

علوم زیستی ورزشی - پاییز ۱۳۹۰
شماره ۱۰ - ص ص: ۹۴ - ۷۷
تاریخ دریافت: ۹۰ / ۰۲ / ۱۰
تاریخ تصویب: ۹۰ / ۰۵ / ۳۰

بررسی تغییرات شاخص های التهابی و آسیب عضلانی در موش های نر نژاد سوری بعد از هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل امگا ۳

۱. حمید علیزاده - ۲. فرهاد دریانوش^۱ - ۳. داوود مهربانی - ۴. مریم کوشکی جهرمی

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی دانشگاه شیراز، ۲. استادیار دانشگاه شیراز، ۳. استادیار مرکز تحقیقات سلول های بنیادی و فناوری ترانس ژنتیک و گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ۴. استادیار دانشگاه شیراز

چکیده

یکی از وظایف مهم سیستم ایمنی، تولید اجزای محلول یا سلولی است که بدن را در برابر هرگونه التهابی حفاظت می کند. هدف از این تحقیق، بررسی تغییرات سطوح پلاسمایی اینترلوکین-۱۷ (IL-17)، پروتئین واکنشگر سی (CRP) و کراتین فسفو کیناز (CPK) در موش های نر نژاد سوری بعد از هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل امگا ۳ است. به این منظور ۱۷۰ سر موش نر از نژاد سوری با میانگین سنی ۲ ماه و میانگین وزنی 35 ± 1 گرم انتخاب شدند. در ابتدا ۱۰ سر از موش ها به منظور تعیین مقادیر پیش آزمون متغیرها کشته شده و بقیه موش ها به صورت تصادفی به چهار گروه کنترل (۴۰ سر)، مکمل (۴۰ سر)، تمرین (۴۰ سر) و مکمل - تمرین (۴۰ سر) تقسیم شدند. هر روز به مدت ۸ هفته مقدار ۰/۲ میلی لیتر (0.06 ml/g وزن بدن) روغن ماهی (امگا-۳) که حاوی EPA و DHA بود، بوسیله گاواژ به موش های دو گروه مکمل و مکمل - تمرین خورانده شد. برنامه تمرینی حیوانات به مدت ۸ هفته و پنج جلسه در هفته روی تردمیل حیوانات انجام گرفت. در پایان هشت هفته، تفاوت معناداری در سطوح پلاسمایی متغیرهای IL-17، CRP و CPK در گروه های کنترل، مکمل، تمرین و تمرین - مکمل مشاهده شد ($p < 0.05$) و مشخص شد مقدار IL-17 در گروه کنترل با دیگر گروه ها، گروه تمرینی با گروه مکمل و گروه مکمل با گروه مکمل - تمرین تفاوت معناداری دارند. در نهایت نتایج پژوهش نشان داد فعالیت ورزشی سطوح عوامل التهابی را افزایش می دهد، اما با مصرف مکمل امگا ۳، میزان این عوامل التهابی تغییر پیدا می کند، هر چند تاثیر مصرف این مکمل بر این عوامل متفاوت بود.

واژه های کلیدی

کلید واژه: EPA، DHA، التهاب، اینترلوکین-۱۷، CPK، CRP، ورزش هوازی.

مقدمه

اسیدهای چرب امگا ۳ که از طریق غذا مصرف می‌شود و مورد استفاده قرار می‌گیرد، به سه گروه آلفا لینولنیک اسید (ALA)^۱، دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA)^۲ و ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA)^۳ تقسیم می‌شود. به نظر می‌رسد اسید چرب امگا ۳ تأثیر بیولوژیکی خود را از طریق تغییر در محیط غشای لیپید یا فعال کردن مستقیم سوبستراها به منظور سوخت و ساز انجام می‌دهد. براساس نتایج چندین تحقیق، افزایش مصرف این اسیدهای چرب ممکن است به افزایش مقاومت بدن در برابر استرس اکسایشی منجر شود (۱، ۱۸). EPA، یک اسید چرب غیراشباع است که سوخت و ساز اسید آراشیدونیک (امگا ۶) را مهار می‌کند و از این طریق تولید سری ۴ لکوترین‌های التهابی، سری ۲ پروستاگلاندین‌های میانجی و همچنین تولید سایتوکین‌های التهابی در سلول‌ها را کاهش می‌دهد. محققان اعتقاد دارند DHA از طریق بیان ژن‌های خاص، پاسخ‌های سلولی به سایتوکین‌های التهابی را ایجاد می‌کند (۱). گاهی دیده شده ورزش همانند عفونت یا آسیب، با افزایش سایتوکین‌های التهابی و پیش‌التهابی است (۱). سایتوکین‌ها از جمله اینترلوکین-۱۷ (IL-17) اغلب به عنوان مولکول‌های پیام‌رسان بین سلولی عمل می‌کنند و بعد از اتصال به گیرنده سلول هدف، فعالیت‌های بیولوژیکی را به جریان می‌اندازند. شواهد نشان می‌دهد IL-17 را می‌توان به عنوان تقویت‌کننده گرانولوپوزیس، تجمع نوتروفیل، فعال‌سازی نوتروفیل در ریه، فضای مفصلی، سیستم عصبی مرکزی و بافت روده‌ای در نظر گرفت. IL-17، یک سایتوکین پیش‌التهابی مشتق شده از CD 4 است، اما عنوان می‌شود که در گسترش بیماری‌های التهابی، ترشح IL-6 و فعال‌سازی نوتروفیل در بافت، نقش دارد (۱۵). تولید سایتوکین‌های پیش‌التهابی برای دفاع ایمنی ضروری است، ولی تولید بیش از حد این سایتوکین‌ها ممکن است به التهاب و متعاقب آن آسیب عضله اسکلتی، ضعف و افزایش خطر عفونت شود (۲۷). به اعتقاد برخی محققان سطح پلاسمایی IL-17 ممکن است شاخص بیوشیمیایی مفیدی برای تعیین التهاب حاد تولید شده در عضلات اسکلتی باشد (۷). سایتوکین IL-17 قادر است ماکروفاژها، فیبروبلاست‌ها، ترشح سایتوکین‌های IL-1، IL-6، IL-8، ترشح پروستاگلاندین

