

تأثیر گرم کردن با دو شدت متفاوت بر میزان پلاسمایی آنزیم‌های ضد اکسایشی و شاخص‌های تخریب لیپیدی، پروتئینی و دی.ان.ای بعد از فعالیت شدید در دانشجویان غیرورزشکار

محمدرضا دهخدا^{*}، کاظم خدائی^{**}، سهراب ملک‌زاده^{**}

^{*} استادیار فیزیولوژی ورزش دانشگاه خوارزمی

^{**} کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش دانشگاه خوارزمی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۹/۳۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۱۲/۲۷

چکیده

هدف این پژوهش بررسی تأثیر گرم کردن با دو شدت متفاوت بر میزان پلاسمایی آنزیم‌های ضد اکسایشی و شاخص‌های تخریب لیپیدی، پروتئینی و دی.ان.ای بعد از فعالیت شدید در دانشجویان غیرورزشکار بود. ۱۲ نفر از دانشجویان غیرورزشکار دانشگاه خوارزمی برای پژوهش انتخاب شدند. ابتدا میزان $\text{VO}_{2\text{peak}}$ آزمودنی‌ها با دستگاه گازآنالیزر روی چرخ کارسنج اندازه‌گیری و میزان کار در شدت‌های کم و زیاد گرم کردن محاسبه شد. سپس آزمودنی‌ها در سه جلسه با فاصله ۴۸ ساعت به سه گروه گرم کردن با شدت کم و گرم کردن با شدت زیاد و بدون گرم کردن تقسیم شدند. در ابتدای هر جلسه خون‌گیری استراحتی انجام شد. سپس، گروه اول گرم کردن با شدت کم ($\text{VO}_{2\text{peak}} \text{ } 45\%-50\%$) را به مدت شش دقیقه انجام دادند سپس اجرای فعالیت شدید آغاز شد و گروه دوم گرم کردن با شدت زیاد ($\text{VO}_{2\text{peak}} \text{ } 75\%-80\%$) و سپس فعالیت شدید را انجام دادند و گروه سوم مستقیم بدون گرم کردن فعالیت شدید را انجام دادند. دو ساعت پس از فعالیت شدید خون‌گیری صورت گرفت. در روزهای دیگر به صورت متقاطع جای اعضای گروه‌ها عوض شد. از تحلیل واریانس اندازه‌گیری‌های مکرر و آزمون تعقیبی LSD برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد. یافته‌های پژوهش نشان داد که بین میانگین تغییرات MDA، کربونیل-پروتئین و ۸-هیدروکسی-۲-دئوکسی گوانوزین و همچنین بین میانگین تغییرات آنزیم‌های ضد اکسایشی SOD، CAT و GPX نسبت به حالت استراحتی در سه حالت تفاوت معنی‌داری وجود داشت. میانگین تغییرات MDA و SOD در حالت گرم کردن با شدت کم کمتر از حالت‌های دیگر بود. ولی این کاهش معنی‌دار نبود. تغییرهای دیگر در حالت بدون گرم کردن کمترین مقدار و در گرم کردن شدید بیشترین مقدار را داشتند. نتایج پژوهش نشان داد که گرم کردن با شدت کم می‌تواند تخریب لیپیدی را کاهش دهد، ولی بر تخریب پروتئینی و DNA اثری ندارد. گرم کردن با شدت زیاد نیز می‌تواند باعث افزایش هر سه نوع تخریب شود. بنابراین در مردان غیرورزشکار گرم کردن با شدت کم بهتر از شدت زیاد است.

واژه‌های کلیدی: گرم کردن، آنزیم‌های ضد اکسایشی، تخریب لیپیدی، تخریب پروتئینی، تخریب DNA، فعالیت شدید.

Effect of different intensity warm up on plasma antioxidant enzymes and damage indices of lipid, protein and DNA after intensive activity in non-athlete males

Mohammad Reza Dehkhoda*, Kazem Khodai**, Sohrab malekzadeh**

* Assistant Professor of Kharazmi University

** MSc of Kharazmi University

Abstract

The aim of this research was study the effect of warm up with two different type intensity on plasma antioxidant enzymes and damage indices of lipid, protein and DNA after intensive activity in non-athlete males. 12 non athlete students of kharazmi University participated in this study. Firstly, subjects $\text{VO}_{2\text{peak}}$ were measured by Gas analyzer (Meta Max 3B) on the ergometer cycle with incremental test. Work rate in the low and high intensities of warm up were calculated for each subjects on the $\text{VO}_{2\text{peak}}$ chart. After a week subjects in the three sessions with 48 hours interval which in each session divided to three groups of warm up with low and high intensity and non-warm up group that performed high intensity exercise. In each session resting blood sampling performed then first group warm up with low intensity ($45\%-50\% \text{VO}_{2\text{peak}}$) for six minutes and then perform intensive activity and Second group performed warm up with high intensity ($75\%-80\% \text{VO}_{2\text{peak}}$) and then intensive activity and third group directly without warm up performed intensive activity. Blood sampling performed after two hours of the intensive activity. In other sessions changed place of members in groups by cross design method. Using analysis of variance with repeated measuring and the LSD test for statistic analyze. The results showed that the between MDA, carbonyl-protein and 8-hydroxy-2-deoxy Guanosine and also antioxidant enzymes SOD, CAT and GPX main difference than rest in three state have significant value. Main difference of MDA and SOD was not signifacnatly lower in the low intensity warm up state rather than other state. In the other variables non warm up state have lower value and intensity warm up state have higher value. Result of the study indicate that low intensity warm up can decreased lipid damage but not effected on the protein and DNA damage. Also, High intensity warm up can case increases all three type damage. Therefore low intensity warm up in non-athlete males better than the high intensity warm up.

