Optimizing the “priming” effect: influence of prior exercise intensity and recovery duration on O2 uptake kinetics and severe-intensity exercise tolerance. *J Apply Physiol* 2009; **107**: 1743–1756.
10. Steven HY, Joseph AK, Sidney MH. Lipid peroxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondialdehyde Thiobarbituric acid adduct. *Clin Chem* 1987; **32**: 214-220.
11. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometeric method for carbonyl assay. In: Packer, L. (Ed), Methods in Enzymology. *Academic press, San Diego CA* 1994; **233**: 363-375.
12. Irie M, Asomi S, Nagata M. Psychosocial factors as a potential tigger of oxidative DNA damage in human leukocytes. *Jpn J Cancer Res* 2001; **92**: 367-376.
13. Flohe L, Otting F. Superoxide dismutase assay. *Meth Enzymol* 1984; **105**: 93-104.
14. Aebi H. Catalase in vitro. *Meth Enzymol* 1984; **105**: 121-126.
15. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin* Med 1967; **70**: 158-165.
16. Altan M, Atukeren P, Mengi M, Metin M, Cakar L, Gumustas K. Influence of intermittent hypobaric exposure on SOD and TBARS levels in trained rats. *Chin J Physiol* 2009; **52**(2): 106-292.
17. Jackson MJ, Khassaf M, Vasilaki A, Mcardle F. Vitamin E and the oxidative stress of exercise. *Ann NY Scad sci* 2005; **1031**: 158-165.
18. Thomas L, Clanton. Hypoxia - induced reactive oxygen species formation in skeletal muscle. *J Apply Physiol* 2007 **102**: 2379–2388.
19. Buchheit M, Laursen PB, Ahmaidi S. Effect of prior exercise on pulmonary O2 uptake and estimated muscle capillary blood flow kinetics during moderate-intensity field running in men. *J Apply Physiol* 2009; **107**: 460–470.
20. Sasson M, Stiller A. Free radical and oxidant balance. *J Clin Biochem* 1993; **26**(5): 35-135.
21. Beketic-Oreskovic L, Ozretic P, Rabbani ZN, Jackson IL, Sarcevic B, Levanat S. Prognostic significance of carbonic anhydrase IX (CA-IX), Endoglin (CD105) and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in Breast Cancer Patients. *POR* 2011; **17**(3): 593-603.

22. Pansarasa F, Bertorelli O, Valle L, Della G. Blood free radical oxidant enzymes and lipid peroxidant following long–distance and lactacidemic performance in highly trained aerobic and sprint athlete. *J Sport Med Phys Fitness* 1997; **37**: 235-239.
23. Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Steinhafel N, Vina J. Acute exercise activates nuclear factor (NF) kB signaling pathway in rat skeletal muscle. *FASEB J* 2004; **18**:1500–1506.
24. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. Exercise Physiology: Energy, Nutrition, and Human Performance. 4th ed. NewYork, Lippincott Williams & Wilkins, 2001; PP: 378-384.