-
- 1 -Alfa-linolenic acid
 - 2 - Docosahexaenoic acid
 - 3 - Eicosapentaenoic acid
 - 4- Acute phase proteins

E2، نیتریک اکساید، CPK و CRP را فعال کند (۲۵). از طرف دیگر، پروتئین واکنشگر سی (CRP) از پروتئین‌های فاز حاد (APP)^۴ است که در حین عفونت، التهاب و آسیب بافتی، به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (۸). اغلب از طریق کبد در پاسخ به میانجی‌های التهابی خونی ساخته و در خون ترشح می‌شود (۲۵). از بین APPها، اندازه‌گیری CRP به علت افزایش سریع آن در آغاز ضایعه بافتی و کاهش سریع آن به محض بهبودی، بهترین راه تشخیص ضایعات بافتی است (۲۷). از طرف دیگر، برخی فعالیت‌های بدنی (به‌ویژه برون‌گرا، ناگهانی و شدید) ممکن است به آسیب عضلانی منجر شود. آسیب عضلانی به‌وجود آمده در اثر ورزش، از طریق انقباض مکانیکی عضله شروع شده و سبب تولید و رهاسازی میانجی‌های التهابی مانند سایتوکین‌ها و کموکاین‌ها می‌شود که این مواد نیز به نوبه خود منجر به حرکت نوتروفیل‌ها به داخل جریان خون منجر می‌شود. نوتروفیل‌های موجود در جریان خون به بافت عضله نفوذ می‌کنند و در اثر عمل فاگوسیتوز، به عضله آسیب می‌رسانند (۲). عضله آسیب دیده نیز، مواد پروتئینی مانند کراتین فسفو کیناز (CPK) و میوگلوبین (Mb) را به داخل گردش خون آزاد می‌کند (۱۳، ۲۷). تحقیقات نشان می‌دهد ورزش موجب تغییر در بسیاری از اجزای سیستم ایمنی از جمله افزایش سطوح IL-6، IL-1 β ، TNF- α می‌شود (۲۹). دوآنگ و همکاران^۱ (۲۰۰۷) در تحقیق بر روی بیماران قلبی - عروقی، متوجه شدند، IL-17 می‌تواند CRP را مستقل از IL-6 در سلول‌های صاف عضله قلب تحریک و در عین حال IL-6 تاثیرات IL-17 را تقویت کند (۵). تاثیر شدت تمرین بر IL-17 در برخی تحقیقات به عنوان عامل مهم در نظر گرفته شده است. برای مثال در تحقیقی هلیل دوزووا و همکاران^۲ (۲۰۰۹) تاثیر دو نوع برنامه تمرینی دویدن روی تردمیل (شدید) با سرعت ۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی همراه با شیب) و سبک (بدون شیب و با ۵۰ الی ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) را بررسی کردند و دریافتند پس از هشت هفته سطح این سایتوکین در گروهی که از تمرینات شدید استفاده کرده بودند، افزایش یافت، اما در گروه دیگر تغییری مشاهده نشد (۷). گلزاری و همکاران^۳ (۲۰۱۰) در تحقیقی دریافتند اگر به مدت هشت هفته از برنامه ترکیبی (شامل گرم کردن، تمرینات کششی، تمرینات هوازی، تمرینات قدرتی و در پایان هر جلسه برنامه ریلکسیشن) استفاده شود، سطح IL-17 افزایش نمی‌یابد و حتی در برخی افراد کاهش مشاهده می‌شود و دلیل آن را پایین بودن سطح شدت تمرین دانستند (۶). محققان تاثیر مسافت دو در مسابقه ماراتن و

1 - Dong et al

2 - Duzova H et al

3 - Golzari Z et al

فوق ماراتن را بر CRP بررسی کردند و دریافتند بلافاصله بعد از مسابقه دو ماراتن، سطح این پروتئین تغییری پیدا نمی‌کند اما پس از پایان مسابقه فوق ماراتن افزایش چشمگیری اتفاق می‌افتد. این محققان بیان کردند مقدار CPK پس از پایان دو فوق ماراتن، ۳۵ برابر افزایش می‌یابد، اما بعد از پایان دو ماراتن تنها ۴ برابر افزایش پیدا می‌کند (۱۳). در مقابل در تحقیقی دیگر بیان شد پس از ۲۰ هفته فعالیت ورزشی با شدت ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی روی دوچرخه کارسنج، مقدار CRP در افراد سالم و بیماران قلبی - عروقی کاهش می‌یابد، اما در آزمودنی‌های بیمار این کاهش، چشمگیرتر است (۲۷). همچنین در تحقیقی محققان اظهار داشتند ۱۲ هفته فعالیت ورزشی شدید موجب افزایش IL-17 می‌شود اما در گروه کنترل و گروهی که فعالیت متوسط داشتند، تغییری مشاهده نشد (۷). در تحقیق حاضر محققان سه عامل التهابی را مد نظر دارند که تا حدودی جوانب مختلف التهاب را بررسی می‌کند چرا که IL-17 به عنوان سایتوکین مهم و جدید که با بسیاری از عوامل مختلف التهابی تاثیر متقابل دارد (۵، ۲۹)، CRP به عنوان پروتئین واکنشگر و CPK به عنوان شاخص مهم برای عضلات است و افزون بر این، تحقیقی که به طور همزمان تاثیر فعالیت ورزشی و مصرف مکمل امگا ۳ بر سطوح IL-17، CPK و CRP را بررسی کرده باشد، یافت نشد. از طرف دیگر، با توجه به تاثیر ضدالتهابی (احتمالاً) امگا ۳، در تحقیق حاضر محققان می‌خواهند بدانند در صورت احتمال التهاب به دنبال فعالیت ورزشی، مصرف مکمل می‌تواند مانع التهاب یا حداقل کاهش سطح این التهاب شود یا خیر؟ بنابراین در این پژوهش محققان برآند تا تاثیر مصرف مکمل امگا ۳ به دنبال هشت هفته فعالیت شدید ورزشی بر سطوح IL-17، CRP و CPK را بررسی کنند و بدانند آیا تفاوت معناداری بین گروه‌های مختلف وجود دارد یا خیر؟