Keywords: warm up, antioxidant enzymes, lipid damage, protein damage, DNA damage, intensive activity

مقدمه

تشکیل رادیکال‌های آزاد نتیجه طبیعی حاصل از متابولیسم اکسیداتیو در عضلات اسکلتی و قلبی است. تقریباً ۲ تا ۵ درصد از اکسیژن جاری در دستگاه انتقال الکترون تبدیل به آنیون سوپر اکسید (O_2^-) و دیگر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)^(۱) می‌شود (۱). رادیکال‌های آزاد گونه‌های شیمیایی فعالی هستند که یک یا چند الکترون جفت‌نشده دارند و می‌توانند به صورت مستقل در همه سلول‌های زنده تولید شوند. منشأ بیشتر رادیکال‌های آزاد در محیط بدن گونه‌های فعال اکسیژن یا گونه‌های فعال نیتروژن (RNS)^(۲) است. ROS شامل رادیکال‌های آزاد وابسته به اکسیژن از جمله سوپراکسید، 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 پراکسی نیتریک ($ONOO^-$)^(۲) است. با افزایش جریان اکسیژن در میتوکندری در هنگام ورزش انتظار می‌رود تولید ROS در ماهیچه‌های قلبی و اسکلتی افزایش یابد. برای اثبات این مطلب تولید رادیکال‌های آزاد در بافت هموژن قلب موش‌های صحرایی که تحت ورزش درمانده‌ساز ۳۰ دقیقه‌ای قرار گرفته بودند 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 (۳). 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 پراکسیداسیون لیپیدی حاصل از رادیکال‌های آزاد می‌شود. آنها افزایش ۱/۸ برابری را در سطح پنتان بازدمی مشاهده کردند (۲). یکی از سازوکار که باعث تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود عبارت است از افزایش رهاش هورمون‌های کاتاکولامین در هنگام ورزش که با اکسیداسیون خودکار و همچنین آسیب‌های عضلانی بعدی در ورزش (در کوفتگی تأخیری) به لحاظ التهاب سبب آزاد شدن سوپر اکسید از نوتروفیل $NADH$ اکسیداز می‌شود. سازوکار دیگری که در دوره‌های ورزش شدید موجب افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود مربوط به هیپوکسی و اکسیژن‌گیری مجدد در ماهیچه‌های فعال است که در یک چرخه انقباض و استراحت عمل می‌کنند. در طی انقباض، رگ‌ها فشرده می‌شود و وضعیت ایسکمی رخ می‌دهد 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 پدیده‌ای که به "کاهش استرس" معروف است رخ می‌دهد. در اکسیژن‌گیری دوباره، کاهش پی‌درپی در مونو-الکترونیک می‌تواند تبدیل مولکول اکسیژن به رادیکال سوپر اکسید را افزایش دهد (۴). مک‌کورد نشان داد که طی فقدان اکسیژن تولید گونه‌های آزاد اکسیژن از جمله سوپراکسید و هیدروژن پراکسیدو به مقدار کمی هیدروکسیل رادیکال افزایش می‌یابد (۵). همچنین مانجو آنتونی و تی. جی. جیمز 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 آنتی‌اکسیدان‌های گلوکوتاتیون، کاتالاز، GPX و SOD ^(۶) و افزایش تخریب لیپیدی می‌شود (۶). از آنجایی که کسر اکسیژن یا

1 . Reactive Oxygen Species
2 . Reactive Nitrogen Species

3 . Glutathione Peroxidase
4 . Superoxide Dismutase

هیپوکسی عضلانی جزء خانواده فقدان اکسیژن و هیپوکسی طبقه‌بندی می‌شود، کسر اکسیژن نیز می‌تواند باعث تولید رادیکال‌های آزاد شود (۶). از طرفی گرم کردن به منزله مداخله در پژوهش‌های مربوط به محدودیت‌های ریوی تنفسی (به وسیله مداخله در کار عضله) و افزایش اکسیژن مصرفی بعد از ورزش (۷) باعث سریع‌تر شدن پویایی اکسیژن مصرفی می‌شود و اغلب با کاهش دامنه در قسمت آهسته (۹،۸)، به کاهش خستگی به وسیله کاهش در اندازه کسر اکسیژن عضله منجر می‌شود (۱۰). گرینو و همکاران (۹)، نیکول و همکاران (۱۱)، نظرعلی و رضایی (۱۲) نشان دادند که گرم کردن می‌تواند افزایش سرعت فاز دو پویایی اکسیژن و کاهش کسر اکسیژن در طی ورزش را به دنبال داشته باشد. بنابراین، احتمال دارد گرم کردن سبب کاهش رادیکال‌های آزاد و کاهش تخریب‌های لیپیدی و پروتئینی و DNA شود و از آنجاکه رادیکال‌های آزاد نیمه‌عمر خیلی پایینی دارند و اندازه‌گیری مستقیم آنها مشکل است (۲). به نظر می‌رسد بهتر است شاخص تخریب‌های اکسیداتیو که نیمه‌عمر بالایی دارند اندازه‌گیری شود. بنابراین محقق قصد دارد اثر گرم کردن با دو شدت کم و زیاد را بر میزان پلاسمایی شاخص‌های تخریب لیپیدی، پروتئینی و DNA بعد از فعالیت شدید اندازه‌گیری کند و به این سؤال پاسخ دهد که آیا ممکن است گرم کردن بر تخریب اکسیداتیو تأثیر داشته باشد یا خیر؟ و کدامیک از این دو نوع گرم کردن تأثیر بهتری دارد؟ همچنین میزان پلاسمایی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز گرفته می‌شود تا اثر تغییرات آنها نیز بر تخریب‌ها بررسی شود.

