

## Effects of Oral Creatine Supplementation with Different Doses on the Biochemical Markers of Liver, Kidney and Testis in Swimming Trained Male Rats

Abri HR <sup>1</sup>, Mahmoodi M <sup>\*1</sup>, Shahidi S <sup>2</sup>

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran

2. Neurophysiology Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

\* *Corresponding author.* Tel/Fax: +988134481316, E-mail: minoomahmoodi@yahoo.com

Received: May 20, 2018

Accepted: Sep 21, 2018

### ABSTRACT

**Background & objectives:** The aim of the present study was to investigate the effects of oral creatine supplementation on biochemical markers of liver, kidney and testis in the male rats under swimming training plan.

**Methods:** In this study, male Wistar rats, weighing  $245 \pm 5$  gr, were divided into five groups (n=8): control, exercise plus zero dose, exercise plus low-dose, exercise plus moderate dose and exercise plus high dose of creatine (200,300 and 600 mg/kg/d respectively). Biochemical studies of blood serum were performed ten days after creatine supplementation and swimming exercises. Following serum collection, the alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN), creatinine and testosterone levels were measured using spectrophotometry method. Statistical analysis was performed by SPSS software using mixed model ANOVA.

**Results:** serum levels of ALP showed statistically significant differences between groups receiving low and moderate doses of creatine compared to both control and exercise with zero dose ( $p < 0.05$ ). Also, the results of serum levels of BUN, ALT and AST showed there was no significant difference between the exercise plus zero dose of creatine, exercise plus low-doses of creatine group, exercise plus moderate dose of creatine, exercise plus high dose of creatine groups and control group. The exercise group with high doses of creatine significantly showed a higher serum creatinine level than control group ( $p < 0.05$ ). The serum testosterone level was significantly higher in the exercise with moderate doses of creatine group than in the control group and exercise plus zero creatine dose ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** The results suggested that short-term creatine supplementation (up to 10 days) might adversely affect some biochemical markers of liver, kidney and testis. However, further studies are necessarily needed to clarify the consumption of short-term creatine supplementation.

**Keywords:** Creatine Supplementation; Biochemical Marker; Kidney; Liver; Testis; Swimming Training; Rat

## اثرات مصرف خوراکی مکمل کراتین با دوزهای مختلف بر شاخص های بیوشیمیایی کبد، کلیه و بیضه در رت های نر تحت تمرین شنا

حمیدرضا ابری<sup>۱</sup>، مینو محمودی<sup>۱\*</sup>، سیامک شهیدی<sup>۲</sup>

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

۲. مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

\* نویسنده مسئول، تلفاکس: ۰۸۱۳۴۴۸۱۳۱۶، پست الکترونیک: minoomahmoodi@yahoo.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** پژوهش حاضر با هدف ارزیابی مصرف خوراکی مکمل کراتین بر شاخص های بیوشیمیایی کلیه، کبد و بیضه در رت های نر تحت تمرین شنا انجام گرفت.

**روش کار:** در این مطالعه موش های رت نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ( $245 \pm 5\text{gr}$ ) به ۵ گروه ۸ تایی: کنترل، تمرین + دوز صفر کراتین؛ تمرین با دریافت دوز پایین، متوسط و بالای کراتین (به ترتیب ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم / کیلوگرم در روز) تقسیم بندی شدند. مطالعات بیوشیمیایی سرم خون بعد از ۱۰ روز مصرف کراتین و تمرین شنا اجرا شد. سپس سطح سرمی آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST)، ازت اوره خون (BUN)، کراتینین و تستوسترون به روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون ANOVA انجام گرفت.

**یافته ها:** نتایج نشان داد که سطح سرمی ALP در گروه های دریافت کننده دوز کم و متوسط کراتین نسبت به هر دو گروه کنترل و گروه تمرین دوز صفر کراتین تفاوت معناداری داشته است ( $p < 0/05$ ). سطح سرمی BUN، ALT و AST در گروه های تمرین + دوز صفر کراتین، تمرین داده شده با دریافت دوز پایین، متوسط و بالای کراتین نسبت به گروه کنترل دارای تفاوت معناداری نبود. گروه تمرین داده شده با دریافت دوز بالای کراتین بطور معناداری سطح سرمی کراتینین بالاتری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ( $p < 0/05$ ). سطح تستوسترون در گروه تمرین با دریافت دوز متوسط کراتین نسبت به گروه کنترل و گروه تمرین + دوز صفر کراتین دارای تفاوت معناداری بود ( $p < 0/05$ ).