روش تحقیق

تحقیق مورد نظر به روش تجربی انجام گرفت. ۱۷۰ سر موش نر از نژاد سوری با میانگین سنی ۲ ماه و میانگین وزنی 35 ± 1 گرم انتخاب شدند. در ابتدا ۱۰ سر به منظور تعیین مقادیر پیش‌آزمون متغیرها به روش اخلاقی (ابتدا با استفاده از مخلوط کتامین، (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، درون صفاقی و زایلازین، ۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، درون صفاقی بیهوش شدند، سپس خونگیری از ناحیه دم صورت گرفت)

کشته شدند و بقیه موش‌ها به صورت تصادفی به چهار گروه کنترل (۴۰ سر)، مکمل (۴۰ سر)، تمرین (۴۰ سر) و مکمل - تمرین (۴۰ سر) تقسیم شدند. این تحقیق براساس اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH-Publication) انجام گرفت. موش‌ها در قفس‌های مجزا (هر قفس ۶ سر)، دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. حیوانات دسترسی آزاد به آب و بسته‌های غذایی داشتند. ورزش شدید هوازی با استفاده از تردمیل حیوانات انجام گرفت که به هفت موش اجازه دویدن همزمان داده می‌شد (هفت خط). پروتکل تمرینی شامل هشت هفته و هر هفته پنج جلسه دویدن روی تردمیل بود. گروه‌های تمرین و تمرین - مکمل برای آشنایی با تردمیل به مدت یک هفته، سرعت ۵ متر بر دقیقه، شیب صفر درجه و مدت زمان ۱۰ دقیقه شروع به فعالیت کردند و در پایان دوره آشنایی با تردمیل سرعت به ۷ متر بر دقیقه، شیب به ۵ درجه و مدت زمان به ۱۵ دقیقه افزایش یافت. برنامه تمرینی شامل سرعت، شیب و مدت زمان دویدن روی تردمیل بود. برنامه از نوع شدید هوازی بود (۲۲) که در جدول ۱ آمده است.

هر روز به مدت ۸ هفته مقدار 0.2 میلی‌لیتر (0.06 ml/g وزن بدن) روغن ماهی (امگا-۳) که حاوی DHA و EPA بود، بوسیله گاوژ به موش‌های دو گروه مکمل و مکمل - تمرین خوراندند (۳). به منظور بررسی دقیق‌تر تغییرات متغیرهای وابسته در طول تحقیق (هر ۱۴ روز یک بار) در پنج نوبت این متغیرها بررسی شد. در هر نوبت (قبل از شروع تمرینات، هر دو هفته یک بار و پایان تمرینات (پنج نوبت)) به منظور اندازه‌گیری سطوح IL-17، CRP و CPK از ۱۰ سر موش هر گروه، نمونه خونی گرفته شد. برای جلوگیری از تغییر ترکیبات خون، سرم‌گیری با دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه در محل انجام آزمون، صورت گرفت و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد. اندازه‌گیری IL-17 با استفاده از کیت ایزا-IL-17 MOUSE-KIT (ID Labs inc) ساخت مجارستان، CRP با حساسیت زیاد وسط کیت (HS-CRP-KIT-Neflometry) ساخت انگلستان و CPK با استفاده از کیت (CPK-KIT-DG-147-UV) صورت گرفت. به روش آزمایشگاهی ایزا سطوح IL-17 و CRP اندازه‌گیری و در دستگاه ایزا ریدر ساخت کمپانی داینکس (Dynex) آمریکا مدل Opsys MR خوانده شد. مقدار CPK با روش اتو آنالایزر با دستگاه اتوآنالایزر شیمی، هیتاچی (Hitachi 717)، ساخت کمپانی روشه (Roche) آلمان و به صورت تمام خودکار اندازه‌گیری و تفسیر شد.

روش آماری

داده‌ها پس از جمع‌آوری، از طریق نرم‌افزار SPSS.16 تجزیه و تحلیل شد. برای بررسی سؤالات تحقیق از روش تحلیل واریانس تعاملی (ANOVA) و در صورت معناداری به دلیل مساوی بودن تعداد موش‌ها در هر گروه، از آزمون تعقیبی توکی بهره گرفته شد. سطح معناداری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر $\alpha < 0.05$ است. مقادیر متغیرها به صورت $M \pm SE$ بیان شده است.