روش‌شناسی پژوهش

۱۲ نفر از دانشجویان غیرورزشکار دانشگاه خوارزمی داوطلبانه در پژوهش حاضر مشارکت کردند. از پرسش‌نامه 'RPar-Q' جهت ثبت میزان تن‌درستی و آمادگی جسمانی آزمودنی‌ها استفاده شد. از آزمودنی‌ها خواسته شد دو روز قبل از انجام پژوهش فعالیت بدنی خاصی انجام ندهند. یک هفته برای دوره اعمال متغیر مستقل پژوهش جهت آشنایی و آمادگی روان‌شناختی آزمودنی‌ها و تعیین VO_{2peak} و شدت‌های گرم کردن در نظر گرفته شد. آزمودنی‌ها طی سه جلسه و با فاصله حدود ۴۸ ساعت بین جلسه‌ها در آزمایشگاه حضور یافتند، به‌طوری‌که در هر جلسه به صورت متقاطع در سه گروه چهارنفری یکی از انواع گرم کردن را انجام دادند. در هر جلسه خون‌گیری قبل از شروع کار در حالت استراحت انجام شد. گرم کردن گروه اول شامل شش دقیقه فعالیت روی چرخ کارسنج (۱۲) با شدت کم ۴۵ تا ۵۰ درصد VO_{2peak} (۱۳) و گروه دوم شش دقیقه فعالیت روی چرخ کارسنج با شدت زیاد ۷۵ تا ۸۰ درصد VO_{2peak} (۱۳) و گروه سوم به‌عنوان گروه کنترل بدون گرم کردن بود. بعد از گرم کردن هر دو گروه فعالیت شدید روی چرخ کارسنج انجام دادند که به‌صورت اجرای متناوب شش وهله رکاب‌زدن ۳۰ ثانیه‌ای روی چرخه کارسنج با ۳۰۰ وات و بازیافت فعال ۳۰ ثانیه‌ای با ۴۰ وات در بین وهله‌های تمرینی بود (۱۴). گروه سوم نیز بدون گرم کردن فعالیت شدید را اجرا کرد. دو ساعت پس از پایان فعالیت شدید خون‌گیری انجام شد. در هر جلسه جای آزمودنی‌ها در گروه‌ها

عوض می‌شد تا اثر یادگیری حذف شود. ولی داده‌ها به صورت یک گروه در سه حالت وارد نرم افزار می‌شد. در طول دوره عملیات پژوهش مصرف دارویی آزمودنی‌ها کنترل شد.

روش‌های اندازه‌گیری VO_{2peak} : این کار با استفاده دستگاه گاز آنالیزر (Meta Max 3B ساخت شرکت Cortex آلمان) و آزمون فزاینده انجام شد. آزمون فزاینده شامل اجرای سه دقیقه پدال‌زدن بدون بار روی چرخ کارسنج (Monak E939 ساخت کشور سوئد)، سپس افزودن ۳۰ وات (W) بار در هر دقیقه تا واماندگی کامل آزمودنی‌ها از ادامه آزمون بود. سرعت پدال‌زدن بین ۷۰ تا ۹۰ rpm بود. طی این آزمون فزاینده داده‌های تبادل گازهای ریوی به صورت نفس به نفس جمع‌آوری شد. بالاترین میانگین VO_2 در ۳۰ ثانیه آخر هنگام واماندگی آزمودنی‌ها در آزمون فزاینده به عنوان VO_{2peak} محاسبه شد (۱۵). شدت‌های گرم کردن بر حسب وات از روی نمودار محاسبه شد.

اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی: پس از خون‌گیری به اندازه ۵ میلی‌لیتر از ورید، کل خون هپارینی به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و پلاسما جدا شد و پس از آن گلبول‌های قرمز چهاربار به وسیله محلول ۰/۹ درصد کلرید سدیم شستشو داده شد و گلبول‌های قرمز لیز شده جدا گردید.

سنجش مالون‌دی‌آلدئید (MDA): غلظت مالون دی آلدئید در پلاسما به وسیله روش دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (مدل: crystal 200; Beckman Instrument Inc) اندازه‌گیری شد (۱۶). سنجش کربونیل-پروتئین براساس واکنش گروه کربونیل پروتئین‌های با DNHP که به تولید هیدروژن‌ها منجر می‌شود انجام می‌گیرد و جذب آن در ۳۷۰ نانومتر و بر حسب $\mu\text{mol/mg.p}$ اندازه‌گیری شد (۱۷). سنجش ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین به وسیله محلول‌های کیت استخراج، DNA لکوسیت‌ها استخراج و تحت اثر ۰/۸ واحد 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 37°C به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. سپس مجموعه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده محلول رویی فیلتر شد محلول فیلتر شده به ستون دستگاه HPLC تزریق گردید. استاندارد 8-OH-dG با غلظت ۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر نیز به دستگاه تزریق شد و اوج استاندارد آن ثبت گردید. براساس زمان بازداری در ستون ODS-Ultasphere به ابعاد $4.6 \times 250 \text{ nm}$ مجهز به دتکتور الکتروکیمیکال و سطح زیر منحنی، غلظت نمونه استاندارد بر حسب $\mu\text{mol/mg.p}$ ارزیابی شد (۱۸). سنجش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس روش فلوه و اوتینگ (۱۹) و سنجش کاتالاز براساس روش ائبی (۲۰) و سنجش گلوکاتایون پراکسیداز براساس روش پاگلیا و والتاین انجام شد (۲۱). فعالیت نهایی هر سه آنزیم بر حسب واحد بر گرم در هموگلوبین (U/g.HB) بیان شد.