**نتیجه گیری:** این مطالعه نشان می دهد که مصرف کوتاه مدت کراتین (۱۰ روز) می تواند بر روی برخی از شاخص های بیوشیمیایی کلیه، کبد و بیضه اثر بگذارد. اگرچه مطالعات بیشتری برای روشن شدن اثرات مصرف مکمل کراتین لازم است.

**واژه های کلیدی:** مکمل کراتین، شاخص های بیوشیمیایی، کلیه، کبد، بیضه، رت، تمرین شنا

پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۳۰

دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۳۰

### مقدمه

تمرین با وزنه یکی از روش های پرطرفدار در بین جوانان است که در اکثر رشته های ورزشی برای تقویت عضلانی از آن استفاده می شود. کراتین که یک

ماده طبیعی با پایه اسید آمینه می باشد به طور گسترده ای مورد استفاده ورزشکاران قرار می گیرد [۱]. کراتین یک ترکیب آلی است که در کبد و کلیه ها از آمینواسیدهای گلیسین، آرژنین و متیونین ساخته

می‌شود و نقش مهمی در تأمین انرژی سریع از طریق انتقال گروه فسفات از فسفو کراتین به آدنوزین دی فسفات و بازسازی آدنوزین تری فسفات ایفا می‌کند [۲]. به نظر می‌رسد کراتین عامل نیروزای مؤثر برای افزایش عملکرد فعالیت ورزشی باشد، بنابراین مکمل کراتین در بین ورزشکاران رایج است. تحقیقاتی سودمندی و انرژی‌زا بودن آنرا گزارش کرده‌اند [۴،۳]. در مطالعه‌ای تأثیر مکمل کراتین بر افراد تمرین نکرده را بررسی و دریافتند مکمل کراتین، توان کل در تمرینات را افزایش می‌داد [۵]. در مطالعه‌ای، کراتین دارای آثار نیروزایی مانند افزایش ذخیره کراتین در بدن، مقادیر زیاد فسفو کراتین در شروع تمرین، افزایش دوباره سازی فسفو کراتین در دوره‌های بازیافت در فعالیت‌های تناوبی بود و قابلیت افزایش توان و قدرت عضلانی را داشت [۶]. در مطالعه کوکاک و همکاران مصرف کوتاه مدت مکمل کراتین تأثیر زیادی بر توان اوج و توان متوسط بی‌هوازی کشتی‌گیران داشت [۷]. البته تحقیقات متناقضی نیز وجود دارد، اراضی و همکاران دریافتند مصرف کراتین استر الزاماً سبب بهبود قابل ملاحظه‌ای در حجم و قدرت عضلانی در افراد لاغر غیرورزشکار نمی‌شود و همچنین تأثیر چندانی بر توده چربی آن‌ها ندارد [۸]. مطالعات آزمایشات کلینیکی درباره استفاده از مکمل کراتین معمولاً به دو فاز تقسیم می‌شود: ۱- فاز اولیه با مصرف دوز بالای کراتین، روزانه ۲۰ تا ۳۰ گرم به مدت ۵ تا ۷ روز (فاز بارگیری)، و ۲- فاز نگهداری، با دوز کم کراتین، یک پنجم دوز اولیه به عبارتی ۴ تا ۶ گرم روزانه برای چندین هفته [۹،۱۰].

نتایج تحقیقات در رابطه با تأثیر مصرف کراتین در کنار تمرین ورزشی بر شاخص‌های سرمی آسیب سلولی همسو نمی‌باشد. برای مثال، در تحقیقاتی تأثیر بکارگیری کراتین بر روی نمونه انسانی و با انجام فعالیت ورزشی انجام شد و آنزیم‌های کبدی و ازت اوره خون (BUN) و کراتینین مورد سنجش قرار گرفت که در محدوده طبیعی قرار داشتند و اختلاف