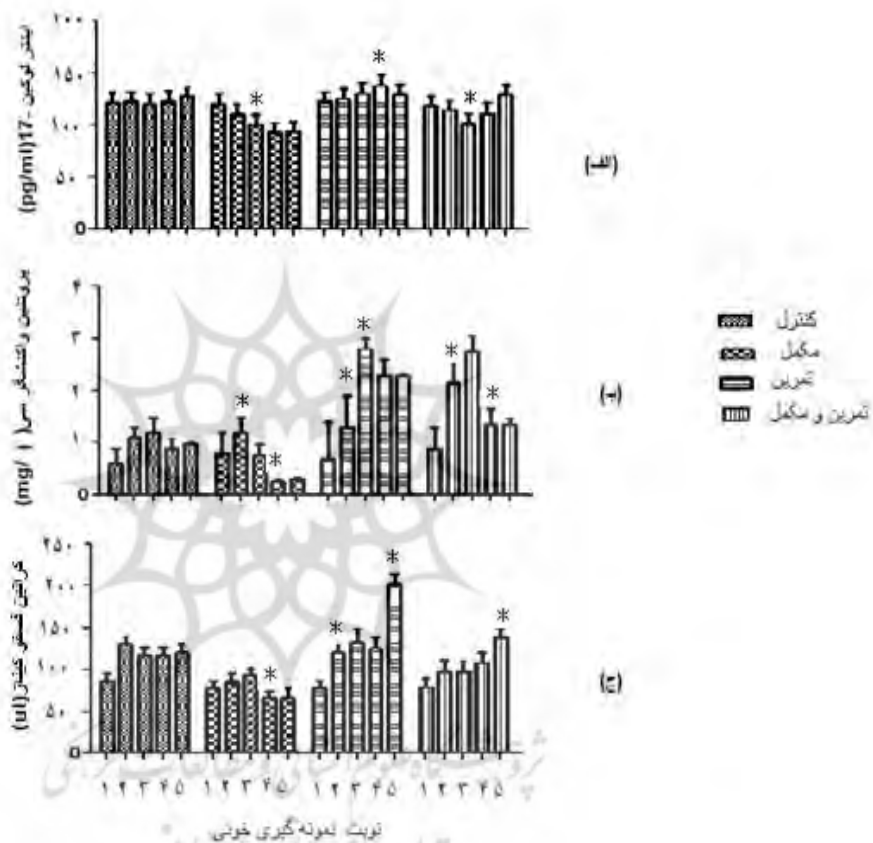
نتایج و یافته‌های تحقیق

در ابتدا مشخص شد در بین گروه‌ها تفاوت معناداری در پیش‌آزمون CPK، IL-17 و CRP وجود ندارد و محققان با توجه به این نکته، تغییرات را در طول روند تحقیق بررسی کردند. در پایان پژوهش، نتایج نشان داد تفاوت معناداری در سطح اینترلوکین-17 در بین گروه‌ها وجود دارد ($p < 0.05$). با استفاده از آزمون تعقیبی مشخص شد گروه کنترل با دیگر گروه‌ها، گروه تمرینی با گروه مکمل و گروه مکمل با گروه تمرین - تفاوت معناداری دارند و به طور متوسط بالاترین میانگین پنج نوبت در گروه تمرینی و کمترین مقدار در گروه مکمل بود. بیشترین میزان IL-17 در نوبت چهارم متعلق به گروه تمرین (۱۳۸ پیکوگرم در میلی‌لیتر) و کمترین مقدار مربوط به گروه مکمل در نوبت چهارم (۷۶ پیکوگرم در میلی‌لیتر) بود (شکل ۱، الف یا جدول ۲). همچنین مشخص شد بین گروه‌ها در میزان CRP تفاوت معناداری وجود دارد ($p < 0.05$). آزمون تعقیبی نشان داد گروه تمرین و گروه مکمل - تمرین با گروه‌های مکمل و کنترل تفاوت معناداری دارند و بطور متوسط بالاترین میانگین پنج نوبت در گروه تمرینی و گروه مکمل - تمرین و کمترین مقدار در گروه مکمل بود. بیشترین مقدار CRP متعلق به گروه تمرینی و گروه مکمل - تمرین در نوبت سوم (به ترتیب ۲/۵ و ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر) و کمترین مقدار متعلق به گروه مکمل در نوبت چهارم و پنجم (۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) است (شکل ۱، ب یا جدول ۲). در نهایت مشخص شد تفاوت معناداری بین گروه‌ها در تغییرات سطح CPK وجود دارد ($p < 0.05$). آزمون تعقیبی نشان داد این تفاوت معنادار مربوط به گروه مکمل با دیگر گروه‌ها و گروه تمرینی با گروه مکمل - تمرین است و مشابه با دو متغیر دیگر به طور متوسط بالاترین میانگین پنج نوبت در گروه تمرینی و کمترین مقدار در گروه

مکمل بود. بیشترین مقدار CPK به دست آمده متعلق به گروه تمرین در نوبت پنجم (۲۰۳ یونیت در واحد) و کمترین مقدار متعلق به گروه مکمل در نوبت چهارم (۵۷/۷۵ یونیت در واحد) بود (شکل ۱، ج یا جدول ۲). همچنین تفاوت معناداری بین تغییرات CRP و CPK مشاهده شد ($T=0/71$).

جدول ۱- برنامه تمرینی (سرعت، شیب و زمان)

روزها	متغیرها	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
دوشنبه	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۲	۱۳	۱۷	۱۹	۲۲	۲۷
	شیب (درجه)	۵	۱۰	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۸	۱۸
	زمان (دقیقه)	۱۵	۱۵	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
سه شنبه	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۲	۱۳	۱۷	۱۹	۲۲	۲۷
	شیب (درجه)	۵	۱۳	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۸	۱۸
	زمان (دقیقه)	۱۵	۱۵	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
چهارشنبه	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۲	۱۲	۱۳	۱۷	۱۹	۲۲	۲۷
	شیب (درجه)	۸	۱۳	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۸	۱۸
	زمان (دقیقه)	۱۵	۱۵	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
پنج شنبه	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۲	۱۲	۱۳	۱۷	۱۹	۲۲	۲۷
	شیب (درجه)	۸	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۸	۱۸
	زمان (دقیقه)	۱۵	۱۵	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
جمعه	سرعت (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۲	۱۳	۱۷	۱۹	۲۲	۲۷	۲۷
	شیب (درجه)	۱۰	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۸	۱۸
	زمان (دقیقه)	۱۵	۴۵	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰



شکل ۱_ مقایسه غلظت پنج نوبت الف) اینترلوکین-۱۷ (IL-17) پیکوگرم در میلی لیتر، ب) پروتئین واکنشگر

سی (CRP، میلی گرم در لیتر) و ج) کراتین فسفو کیناز (CPK، یونیت لیتر) در گروه‌ها

* ستاره‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با نوبت قبلی است (P < 0.05).

جدول ۲_ مقایسه غلظت پنج نوبت اینترلوکین-۱۷ (IL-17) پیکوگرم در میلی لیتر، پروتئین وانسگرسی