تجزیه و تحلیل داده‌های پژوهش

برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از روش‌های آماری توصیفی و استنباطی استفاده شد. چون کلاً یک گروه داشتیم و برای حذف اثر یادگیری آن را به سه گروه در هر جلسه و در سه جلسه به صورت متقاطع تقسیم کردیم، همسان‌سازی گروه‌ها لازم نبود و داده‌ها به صورت یک گروه در سه حالت وارد نرم‌افزار شد. نرمال‌بودن توزیع داده‌ها از طریق آزمون کولموگروف - اسمیرنوف^۱ تحت بررسی قرار گرفت. جهت آزمون فرضیه‌های پژوهش از روش تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های تکراری^۲ در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد. از آزمون تعقیبی LSD^۳ برای تشخیص اختلاف هریک از میانگین‌ها استفاده شد. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 انجام گرفت.

یافته‌ها

میانگین و انحراف استاندارد مشخصات فردی آزمودنی‌ها در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. میانگین $\pm$ انحراف استاندارد اطلاعات آماری مشخصات نمونه پژوهش

شاخص / گروه	تعداد	سن (سال)	وزن (کیلوگرم)	قد (سانتی‌متر)	VO _{2peak} (میلی لیتر بر کیلوگرم در دقیقه)	بار کار در شدت کم (وات)	بار کار در شدت زیاد (وات)
غیرورزشکار	۱۲	۲۳/۲۵ $\pm$ ۱/۷۱	۷۲/۰۲ $\pm$ ۸/۳۷	۱۷۴/۳۳ $\pm$ ۵/۱۵	۳۰/۲۳۲ $\pm$ ۴/۸۳۳	۶۴/۵۸ $\pm$ ۱۶/۷۱۴	۱۱۶/۶۷ $\pm$ ۲۲/۱۹۱

میانگین و انحراف استاندارد میزان استراحتی متغیرها در هر جلسه در جدول ۲ و نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه همراه با میانگین تغییرات متغیرها نسبت به حالت استراحتی و همچنین آزمون تعقیبی LSD به صورت علائم روی میانگین تغییرات در جدول ۳ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات مالون دی آلدئید نسبت به حالت استراحتی بین سه گروه وجود داشت ($P < ۰/۰۵$). آزمون تعقیبی LSD نشان داد مالون دی آلدئید با اجرای گرم‌کردن با شدت کم نسبت به گرم‌کردن با شدت زیاد به طور معنی‌داری کمتر بود ($P < ۰/۰۵$)، اما نسبت به حالت بدون گرم‌کردن تفاوت معنی‌داری نداشت. کربونیل-پروتئین و ۸-هیدروکسی-۲-دزوکسی گوانوزین در گروه بدون گرم‌کردن نسبت به دو گروه گرم‌کردن با شدت زیاد و کم به طور معنی‌داری کمتر بود ($P < ۰/۰۵$). نتایج آزمون تعقیبی در آنزیم SOD در حالت گرم‌کردن با شدت کم نسبت به حالت گرم‌کردن با شدت زیاد به طور معنی‌داری کمتر بود ($P < ۰/۰۵$). اما نسبت به حالت بدون گرم‌کردن تفاوت معنی‌داری نداشت. تغییرات CAT و GPX در حالت بدون گرم‌کردن نسبت به دو حالت گرم‌کردن با شدت زیاد و کم به طور معنی‌داری کمتر بود ($P < ۰/۰۵$).

1. Kolmogorov- Smirnov

2. Analysis of Variance With Repeated Measure (ANOVA R.M)

3. Least Significant Difference

جدول ۲. میانگین $\pm$ انحراف استاندارد میزان استراحتی متغیرها در هر جلسه

متغیرها	جلسه ها		
	جلسه اول	جلسه دوم	جلسه سوم
مالون دی آلدئید *	۲/۴۶ $\pm$ ۰/۲۶	۳/۹۰ $\pm$ ۰/۶۳	۴/۹۲ $\pm$ ۱/۰۳
کربونیل - پروتئین *	۵/۹۵ $\pm$ ۰/۷۲	۸/۹۱ $\pm$ ۱/۱۶	۱۱/۶۱ $\pm$ ۱/۶۳
۸-هیدروکسی-۲-دزوکسی گوانوزین *	۸/۰۸ $\pm$ ۰/۶۶	۱۰/۰۷ $\pm$ ۰/۹۲	۱۲/۲۸ $\pm$ ۱/۱۹
سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) **	۲/۴۸ $\pm$ ۰/۲۳	۳/۰۳ $\pm$ ۰/۲۹	۳/۹۸ $\pm$ ۰/۴۶
کاتالاز (CAT) **	۱۵/۶۵ $\pm$ ۱	۱۷/۰۸ $\pm$ ۱/۶۴	۲۱/۳۶ $\pm$ ۳/۲۰
گلو تاتیون پراکسیداز (GPX) **	۳۱/۴۶ $\pm$ ۲/۱۳	۳۵/۵۵ $\pm$ ۲/۵۸	۴۴/۲۱ $\pm$ ۵/۰۵

* داده ها بر حسب $\mu\text{mol/mg.p}$ گزارش شده است.