معناداری وجود نداشت [۱۱]. در مطالعه ایتر مصرف خوراکی کراتین به مدت ۴۰ روز بر روی شاخص‌های بیوشیمیایی رت‌ها بررسی شد و آنزیم‌های کبدی و کراتینین و BUN در اثر استفاده از این مکمل افزایش معناداری یافتند [۱۲]. در تحقیقی تأثیر مکمل کراتین بر روی شاخص‌های سلامتی انسان به مدت ۲۸ روز بررسی شد که شاخص‌های کبدی و کلیوی افزایش معناداری یافتند [۱۳]. در پژوهشی با هدف مقایسه مصرف مکمل کراتین و مخلوط کراتین- کربوهیدرات بر توان بی‌هوازی و شاخص‌های آسیب سلولی گزارش شد که در گروهی که کراتین مصرف شده افزایش معناداری در سطوح آنزیم‌های کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز دیده می‌شود [۱۴]. سوزا و همکاران تأثیر دوز بالای کراتین خوراکی در موش‌های رت طی مدت ۸ هفته را بررسی کردند و نتایج نشان داد که میزان آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) و ازت اوره خون (BUN) و کراتینین در گروه رت‌های بی‌حرکت به طور معناداری افزایش یافت اما در گروه ورزشی که کراتین مصرف کرده بودند تغییرات معناداری مشاهده نشد [۱۵]. مطالعه‌ای دیگر روی شاخص‌های خونی کلیوی و کبدی نشان داد که کراتین موجب افزایش مارکرها از جمله اوره و کراتینین، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینو ترانسفراز نشد [۱۶]. یک مورد بیماری کلیوی گزارش شد که شخص قبلاً سابقه بیماری کلیوی نداشت و بعد از مصرف کراتین علائم آسیب کلیوی در وی بروز کرد، از جمله اوره و کراتینین افزایش یافته بودند [۱۷]. پژوهش‌هایی وجود دارند که اشاره می‌کنند مصرف مکمل کراتین می‌تواند سرعت پیشرفت بیماری کبدی و کلیوی را افزایش دهد [۱۸،۱۹] مطالعه رحیمی و همکاران که به بررسی مصرف کوتاه مدت مکمل کراتین بر ورزش مقاومتی پرداختند، نشان داد کراتین می‌تواند موجب افزایش ترشح هورمون تستوسترون شود [۲۰].

روی رت‌ها به مدت ۱۰ روز انجام گرفت [۴،۱۱،۲۱]. رت‌ها به طور تصادفی در ۵ گروه ۸ تایی قرار گرفتند؛ گروه کنترل: بدون اینکه مکمل کراتین دریافت کنند و درون قفس همراه با آب و غذا نگهداری شدند؛ گروه تمرین+ دوز صفر کراتین: بدون اینکه مکمل کراتین دریافت کنند روزانه به مدت ۴۵ دقیقه تمرین شنا می‌کردند؛ گروه‌های تمرین+ دریافت‌کننده دوز کم، متوسط و بالای کراتین که مکمل را با دوز ۲۰۰،۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم بصورت روزانه به وسیله گاواژ ۳۰ دقیقه قبل از شروع تمرین دریافت و سپس به مدت ۴۵ دقیقه شنا کردند و این عمل بعد از ظهرها برای مدت ۱۰ روز پیاپی انجام گرفت.

#### تمرین شنا

در سال‌های اخیر، کاهش اثرات احتمالی مکمل کراتین هنگامی که فعالیت ورزشی انجام می‌گیرد بررسی شده است. این نظر وجود دارد که تمرین ورزشی می‌تواند اثرات آسیب‌رسان احتمالی کراتین را در کبد و کلیه کاهش دهد، چرا که مصرف کراتین به وسیله عضلات اسکلتی در طول فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد، در نتیجه موجب کاهش تجمع کراتین در کلیه‌ها و کبد می‌شود [۲۲،۱۹]. در مطالعه حاضر نیز اثرات مکمل کراتین در حیوانات هنگامی که با تمرین شنا مواجه می‌شدند بررسی شد [۱۵]. جهت سازگاری حیوانات با شناکردن در آب و کاهش فاکتورهای استرس در مواجهه با فعالیت شنا همه حیوانات گروه‌های تمرین ۵ روز متوالی به مدت ۳۰ دقیقه بدون دریافت مکمل کراتین شنا کردند [۲۳]. بعد از این دوره سازگاری، موش‌ها در گروه‌های تمرین پس از دریافت مکمل کراتین روزانه ۴۵ دقیقه در استخر ویژه‌ای به ابعاد ۵۰×۵۰×۱۰۰ سانتی‌متر شنا کردند [۲۴]. درجه حرارت آب  $31 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد و پس از هر جلسه شنا موش‌ها با سشوار خشک شدند.