(CRP، میلی گرم در لیتر) و کراتین فسفوکیناز (CPK، یولیت لیتر) در گروه‌ها

متغیرها	گروه کنترل					گروه مکمل					گروه تمرین					گروه تمرین - مکمل				
	نوبت اول	نوبت دوم	نوبت سوم	نوبت چهارم	نوبت پنجم	نوبت اول	نوبت دوم	نوبت سوم	نوبت چهارم	نوبت پنجم	نوبت اول	نوبت دوم	نوبت سوم	نوبت چهارم	نوبت پنجم	نوبت اول	نوبت دوم	نوبت سوم	نوبت چهارم	نوبت پنجم
IL-17	۱۱۷	۱۱۹	۱۱۸	۱۱۹	۱۲۱	۱۱۶	۱۱۴	۹۲	۷۶	۷۷	۱۲۰	۱۲۶	۱۳۲	۱۳۸	۱۳۰	۱۱۷	۱۱۵	۱۰۵	۱۱۴	۱۳۰
								(p=۰/۰۳)						(p=۰/۰۳)					(p=۰/۰۳)	
CRP	-/۶	۱/۱	۱/۳	-/۹	۱	-/۸	۱/۲	-/۹	-/۲۵	-/۲۵	-/۹	-/۹	۱/۳	۲/۵	۲/۱	۲/۱	۲/۱	۲/۱	۱/۴	۱/۴
								(p=۰/۰۳)						(P=۰/۰۳)					(p=۰/۰۳)	(p=۰/۰۳)
CPK	۸۶	۱۳۵	۱۲۱	۱۲۲	۱۳۳	۸۱	۸۶	۹۸	۵۷/۷۵	۵۸	۸۱	۱۲۳	۱۴۰	۱۲۷	۲۰۳	۸۴	۱۲۲	۱۲۰	۱۲۳	۱۴۲
								(p=۰/۰۳)						(P=۰/۰۳)					(p=۰/۰۳)	

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد فعالیت ورزشی شدید هوازی موجب ایجاد التهاب می‌شود، اما با مصرف مکمل EPA و DHA (امگا ۳)، به دلیل جلوگیری از کاهش التهاب سطوح پلاسمایی IL-17، CRP و CPK تغییر پیدا می‌کند، هرچند درصد این تغییرات متفاوت بود. این متغیرهای وابسته، در تنظیم پاسخ‌های ایمنی و التهاب درگیرند (۱۲). تاثیر شدت تمرین بر IL-17 در تحقیقات به عنوان عامل مهم در نظر گرفته شده است و برخی تحقیقات بیان می‌کنند با افزایش شدت تمرین سطح این سایتوکین افزایش می‌یابد (۷) که تقریباً در پژوهش حاضر نیز با طی شدن روند تحقیق (افزایش در سرعت، شیب و زمان تمرین) این افزایش مشاهده می‌شود (شکل ۱، الف یا جدول ۲). در مقابل گلزاری و همکاران^۱ (۲۰۱۰) در تحقیقی دریافتند اگر به مدت

هشت هفته از برنامه ترکیبی (شامل گرم کردن، تمرینات کششی، تمرینات هوازی، تمرینات قدرتی و در پایان هر جلسه برنامه ریلکسیشن) استفاده شود، سطح IL-17 افزایش نمی‌یابد و حتی در برخی افراد کاهش مشاهده می‌شود و دلیل آن را پایین بودن سطح شدت تمرین دانستند، چرا که این محققان تقریباً ۸۰ درصد از زمان جلسه تمرینی خود را با تمرینات کم‌شدت برنامه‌ریزی کرده بودند (۶). در نمودار ۱- الف یا جدول ۲ مشاهده می‌شود سطح IL-17 در گروه تمرینی نسبت به دیگر گروه‌ها بالاتر است و این افزایش تقریباً تا نوبت چهارم خونگیری ادامه دارد (۱۲۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر در نوبت اول به ۱۳۸ پیکوگرم در میلی‌لیتر در نوبت چهارم)، اما در نوبت پنجم کاهش غیرمعناداری پیدا کرده است (۱۳۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر) و شاید بتوان این نتیجه را به سازگاری موش‌ها به تمرین نسبت داد. از طرف دیگر، در گروه مکمل مشاهده می‌شود در پایان هشت هفته مقدار این سایتوکین نسبت به گروه‌های دیگر کمتر است (۱۶ پیکوگرم در میلی‌لیتر در نوبت اول به ۷۳ پیکوگرم در میلی‌لیتر در نوبت پنجم) و شاید این دو نتیجه متناقض در دو گروه تمرینی و مکمل را بتوان به مصرف مکمل مربوط دانست. همچنین باید به تفاوت بین دو گروه مکمل و مکمل-تمرین توجه داشت. در گروه مکمل-تمرین با وجود مصرف مکمل مقدار این سایتوکین در حد بالاتری نسبت به گروه مکمل قرار گرفته است. در گروه مکمل - تمرین تا نوبت سوم مقدار IL-17 کاهش می‌یابد اما در نوبت چهارم و پنجم افزایش معناداری دیده می‌شود و شاید دلیل آن، مقدار مصرف این مکمل باشد که به اندازه کافی نبوده و ایجاد التهاب موجب افزایش IL-17 شده است. در اینجا می‌توان به میزان مسافت نیز اشاره کرد، چرا که با افزایش شدت و مدت تمرین، مقدار این سایتوکین افزایش یافته است. در همین زمینه هلیل دوزووا و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند در فعالیتهای طولانی مدت یا شدید (۱۲ هفته) مقدار تولید IL-17 افزایش می‌یابد و در گروهی که فعالیت ورزشی با مدت زمان کمتر (یک هفته) و شدت متوسط انجام می‌گیرد این افزایش مشاهده نمی‌شود (۷). احتمالاً ساز و کار درگیر، مربوط به این موضوع است که ورزش شدید سبب رهاسازی سایتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود و این سایتوکین‌ها، سایتوکین‌های ضدالتهابی مانند IL-2، IL-6 و IL-10 تولید می‌کنند. به نظر می‌رسد تولید متوالی سایتوکین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی دلیل شروع تولید IL-17 از طریق لکوسیت‌های محیطی خون و عضله اسکلتی باشد (۵،۷). با توجه به نتایج تحقیقات مختلف می‌توان گفت شدت یا مدت فعالیت ورزشی عامل مهمی

در افزایش تولید اینترلوکین-۱۷ است و تحقیق حاضر علاوه بر نتیجه اخیر، نشان داد مصرف مکمل امگا ۳ حداقل می‌تواند تا حدودی از شدت افزایش این سایتوکین جلوگیری کند.