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

جدول ۳. اطلاعات آماره ها و میانگین $\pm$ انحراف استاندارد متغیرها نسبت به حالت استراحتی

متغیرها	انواع گرم کردن				آماره ها
	گرم کردن با شدت کم	گرم کردن با شدت زیاد	بدون گرم کردن	F	
تغییرات مالون دی آلدئید	۰/۲۲ $\pm$ ۱/۵۷	۰/۵۴ $\pm$ ۲/۰۱	۰/۳۴ $\pm$ ۱/۶۳	۷/۲۲	†۰/۰۱۴
تغییرات کربونیل-پروتئین	۰/۷۸ $\pm$ ۳/۵۲	۰۱/۶۹ $\pm$ ۴/۱۵	۱/۰۳ $\pm$ ۲/۶۲	۴/۸۹	†۰/۰۳۹
تغییرات ۸-هیدروکسی-۲-دزوکسی گوانوزین	۰/۹۰ $\pm$ ۳/۱۴	۰۱/۱۱ $\pm$ ۳/۴۶	۰/۸۶ $\pm$ ۲/۴۷	۶/۰۴	†۰/۰۰۸
تغییرات SOD	۰/۱۸ $\pm$ ۰/۹۶	۰/۴۴ $\pm$ ۱/۳۱	۰/۲۰ $\pm$ ۱/۰۵	۵/۸۳	†۰/۰۲۸
تغییرات CAT	۰/۷۹ $\pm$ ۳/۳۹	۰۱/۵۴ $\pm$ ۴/۲۹	۰/۹۹ $\pm$ ۲/۶۱	۵/۴۸	†۰/۰۱۲
تغییرات GPX	۰/۹۷ $\pm$ ۷/۲۵	۰۳/۵۴ $\pm$ ۹/۲۵	۱/۲۲ $\pm$ ۶/۴۰	۶/۲۹	†۰/۰۲۰

† در سطح ۰/۰۵ معنی دار می باشد.

a با گرم کردن با شدت کم تفاوت معنی داری داشت.

b با گرم کردن با شدت زیاد تفاوت معنی داری داشت.

c با بدون گرم کردن تفاوت معنی داری داشت.

بحث و بررسی

هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر گرم کردن با دو شدت متفاوت بر میزان پلاسمایی آنزیم های ضد اکسایشی و شاخص های تخریب لیپیدی، پروتئینی و DNA بعد از فعالیت شدید در دانشجویان غیرورزشکار بود. از آنجاکه پژوهشی که اثر گرم کردن را بر تخریب های اکسیداتیو و آنزیم های ضد اکسایشی به طور مستقیم بررسی کند یافته نشد. سعی می شود رابطه بین تخریب ها 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 پژوهش حاضر معنی دار بود و میانگین حالت گرم کردن با شدت کم کمتر از دو حالت دیگر بوده و میانگین حالت بدون گرم کردن کمتر از حالت گرم کردن با شدت زیاد بود. التان و همکارانش (۲۰۰۹) و مانجو آنتونی و تی. جی. جیمز (۲۰۱۰) نشان دادند که هیپوکسی باعث افزایش میزان بالای تخریب لیپیدی (مالون دی آلدئید) و میزان

TBARS^۱ می‌شود (۲۳،۲۲)، برای اینکه استرس اکسایشی در نتیجه ورزش وامانده‌ساز و شدید سطوح بالایی از تخریب لیپیدی ایجاد می‌کند و سطوح MDA افزایش می‌یابد (۳). هیپوکسی عضلانی باعث تولید رادیکال سوپراکسید و هیدروکسید می‌شود (۲۴،۵) و گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن شامل سوپراکسید، هیدروکسید و پراکسید هیدروژن می‌توانند آغازکننده و انتشاردهنده واکنش‌های تخریب اکسیداتیو لیپیدی باشند (۳). از طرفی، مارتین باچیت و همکاران (۲۰۰۹)، گئور و همکاران (۲۰۰۰) از پژوهش درباره انسان و اسب‌ها 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 (۲۶،۲۵). همچنین، اندرو. ام. جونز آ و همکاران (۲۰۰۸) و مارکو بورنلی و همکاران (۲۰۰۰) نشان داده‌اند که گرم کردن با شدت زیاد بر کسر اکسیژن (کاهش VO_2 مؤلفه آهسته پویایی اکسیژن) تأثیری ندارد (۲۷،۷). البته در پژوهش‌های اندکی نشان داده شده که بر کاهش کسر اکسیژن مؤثر است که در این نوع پژوهش‌ها پروتکل گرم کردن و شدت متفاوت بود. در پژوهش حاضر احتمالاً چون گرم کردن با شدت کم باعث کاهش کسر اکسیژن و هیپوکسی عضلانی می‌شود و این نیز سبب کاهش تولید رادیکال سوپراکسید و هیدروکسید می‌گردد، بنابراین ممکن است سبب کاهش تولید مالون دی آلدئید شده باشد. ولی در حالت گرم کردن شدید در افراد غیرورزشکار احتمالاً کسر اکسیژن کاهش نمی‌یابد، بلکه به علت افزایش مصرف اکسیژن و مصرف انرژی هوازی بیشتر، این شدت گرم کردن خود سبب تولید رادیکال‌های آزاد بیشتری می‌شود. با اینکه میانگین حالت گرم کردن با شدت کم از حالت بدون گرم کردن کمتر بود، تفاوت معنی‌دار نبود، بنابراین شاید رادیکال‌های آزاد حاصل از کسر اکسیژن خیلی زیاد نبوده است که اثر گرم کردن پررنگ‌تر شود. در این پژوهش میانگین تغییرات کربونیل-پروتئین و ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین نسبت به حالت استراحتی در هر دو حالت گرم کردن بالاتر از حالت بدون گرم کردن بود. برای اینکه تخریب پروتئین‌ها به وسیله اکسیداسیون مستقیم آمینو اسیدهای خاص یا گستگی ساختار پروتئین‌ها در نتیجه اختلال در فعالیت بیولوژیکی یا تغییر در ساختارهای دوم و سوم پروتئینی رخ می‌دهد و پروتئین‌ها می‌توانند توسط گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن مشتق شده از غشا یا تولید شده به وسیله مراحل آبی مثل نیتريد اکساید، رادیکال هیدروکسیل یا پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آلکوکسی یا پراکسی و رادیکال‌هایی با مرکزیت کربنی هدف حمله قرار بگیرد و تخریب شوند (۲۸). همچنین، تخریب DNA در اثر حمله رادیکال‌های هیدروکسیل روی می‌دهد (۲۹). چنان‌که بکتیک اورسکاوچ و همکاران (۲۰۱۱) درباره بیماران نشان دادند که هیپوکسی باعث تغییر معنی‌داری در میزان ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین نمی‌شود (۳۰)، بنابراین چون رادیکال‌های آزادی که باعث تولید کربونیل-پروتئین و ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین می‌شوند رادیکال‌های تولیدی از طریق کسر اکسیژن متفاوت‌اند. بنابراین، ممکن است گرم کردن بر رادیکال‌های تولیدکننده این تخریب‌ها مانند هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن تأثیر نداشته باشد بلکه خود نیز سبب تولید این نوع رادیکال‌ها شده باشد. برای اینکه در هر دو حالت گرم کردن شش دقیقه فعالیت به عنوان گرم کردن بیشتر از حالت بدون