کراتین یک مکمل غذایی است که امروزه به عنوان پرمصرف‌ترین مکمل در بین ورزشکاران رواج یافته است [۲۱]، با این حال، هنوز نگرانی‌های زیادی در مورد اثرات نامشخص و عوارض جانبی مصرف مکمل کراتین و ایهاماتی درباره آثار مکمل‌سازی کوتاه و بلندمدت کراتین بر شاخص‌های سلامتی و دستگاه‌های مختلف بدن وجود دارد. بنابراین با توجه به ساز و کار نامشخص بروز آسیب سلولی ناشی از مصرف مکمل کراتین در کنار تمرین و تناقضات موجود در یافته‌های قبلی در رابطه با تغییرات شاخص‌های سرمی و محدودیت اخلاقی در بکارگیری دوزهای بالا بر روی نمونه‌های انسانی، هدف این تحقیق بررسی اثرات مصرف کوتاه مدت کراتین بر سطح سرمی شاخص‌های بیوشیمیایی کبد، کلیه و بیضه به منظور تعیین آسیب‌های احتمالی در رت‌های نر تحت تمرین بود. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند در ملاحظات ورزشی در خصوص دوزهای توصیه شده و طول دوره مصرف کراتین مورد توجه قرار گیرد و از آسیب‌های فیزیولوژیکی احتمالی جلوگیری کند.

#### روش کار

##### حیوانات و گروه‌های آزمایشی

مطالعه حاضر یک تحقیق تجربی- آزمایشگاهی در زمینه ملاحظات ورزشی در مصرف مکمل‌های غذایی به منظور به حداقل رساندن آسیب‌های فیزیوپاتولوژیک بود. در این مطالعه موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار با میانگین وزنی  $245 \pm 5g$  به تعداد ۴۰ سر از انستیتو پاستور ایران تهیه شد. حیوانات محدودیتی در دسترسی به آب و غذا نداشتند و در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با درجه حرارت  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰٪ در اتاق مخصوص حیوانات نگهداری شدند، پس از یک هفته انتقال به آزمایشگاه و سازش با محیط جدید، انجام آزمایشات آغاز گردید. مطالعه به منظور بررسی اثرات کوتاه مدت مکمل کراتین بر

**مکمل کراتین**

دریافت مکمل کراتین (کراتین مونوهیدرات شرکت داروسازی و مکمل‌های غذایی کارن) یک روز بعد از دورهٔ سازگاری موش‌ها با شناکردن شروع شد. حیوانات مکمل کراتین را به وسیلهٔ گاواژ دریافت می‌کردند. دوزها بعد از ظهر و ۳۰ دقیقه قبل از ورزش شنا به موش‌ها داده می‌شد. انتخاب دوزهای مکمل کراتین در این مطالعه بر مبنای دوز توصیه شده در فاز بارگیری در مقایسه با مطالعات پیشین بوده است [۱۵،۲۵].

**روش نمونه‌برداری خون**

ده روز پس از اجرای تجربیات آزمایشگاهی و ۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با اتر بی‌هوش شدند [۱۵] و متعاقباً با استفاده از تکنیک خونگیری از قلب، خونگیری صورت گرفت. نمونه‌های خون (۵ml) در لوله‌های آزمایش جمع‌آوری شد و پس از سانتریفیوژ با دور ۲۵۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه، نمونه‌ها جهت آنالیزهای بیوشیمیایی سرم به منظور بررسی عملکرد کلیه و کبد و بیضه به

آزمایشگاه منتقل و با دستگاه اسپکتروفوتومتری اتوآنالیزر Hitachi 912 ساخت ژاپن سنجش‌ها صورت گرفت.

**تجزیه و تحلیل آماری**

داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS-18 و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA به همراه پس آزمون توکی آنالیز گردیدند و  $p < 0.05$  اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. نتایج آزمایش در تمام گروه‌ها بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده و لازم به ذکر است چنانچه داده‌ها نرمال بودند از آنالیز واریانس یک طرفه بین آزمودنی و در غیر این صورت از معادل ناپارامتریک آن یعنی آزمون کروسکال-والیس و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون من-ویتنی استفاده شد.

**یافته‌ها**

در جدول ۱، غلظت سرمی کراتینین، ازت اوره خون، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و تستوسترون ارائه شده است.