در تحقیق حاضر مشخص شد انجام فعالیت ورزشی در هشت هفته موجب افزایش سطح CRP می‌شود، اما مصرف مکمل امگا ۳ در زمان فعالیت ورزشی شدید هوازی شیب افزایشی این پروتئین واکنشگر کاهش می‌یابد. مقدار طبیعی CRP در افراد بالغ حدود ۰/۸ الی ۵ میلی‌گرم در یک لیتر خون است، اما ممکن است در اثر التهاب ناشی از عفونت یا فعالیت ورزشی تا ۱۰۰۰ برابر نیز افزایش یابد؛ چرا که مقدار ترشح APP ها به صورت مستقیم یا غیرمستقیم به عواملی از جمله تولید سایتوکین‌ها و سلول‌های T بستگی دارد (۱۳). در تحقیقی مشخص شد مصرف امگا۳ به مدت ۸ هفته روی ۶ زن و ۶ مرد موجب کاهش CRP می‌شود (۳). در پژوهشی دیگر محققان ۲۱ زن مسن و سالم را انتخاب کردند و آزمودنی‌ها به مدت هشت هفته هر روز مقدار ۶ گرم EPA مصرف می‌کردند. در پایان تحقیق اخیر مشخص شد سطح CRP از ۱۱ میلی‌گرم بر لیتر به ۸ میلی‌گرم بر لیتر (احتمالاً به دلیل کاهش IL-6) کاهش یافت (۲۸). در نمودار ۱، ب یا جدول ۲ مشاهده می‌شود سطح CRP در تمامی گروه‌ها از مقدار طبیعی خود خارج نشده است، هرچند اختلاف معناداری با یکدیگر دارند. مقدار این پروتئین در گروه مکمل و کنترل نسبت به دیگر گروه‌ها کمتر است و در گروه مکمل در دو نوبت آخر در پایین‌ترین مقدار است. بنابراین با توجه به نتایج تحقیقات مذکور (۲۸،۳) تاثیر زمان مصرف مکمل، موضوع بسیار مهمی است؛ چرا که نتایج اخیر با نتایج برخی تحقیقات همخوانی ندارد (۱۱،۴). برای مثال در تحقیقی مشخص شد بین سطوح DHA و CRP ارتباط غیرمعناداری وجود دارد (۱۱). هم چنین محققان دریافتند مصرف ۴ گرم روغن ماهی در روز سطح CRP را در افراد چاق تغییر نمی‌دهد (۴). این محققان دلیل این موضوع را مدت کم مصرف مکمل (یک هفته) اعلام کردند (۱۱،۴). از طرف دیگر، در تحقیق حاضر، بیشترین مقدار پروتئین واکنشگر سی در گروه تمرینی و مکمل - تمرین دیده می‌شود، هر چند این موضوع در گروه تمرینی چشمگیرتر است. هشت هفته فعالیت ورزشی در گروه تمرینی موجب افزایش CRP شده است، هرچند در دو نوبت آخر کمی کاهش غیرمعنادار پیدا کرده است. درباره نتیجه اخیر شاید بتوان به تفاوت در سازوکارهای درون سلولی انسان و حیوان اشاره کرد (۱۳). از طرف دیگر، ممکن است شدت تمرین موجب ایجاد التهاب شده و در

نتیجه بدن به منظور مقابله با این موضوع، مقدار تولید این پروتئین را افزایش داده باشد. کیم و همکاران (۲۰۰۹) در این زمینه تحقیقی انجام داده‌اند. آنان تاثیر مسافت دو در مسابقهٔ ماراتن (۴۲/۱۹۵ Km) و فوق ماراتن (۲۰۰ Km) را بر CRP بررسی کردند و دریافتند بعد از مسابقهٔ دو ماراتن سطح این پروتئین تغییری پیدا نمی‌کند، اما پس از گذشت یک روز، ۳/۴ برابر افزایش می‌یابد و پس از چهار روز به حالت اولیه برمی‌گردد. هم چنین اظهار داشتند سطح CRP پس از پایان مسابقهٔ فوق ماراتن ۴۰ برابر افزایش یافت و تا شش روز پس از مسابقه در حدود این مقدار باقی ماند (۱۳). این نتایج با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد، چرا که بیشترین مقدار CRP زمانی دیده می‌شود که آزمودنی‌ها فعالیت ورزشی انجام داده یا در اواخر دورهٔ تمرینی خود باشند. از طرف دیگر، برخی محققان نتایج دیگری را به دست آوردند و اظهار داشتند مقدار اولیهٔ CRP عاملی مهم در تغییرات بعدی آن بوده و هرچه این مقدار بیشتر باشد، کاهش آن چشمگیرتر است (۲۷). تحقیق حاضر نشان داد در گروه مکمل - تمرین در سه نوبت اول، افزایش در CRP روی می‌دهد (سه نوبت اول مشابه با گروه تمرینی است)، اما در دو نوبت آخر کاهش معناداری اتفاق می‌افتد و با مقایسهٔ آن با نتایج گروه تمرین، شاید بتوان مصرف مکمل را دلیل کاهش چشمگیر در گروه مکمل - تمرین دانست. به نظر می‌رسد به منظور تاثیر امگا ۳ بر CRP باید به مدت زمان مصرف مکمل توجه داشت چرا که در گروه مکمل - تمرین مشابه با گروه تمرینی در سه نوبت اول افزایش مشابهی اتفاق افتاده است، اما در چهار هفتهٔ دوم به مرور، مقدار CRP در این گروه کاهش می‌یابد. با مقایسه گروه‌ها مشخص می‌شود مصرف مکمل EPA و DHA تا حدودی مانع افزایش التهاب شده و در نتیجه نیاز به افزایش ترشح CRP را کاهش داده است.