1. Thiobarbituric acid

گرم کردن داشتند و شاید مصرف اکسیژن و انرژی زیاد در این شش دقیقه باعث افزایش تولید این نوع تخریب‌ها در گرم کردن شده باشد. همچنین، همانند مالون دی آلدئید در گرم کردن با شدت زیاد، احتمالاً کسر اکسیژن کاهش نیافته است و باعث تولید تخریب بیشتری حتی از گرم کردن با شدت کم شده است.

در پژوهش حاضر میانگین تغییرات سوپراکسید دیسموتاز (SOD) نسبت به حالت استراحتی، در حالت گرم کردن با شدت کم پایین‌تر از حالت گرم کردن با شدت زیاد و بدون گرم کردن بود و حالت بدون گرم کردن نیز پایین‌تر از گرم کردن با شدت زیاد بود. آنزیم‌های ضد اکسایشی به صورت انتخابی در یک جلسه ورزشی با فعالیت شدید و بسته به استرس اکسایشی تحمیلی به بافت‌ها علاوه بر سایر سیستم‌های ضد اکسایشی بدن فعال می‌شوند. بنابراین آنزیم‌های ضد اکسایشی SOD، GPX و CAT اولین سد دفاعی بدن در برابر گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن هنگام فعالیت‌های ورزشی هستند. همچنین، یافته‌های بیشتر پژوهش‌ها حاکی از آن است که فعالیت این آنزیم‌ها در پاسخ به فعالیت‌های ورزشی در بدن انسان تغییر می‌کنند (۳۱). مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که ورزش شدید میزان SOD را در بدن بالا می‌برد. به گونه‌ای که پولسون و همکاران (۱۹۹۹) افزایش در فعالیت SOD را به دنبال چهار هفته تمرین استقامتی در مقایسه با گروه کنترل نشان داده‌اند. بیشتر پژوهش‌ها افزایش در فعالیت SOD را در نتیجه تمرین‌های ورزشی نشان داده‌اند که این افزایش احتمالاً ناشی از افزایش تولید رادیکال‌های سوپراکسید ناشی از فعالیت ورزشی است (۱۴). فهم سازوکارهای مؤثر در افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی به صورت مقوله‌ای بحث‌برانگیز باقی مانده است. یافته‌ها نشان می‌دهد کاهش در سطوح mRNA آنزیم‌های ضد اکسایشی با افزایش میزان SOD و GPX همراه بوده و مشخص شده است که تمرین‌های ورزشی ممکن است سبب تعدیل پس ترجمه‌ای برای این آنزیم‌ها شود. همچنین مشاهده شده است که ورزش شدید می‌تواند به صورت خاصی آنزیم‌های ضد اکسایشی را بدون ساخت پروتئین‌های جدید فعال کند، که این ممکن است ناشی از ساخت و ذخیره آنزیم‌های ضد اکسایشی به صورت نوعی سازگاری با فعالیت‌های ورزشی در سلول‌های بدن برای رویارویی با استرس اکسیداتیو پیش رو باشد. یکی از مسیرهای مهم درگیری که توسط ROS تحریک می‌شود، مسیر سیگنالی NF- κ B است که اخیراً نشان داده شده است مسیر سیگنالی NF- κ B در فعالیت شدید در عضلات اسکلتی رت‌ها سبب افزایش بیان MnSOD و آنزیم‌های درگیر در دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود. همچنین با توجه به پژوهش‌ها به نظر می‌رسد سطوح بالای آنزیم‌های ضد اکسایشی نشان‌دهنده بالاتر بودن قدرت دفاعی بدن در برابر تخریب اکسایشی نیست، بلکه بیشتر مبین میزان خطر بالقوه‌ای است که ساختارهای مختلف بدن را تهدید می‌کند (۳۳). شاید سازوکار افزایش تولید SOD در هیپوکسی فاکتورهای هیپوگزانتین و گزانتین در شرایط هیپوکسی - اکسیژن‌گیری مجدد باشد (۲۲). التان و همکاران (۲۰۰۹) و راوی کیران (۲۰۰۶) افزایش تولید SOD را در عضلات اسکلتی، قلبی و عضلات ریه در شرایط هیپوکسی مشاهده کرده‌اند (۲۲، ۳۴). با توجه به مطالب بالا و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید و هیدروکسید در ورزش و کسر اکسیژن (هیپوکسی عضلانی)، به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر میانگین اندک تغییرات SOD در گرم کردن با شدت کم به دلیل

تأثیر گرم کردن بر کاهش تولید رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید و هیدروکسید بوده است که رادیکال آزاد سوپر اکسید کم باعث تولید SOD کمتری شده است. ولی در گرم کردن با شدت زیاد چون شدت گرم کردن بالا بوده نه تنها باعث کاهش کسر اکسیژن و رادیکال آزاد سوپر اکسید نشده، بلکه باعث تولید رادیکال آزاد زیاد و در نتیجه SOD بیشتری شده است.