جدول ۱. میانگین غلظت سطوح سرمی کراتینین، ازت اوره خون، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و تستوسترون در

**گروه‌های تحقیق**

متغیر	کنترل	تمرین- دوز صفر کراتین	تمرین- دوز کم کراتین	تمرین- دوز متوسط کراتین	تمرین- دوز زیاد کراتین
کراتینین (mg/dl)	۰/۶۹ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۷۲ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۷۳ $\pm$ ۰/۰۰۷	۰/۶۸ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۷۶ $\pm$ ۰/۰۱*
ازت اوره خون (mg/dl)	۱۸ $\pm$ ۰/۸۵	۱۸/۴۰ $\pm$ ۱/۲۰	۱۸/۶۶ $\pm$ ۰/۸۴	۱۸/۸۵ $\pm$ ۰/۹۱	۱۸/۴۲ $\pm$ ۰/۵۲
ALP (IU/L)	۳۸۰/۶۶ $\pm$ ۹۸/۲۰	۴۰۲/۲ $\pm$ ۱۰۲/۱۴	۳۳۸/۶۶ $\pm$ ۸۴/۹۸*#	۵۷۲/۴۲ $\pm$ ۸۱/۰۴*#	۳۷۷/۵۷ $\pm$ ۹۰/۵۰
ALT (IU/L)	۶۸/۶۶ $\pm$ ۳۸/۰۳	۱۰۷/۴ $\pm$ ۷۵/۶۷	۸۳/۵ $\pm$ ۷۶/۳۸	۹۶/۴۲ $\pm$ ۵۴/۵۶	۸۴/۸۵ $\pm$ ۴۲/۲۰
AST (IU/L)	۲۲۲/۶۶ $\pm$ ۸۵/۴۵	۲۶۵/۶ $\pm$ ۱۹۵/۷۰	۴۰۷/۱۶ $\pm$ ۳۷۷/۸۷	۱۹۹/۴۲ $\pm$ ۸۲/۳۶	۳۳۷/۸۵ $\pm$ ۱۰۳/۵۱
تستوسترون (mg/dl)	۱/۷۷ $\pm$ ۱/۸۳	۰/۶۶ $\pm$ ۰/۷۳	۱/۴۵ $\pm$ ۱/۶۲	۵/۱۷ $\pm$ ۲/۶۴	۲/۷۷ $\pm$ ۰/۸۸

داده‌ها به صورت « میانگین  $\pm$  انحراف معیار » ارائه شده اند. داده‌های حاصل با آزمون تحلیل واریانس یکطرفه آنالیز گردید.

\* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (معنی‌داری در سطح  $p < 0.05$ )

# اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه تمرین دوز صفر کراتین (معنی‌داری در سطح  $p < 0.05$ )

تعقیبی توکی در مقایسه میانگین غلظت سرمی کراتینین سرم خون موش‌های صحرایی نشان داد که اختلاف معناداری بین گروه کنترل با گروه تمرین+ دوز صفر مکمل کراتین ( $p = 0.065$ )، گروه تمرین+ دوز کم مکمل کراتین ( $p = 0.249$ ) و گروه تمرین+

نتایج آزمون کولموگروف- اسمیرنوف نشان داد که توزیع کراتینین سرم خون در گروه‌های تحقیق نرمال است. آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد اختلاف معناداری در غلظت کراتینین بین گروه‌های مورد مطالعه وجود دارد ( $p = 0.005$ ). نتایج آزمون

نظر آماری نسبت به گروه دوز صفر معنادار نبود ( $p=0/57$ ) (نمودار ۳).

با توجه به عدم نرمال بودن توزیع متغیر سطح سرمی ALT از آزمون کروسکال-والیس برای مقایسه میانگین متغیر سطح سرمی ALT در گروه‌های مورد تحقیق استفاده شد. نتایج آزمون کروسکال-والیس نشان داد بین گروه‌ها اختلاف معناداری وجود نداشت ( $p=0/53$ ) (نمودار ۴).

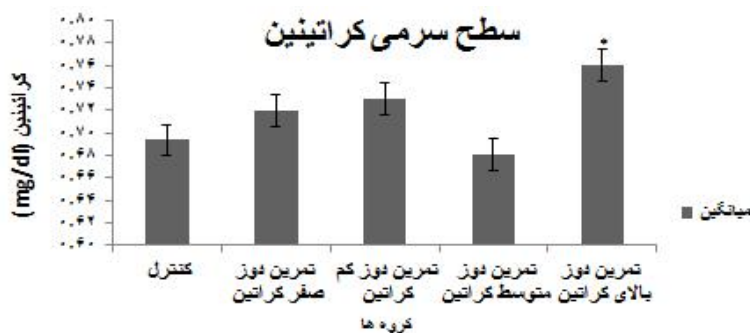
توزیع متغیر سطح سرمی AST نرمال بود و از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد که نتایج نشان داد اختلاف معناداری بین گروه‌ها وجود ندارد ( $p=0/205$ ) (نمودار ۵).