نوع برنامه‌های تمرینی از عوامل مؤثر بر آسیب عضلانی در سطح میکروسکوپی (ریز) بوده و ممکن است به دنبال فعالیت ورزشی خاص، التهاب ایجاد شود. هم چنانکه گفته شد، هنگامی که ورزش موجب آسیب عضله می‌شود، فعالیت آنزیم کراتین فسفوکیناز در خون افزایش می‌یابد. محققان به طور معمول CPK را شاخص قوی در تعیین آسیب عضله می‌دانند (۹). در تحقیقی تاثیر دو نوع فعالیت درون گرا و برون گرا بر برخی عوامل ضدالتهابی بررسی و مشخص شد ارتباط معنی داری بین افزایش IL-6 و آسیب عضله (افزایش سطح آنزیم کراتین کیناز) وجود دارد و این افزایش پس از ورزش برون گرا مشهودتر می‌باشد. به علاوه ارتباط معنی داری بین

اوج IL-6 و اوج کراتین کیناز در روزهای بعد از ورزش مشاهده شد (۳۰). در پژوهشی دیگر مشخص شد انجام سه نوبت برنامه تمرینی ۹۰ دقیقه‌ای همراه با مصرف مکمل کربوهیدرات، موجب کاهش معنادار در نوبت‌های دوم و سوم می‌شود، اما در نوبت اول تغییری مشاهده نمی‌شود. تحقیق اخیر بیان می‌کند مدت و میزان مسافت تمرین، عامل اصلی در این تغییرات است (۲۱). در پژوهشی دیگر نیز تاثیر فعالیت ورزشی سرعتی و استقامتی بر CPK بررسی شد. نتایج نشان داد با افزایش شدت یا مدت فعالیت ورزشی، مقدار این آنزیم افزایش می‌یابد و در واقع رابطه مستقیمی بین شدت و مدت با سطح CPK وجود دارد (۲). در تحقیق حاضر با توجه به نمودار (۱، ج) یا جدول ۲ کمترین مقدار کراتین فسفوکیناز در نوبت‌های مختلف در گروه مکمل دیده می‌شود، به همین دلیل شاید بتوان گفت کمترین آسیب عضلانی در این گروه اتفاق افتاده است. هم چنین با مقایسه مقدار CPK در دو گروه تمرین و مکمل - تمرین مشخص می‌شود مصرف مکمل موجب شده است شیب افزایش این آنزیم در گروه مکمل - تمرین نسبت به گروه تمرینی کمتر باشد، هر چند افزایش پلکانی صورت گرفته است. نتایج به دست آمده در گروه تمرینی نشان می‌دهد اگر افزایش CPK را به عنوان شاخصی برای نشان دادن التهاب در نظر گرفته شود، می‌توان گفت افزایش این آنزیم نشان‌دهنده پارگی بافت عضلانی در موش‌های این گروه است (این تمرین موجب کوفتگی شده است) و ادامه این فعالیت به مدت دو ماه نتوانسته است از روند افزایشی آن جلوگیری کند (عدم سازگاری به تمرین). در راستای همین نتیجه در تحقیقی مشخص شد مقدار CPK تحت تاثیر مسافت دویدن است و مقدار این آنزیم در خون پس از پایان ۲۰۰ کیلومتر، به ۳۵ برابر می‌رسد و تا ۵ روز به همین حالت باقی می‌ماند. اما پس از دو ماراتن (۴۲/۱۹۵ کیلومتر) مقدار آن فقط چهار برابر افزایش می‌یابد (۱۳).

وسعت و دامنه آسیب در فعالیت ورزشی به عوامل مختلفی از جمله مدت، شدت، نوع ورزش، جنس و سطح آمادگی جسمانی افراد بستگی دارد (۲۱، ۲، ۱۳). به طور کلی مقایسه بین گروه‌ها می‌توان نتیجه گرفت مصرف مکمل بی‌تأثیر نبوده است (کاهش CPK در گروه مکمل و کاهش شیب افزایش در گروه مکمل - تمرین) و شاید اگر مقدار مصرف این مکمل، متناسب با شدت و مدت تمرین انتخاب می‌شد، نتایج بهتری به دست می‌آمد و به نظر می‌رسد در این تحقیق مقدار مصرفی این مکمل باید افزایش پیدا می‌کرد.

در نهایت می‌توان گفت مصرف مکمل EPA و DHA و متعاقب آن فعالیت ورزشی، سطوح پلاسمایی IL-17 را کاهش می‌دهد. در اثر فعالیت ورزشی آسیب عضله به برانگیخته شدن فرایند ترمیمی (ورود

ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها به داخل عضله) در بدن منجر می‌شود و به نظر می‌رسد برانگیخته شدن فرایند ترمیمی که به تولید بیشتر IL-6 منجر می‌شود، در اثر افزایش IL-17 اتفاق افتاده است (۱۹، ۱۸، ۱۷، ۱۶، ۱۵، ۱۲، ۲۰). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت ورود نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها به داخل عضله اسکلتی در حین ورزش در اثر فعالیت IL-17، موجب اثر تعاملی بین IL-6 و IL-17 می‌شود و مجموعه این روند به ترشح بیشتر هر دو سایتوکین و در نهایت ترشح CRP می‌انجامد و به طور معمول این موضوع با افزایش CPK همراه است (در تحقیق حاضر ارتباط مستقیم و معناداری بین تغییرات CRP و CPK مشاهده شد $r=0.71$) (۶). از آنجا که ارزیابی دستگاه ایمنی، به دلیل ارتباط اجزای آن با یکدیگر و همچنین ارتباط این دستگاه با دیگر دستگاه‌ها، پیچیده است، باید نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر در تحقیقات آینده بازبینی و نقش اسیدهای چرب بر غلظت IL-17 و همچنین نقش این سایتوکین در التهاب ایجاد شده در عضلات اسکلتی به طور دقیق‌تر بررسی شود.

منابع و مآخذ

1. Aggarwal BB, Shishodia S, Sandur SK, Pandey MK, Sethi G. (2006). "Inflammation and cancer: how hot is the link?". *Biochem Pharmacol*, 72: PP:1605-21.
2. Andrzejewski M, Marcin, Chmura, Jan, Wiacek, Magdalena, Zubrzycki, Igor Z. (2008). "The influence of individualizing physical loads on speed, creatin kinaz activity and lactate dehydrogenize in football players". *Biology of Sport*, 25(2): PP:135-146
3. Calder, P. C. (2006). "N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases". *Am J Clin Nutr*, 83 (6 Supl): PP:1505S-1519S.
4. Chan, D.C., Watts, G. F., Barrett, P. H., Beilin, L. J., Mori, T.A. (2002). "Effect of atorvastatin and fish oil on plasma high-sensitivity C-reactive protein concentrations in individuals with visceral obesity". *Clan Chem*, 48: PP:877-83.