در پژوهش حاضر میانگین تغییرات CAT و GPX نسبت به حالت استراحت در گرم کردن با شدت زیاد بیشتر از هر دو حالت دیگر و در گرم کردن با شدت کم نیز بیشتر از بدون گرم کردن بود. نقش اصلی کاتالاز دفع پراکسید هیدروژن تولید شده در پراکسیزوم‌ها است. وقتی غلظت پراکسید هیدروژن بالا می‌رود نقش کاتالیکی کاتالاز برجسته می‌شود که در نتیجه آن، پراکسید هیدروژن به اکسیژن و آب تجزیه می‌شود. 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. هرچند گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز برای سوبسترای پراکسید هیدروژن همپوشانی دارند، گلوکاتایون پراکسیداز (دست کم در پستانداران) نسبت به کاتالاز میل ترکیبی بیشتری با پراکسید هیدروژن در غلظت‌های پایین دارد (۳۶،۳۵). همان‌طور که قبلاً بیان کردیم، کسر اکسیژن باعث تولید رادیکال‌های سوپر اکسید و هیدروکسید می‌شود و گرم کردن با کاهش کسر اکسیژن به کاهش تولید این نوع رادیکال‌های آزاد می‌انجامد، درحالی‌که بر میزان پراکسید هیدروژن و هیدرو پراکسید آلی تأثیر چندانی ندارد تا سبب کاهش آن و در نتیجه کاهش CAT و GPX شود. از طرفی، هردو گرم کردن چون شش دقیقه بیشتر از بدون گرم کردن فعالیت کردند و مصرف اکسیژن و انرژی بیشتری نسبت به حالت بدون گرم کردن داشتند، ممکن است میزان پراکسید هیدروژن و هیدرو پراکسید آلی در هر دو شدت گرم کردن افزایش یافته باشد. همان‌طور که در بالا اشاره شد ورزش شدید می‌تواند با تولید رادیکال‌های آزاد به صورت خاصی آنزیم‌های ضد اکسایشی را بدون ساخت پروتئین‌های جدید فعال کند. بنابراین احتمال دارد با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در شش دقیقه گرم کردن میزان CAT و GPX نیز متناسب با آن افزایش یافته باشد. همچنین به نظر می‌رسد در گرم کردن با شدت زیاد، شدت گرم کردن برای افراد غیر ورزشکار زیاد بوده است و با افزایش اکسیژن مصرفی و انرژی نسبت به دو حالت دیگر باعث تولید رادیکال‌های آزاد بیشتر و متناسب با آن باعث تولید CAT و GPX بیشتری نسبت به گرم کردن با شدت کم شده باشد.

نتیجه‌گیری

براساس یافته‌های پژوهش حاضر گرم کردن با شدت کم می‌تواند باعث کاهش تخریب لیپیدی شود، ولی باعث افزایش تخریب پروتئینی و DNA شده است. گرم کردن با شدت زیاد باعث افزایش هر سه نوع تخریب‌های لیپیدی، پروتئینی و DNA بعد از فعالیت شدید شده است. 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 نشان‌دهنده کاهش تخریب لیپیدی بوده است، ولی دیگر آنزیم‌ها با افزایش گونه‌های دیگر رادیکال‌های آزاد و تخریب‌ها افزایش یافته‌اند. بنابراین از لحاظ تخریب‌های اکسیداتیو استفاده از گرم کردن با شدت

کم بر تخریب لیپیدی که بیشتر در ورزش رخ می‌دهد مؤثر است. ولی بر تخریب‌های دیگر تأثیر چندانی ندارد و نیز استفاده از گرم کردن با شدت کم در افراد غیرورزشکار بیشتر از گرم کردن با شدت زیاد بود. در نهایت پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی علاوه بر بررسی شدت، مدت زمان گرم کردن نیز به صورت تعدیلی به همراه شدت گرم کردن با استفاده از اندازه‌گیری میزان اکسیژن مصرفی و انرژی مصرفی لحاظ شود تا زمان گرم کردن عامل افزایش تخریب در گرم کردن با شدت بالا نسبت به شدت‌های پایین نباشد.