5. Dong, C .Chang S.H.,(2007). "A novel heterodimeric cytokine consisting of IL-17 and IL-17F regulates inflammatory responses". *Cell Res*, 17:PP:435-40.
6. Golzari, Z., Shabkhiz, F., Soudi S, Kordi, M. R., Hashemi, S. M.(2010). "Combined exercise training reduces IFN- γ and IL-17 levels in the plasma and the supernatant of peripheral blood mononuclear cells in women with multiple sclerosis". *Int Immunopharmacol*. 10(11):PP:1415-9.
7. Duzova, H., Karakoc, Y., Hanifi, M. T., Yilmaz, Z. D., Kilinc, E.,(2009). "Effects of acute moderate and strenuous exercise bouts on IL-17 production and inflammatory response in trained rats". *Journal of Sports Science and Medicine*, 8,PP: 219 - 224
8. Hattori, Y., Matsumura, M., and Kasai, K.(2007). "Cardiovasc". *Res*. 58,PP:186–195.
9. Howatson, G., Van Someren, K.A.,(2008). "The Prevention and Treatment of Exercise-Induced Muscle Damage". *Sports Med*, 38(6): PP:483-503.
10. Inoue, N.(2008). "Vascular c-reactive protein in the pathogenesis of coronary artery disease : role of vascular inflammation and oxidative stress". *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*, 6,PP: 227–231.
11. Kawaguchi, M., Adachi, M., Oda, N., Kokubu, F., Huang, S.K. (2004). "IL-17 Cytokine family". *J. Allergy Clin. Immunol*. 114 (6): PP:1265–73; quiz 1274.
12. Keller, P., Penkowa, M., Keller, C.A., Steensberg, A., Fischer, C.P., Giralt, M., Hidalgo, J. and Pedersen, B.K.(2005). "Interleukin-6 receptor expression in contracting human skeletal muscle: regulating role of IL-6". *The FASEB Journal*, 19(9), PP:1181-1183. Epub.

13. Kim, H.J, Lee, Y.H, Kim, C.K.(2009). "Changes in serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP), plasma CPK and plasma hs-CRP in relation to running distance in a marathon (42.195 km) and an ultra-marathon (200 km) race". *Eur J Appl Physiol.* 105(5):PP:765-70
14. Kolls, J.K. and Linden, A.(2004). "Interleukin-17 family members and inflammation". *Immunity*, 21(4),PP: 467-476.
15. Moseley, T.A, Haudenschild, D.R, Rose, L., Reddi, A.H.(2003). "Interleukin-17 family and IL-17 receptors". *Cytokine Growth Factor Rev.* 14(2): PP:155-74.
16. Peace, J.M., Suzuki, K., Wilson, G., Harder, M., Nosaka, K., MaCPKinnon, L. and Coombes, J.S.(2005). "Exercise-induced muscle damage, plasma cytokines, and markers of neutrophil activation". *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 37(5),PP: 737-745.
17. Pedersen, B.K., Stenberg, A., Keller, P.(2003). "Muscle-derived interleukin-6: lipolytic, anti-inflammatory and immune regulatory effects". *Plungers Arch*, 446:PP:9-16.
18. Pischon T, Hu FB, Rexrode KM, Girman CJ, Manson JE, Rimm EB. (2008). "Inflammation, the metabolic syndrome, and risk of coronary heart disease in women and men". *Atherosclerosis*, 197(1): PP:392-9.
19. Plomgaard, P., Penkowa, M. and Pedersen, B.K.(2005). "Fiber type specific expression of TNF-alpha, IL-6 and IL-18 in human skeletal muscles". *Exercise Immunology Review*, 11,PP: 53-63.
20. Quindry, J.C., Stone, W.L., King, J. and Broeder, C.E.(2003). "The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress". *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 35(7), PP:1139-1145.
21. Rahnema, N., Faramarzi M., Gaeini, A.A.(2011). "Effects of Intermittent Exercise on Cardiac Troponin I and Creatine Kinase-MB". *Int J Prev Med.* 2(1):PP:20-3.

22. Rico, H., Gervas, J.J., Hernandez, E.R., Seco, C., Villa, LF, Revilla, M. and Sanchez-Atrio, A.(1999). "Effects of alprazolam supplementation on vertebral and femoral bone mass in rats on strenuous treadmill training exercise". *Calcified Tissue International*, 65(2),PP: 139-142.
23. Rosendal, L., Sogaard,K.,Kjaer, M., Sjogaard, G., Langberg, H. and Kristiansen , J.(2005). "Increase in interstitial interleukin-6 of human skeletal muscle with repetitive low-force exercise. *Journal of Applied Physiology*, 98(2), PP:477-481.
24. Shishehbor, M.H., Bhatt, D.L., Topol, E.J.(2003). "Using C-reactive protein to assess cardiovascular disease risk". *Cleve Clan. J. Med.* 70(7): PP:634-640.
25. Shoelson, Jongsoon Lee and Allison B, Goldfine.(2006). "Inflammation and insulin resistance". *J Clin Invest.* 116:PP:1793-801.
26. Sigal, L.H.(2004). "Interleukins of current clinical relevance (Part I)". *Journal of Clinical Rheumatology*, 10(6), PP:353-359.
27. Simopoulos, A.P.(2006). "Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases". *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 60, 502-507.
28. Timo A. Lakka, Hanna-Maaria Lakka, Tuomo Rankinen, Arthur S. Leon. (2005). "Effect of exercise training on plasma levels of C-reactive protein in healthy adults: the HERITAGE Family Study" . *European Heart Journal*, PP: 2018-2025.
29. Tsatsanis, C., A. Androulidaki, M. Venihaki, and A. N. Margioris. (2006). "Signalling networks regulating cyclooxygenase-2". *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 38: PP:1654-1661.
30. Vassilakopoulos, T., Karatza, M., Katsaounou, P., Kollintza, A., Zakyntinos, S., Roussos, C.(2003). "Antioxidants attenuate the plasma cytokine response to exercise in humans". *J Appl Physiol*, 94:PP:1025–1032.

31. Willoughby, D.S., Vanern, C., Taylor, L. (2003). "Effects of concentric and eccentric contractions on exercise induced muscle injury, inflammation, and serum il-6". *J Exercise Physiol.* 6(4):PP: 8-15.