منابع و مآخذ

1. Boveris, A., Chance, B (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J*, 134: 707-716.
2. Cooper, C. E., Vollaard, N. B., Choueiri, T., Wilson, M. T (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochemical soc trans*, 30(2): 280-284.
3. Jackson, M. J., Khassaf, M., Vasilaki, A., Mcardle, F (2005). Vitamin E and the oxidative stress of exercise. *Ann NY Scad sci*, 1031:158-165.
4. Dornelles, C., Oliveire, A. R (2004). Oxygen free radical exercise: mechanisms of synthesis and adaption training. *Rev med esporte bras*, VOL. 10. NO4, PP: 308-313.
5. MC cord, J.M (1985). Oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N engel j med*, 312:159-163.
6. Antony, M., James, T (2010). A study on the effect of isobaric hypoxia on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in rat brain. *IJPSR*, 1(9): 67-75.
7. Burnley, M., Jones A. M., Carter, H., Doust, J. H (2000). Effects of prior heavy exercise on phase II pulmonary oxygen uptake kinetics during heavy exercise. *J Appl Physiol*, 89: 1387-1396.
8. Burnley, M., Doust, J. H., Jones, A. M (2006). Time required for the restoration of normal heavy exercise VO₂ kinetics following prior heavy exercise. *J Appl Physiol*, 101(5): 1320-1327.
9. Gerbino, A., Ward, S. A., Whipp, B. J (1996). Effects of prior exercise on pulmonary gas-exchange kinetics during high-intensity exercise in humans. *J Apply Physiol*, 80: 99-107.
10. Burnley, M., Jones, A. M (2007). Oxygen uptake kinetics as a determinant of sports performance. *Eur J Sport Sci*, 7(2): 63-79.
11. Nicole, D. P., Kowalchuk, J. M., Peterson, D. H (2005). Effect of prior heavy- intensity exercise during single leg knee-extension on vo₂ kinetics and limb blood flow. *J appl physiol*, 99: 1462-1470.
12. Nazarali, P., Rezayi, N (2010). Effect of warm up intensity below the lactate threshold on vo₂ slow component during submaximal exercise in elite futsal players. *Middle-east J sci Res*, 5(4):252-255.
13. Mandengue, H. S., Miladi, I., Bishop, D., Temfemo, A., Cisse, F., Ahmaidi, S (2009). Methodological approach for determining optimal active warm-up intensity: predictive equations. *Science & Sports*, 24: 9-14.
14. Robertson, A., Watt, J.M., Galloway, S.D.R.(2004). Intensity cycling exercise effects of leg massage on recovery from high. *Br J Sports Med*, 38:173-176.
15. Bailey, S. J., Vanhatalo, A., Wilkerson, D. P., DiMenna, F. J., Jones, A. M (2009). Optimizing the "priming" effect: influence of prior exercise intensity and recovery duration on O₂ uptake kinetics and severe-intensity exercise tolerance. *J App Physiol*, 107(6): 1743-1756.
16. Steven, H. Y., Joseph A.K., Sidney, M.H (1978). Lipid peroxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondialdehyde Thiobarbituric acid adduct. *Clin Chem*, 32: 214-220.
17. Reznick, A. Z., Packer, L (1994). Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. In: Packer, L. (Ed), *Methods in Enzymology*. Academic press, San Diego CA, Vol 233: 363-375.
18. Irie, M., Asami, S., Nagata, S., Ikeda, M., Miyata, M., Kasai, H (2001). Psychosocial factors as a potential trigger of oxidative DNA damage in human leukocytes. *Jpn J Cancer Res*, 92(3): 367-376.
19. Flohe, L., Otting, F (1984). Superoxide dismutase assay. *Methods in Enzymology*, 105: 93-104.
20. Abei, H (1984). Catalase in vitro. *Methods enzymol*, 105:121-126.
21. Paglia, D.E., Valentine, W. N (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, 70:158-165.
22. Altan, M., Atukeren, P., Mengi, M., Metin, M., Cakar, L., Gumustas, K (2009). Influence of intermittent hypobaric exposure on SOD and TBARS levels in trained rats. *Chin J Physiol*, 52(2): 106-292.
23. Antony, M., James, T (2010). A study on the effect of isobaric hypoxia on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in rat brain. *IJPSR*, 1(9): 67-75.
24. Clanton, T. L (2007). Hypoxia-induced reactive oxygen species formation in skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 102: 2379-2388.
25. Buchheit, M., Laursen, P. B., Ahmaidi, S (2009). Effect of prior exercise on pulmonary O₂ uptake and estimated muscle capillary blood flow kinetics during moderate-intensity field running in men. *J Appl Physiol*, 107(2): 460-470.
26. Geor, R. J., McCutcheon, L. J., Hinchcliff, K. W (2000). Effects of warm-up intensity on kinetics of oxygen consumption and carbon dioxide production during high-intensity exercise in horses. *Amg Vet Res*, 61(6):638-645.
27. Jones, A. M., DiMenna, F., Lothian, F., Taylor, E., Garland, S.W., Hayes, P. R., Thompson, K.G (2008). 'Priming' exercise and O₂ uptake kinetics during treadmill running. *Respir Physiol Neurobiol*, 161: 182-188.
28. Tirosh, O., Reznick, A. Z (2000). Chemical bases and biology relevance of protein oxidation and antioxidant stress. *J Sport Sci Med*. 89-114.
29. Sasson, M., Stiller, M (1993). Free radical and oxidant balance. *J Clin Biochem*, 26 (5):35-135.
30. Beketic-Oreskovic, L., Ozretic, P., Rabbani, Z. N., Jackson, I. L., Sarcevic, B., Levanat, S., Maric, P., Babic, I., Vujaskovic, Z (2011). Prognostic significance of carbonic anhydrase IX (CA-IX), endoglin (CD105) and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in breast cancer patients. *Pathol Oncol Res*, 17(3): 593-603.

31. Pansarasa, F., Bertorelli, O., Valle, L., Della, G (1997). 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*, 37:235-239.
32. Poulsen, H., Weimann, A., Loft, S (1999). Methods to detect DNA damage by free radical :relation to exercise. *J proce of nutrition socity*, 58:107-114.
33. Ji, L. L., Gomez-Cabrera, M.C., Steinhafel, N., Vina, J (2004). Acute exercise activates nuclear factor (NF)-κB signaling pathway in rat skeletal muscle. *FASEB J*, 18(13): 1499-1506.
34. Ravi-Kiran, T., Subramanyam, M. V., Prathima, S., Asha, D. S (2006). Blood lipid profile and myocardial superoxide dismutase in swim-trained young and middle-aged rats: comparison between left and right ventricular adaptations to oxidative stress. *J Comp Physiol*, 176: 749-762.
۳۵. ابراهیمی، زهرا. (۱۳۸۸). "بررسی اثر تمرین استقامتی، بر میزان آنزیمهای آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) بافت کبدی موشهای نر ویستار". پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه شهید بهشتی.
۳۶. مک آردل، ویلیام دی، کوچ، فرانک ای، کوچ، ویکتور ال. (۱۳۸۳). *فیزیولوژی ورزش، ترجمه اصغر خالدران، انتشارات سمت، تهران*.