با توجه به عدم نرمال بودن توزیع متغیر سطح سرمی تستوسترون از آزمون کروسکال-والیس برای مقایسه میانگین متغیر سطح سرمی تستوسترون استفاده شد. نتایج آزمون کروسکال-والیس نشان داد که بین گروه‌ها اختلاف معنادار وجود داشت ( $p=0/009$ ). به منظور مقایسه دو به دو گروه‌ها از آزمون من-ویتنی استفاده شد، نتایج آزمون من-ویتنی نشان داد بین گروه تمرین+دوز صفر کراتین و کنترل ( $p=0/69$ ) و گروه دوز بالا و گروه کنترل ( $p=0/94$ ) اختلاف معناداری وجود نداشت. سطح سرمی تستوسترون در گروه دوز متوسط نسبت به گروه کنترل به شکل معناداری افزایش یافت ( $p=0/02$ ). نتایج آزمون نشان داد که بین گروه دوز کم کراتین با گروه دوز صفر کراتین اختلاف معناداری وجود نداشت ( $p=0/42$ ). بین گروه دوز متوسط با دوز صفر کراتین اختلاف معنادار وجود داشت ( $p=0/003$ ) و بین گروه دوز بالای کراتین با گروه دوز صفر کراتین تفاوت معناداری از نظر آماری نبود ( $p=0/2$ ) (نمودار ۶).

دوز متوسط مکمل کراتین ( $p=0/998$ ) وجود ندارد. در گروه دوز بالای مکمل کراتین میانگین غلظت سرمی کراتینین به طور معناداری بیش از گروه کنترل بود ( $p=0/019$ ). غلظت کراتینین سرم خون در گروه تمرین+دوز بالا نسبت به گروه تمرین+دوز صفر کراتین دارای اختلاف معنی‌داری نبود ( $p=0/495$ ) (نمودار ۱).

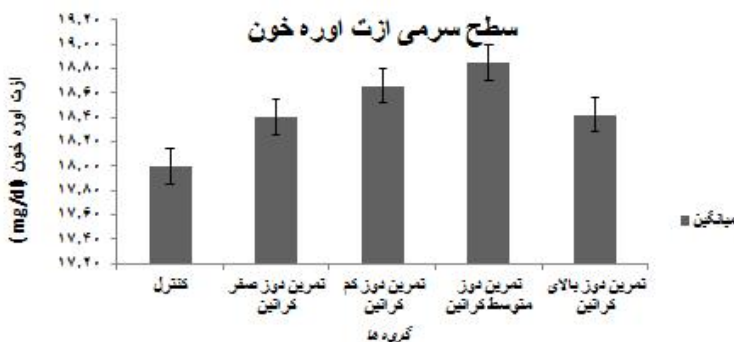
نتایج آزمون کولموگرف-اسمیرنوف نشان داد که توزیع ازت اوره خون در گروه‌های تحقیق نرمال است. آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که اختلاف معنی‌داری در غلظت ازت اوره خون بین گروه‌های مورد مطالعه وجود نداشت ( $p=0/964$ ) (نمودار ۲).

با توجه به عدم نرمال بودن توزیع متغیر سطح سرمی ALP از آزمون کروسکال-والیس برای مقایسه میانگین متغیر سطح سرمی ALP در گروه‌های مورد تحقیق استفاده شد. نتایج آزمون کروسکال-والیس نشان داد بین گروه‌ها اختلاف معناداری وجود داشت ( $p=0/001$ ). به منظور مقایسه دو به دو گروه‌ها از آزمون من-ویتنی استفاده شد. سطح سرمی ALP در گروه تمرین+دوز صفر کراتین نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معناداری نبود ( $p=0/85$ ). سطح سرمی ALP در گروه دوز کم کراتین نسبت به گروه کنترل ( $p=0/02$ ) و در گروه تمرین+دوز متوسط کراتین نسبت به گروه کنترل ( $p=0/01$ ) دارای اختلاف معناداری بود و سطح سرمی ALP در گروه تمرین+دوز بالای کراتین نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری نداشت ( $p=0/75$ ). اختلاف سطح سرمی ALP در گروه تمرین+دوز کم کراتین نسبت به گروه تمرین+دوز صفر کراتین معنادار بود ( $p=0/01$ ) و اختلاف سطح سرمی ALP در گروه دوز متوسط نسبت به گروه دوز صفر کراتین معنادار بود ( $p=0/01$ ). اختلاف سطح سرمی ALP گروه دوز بالا از



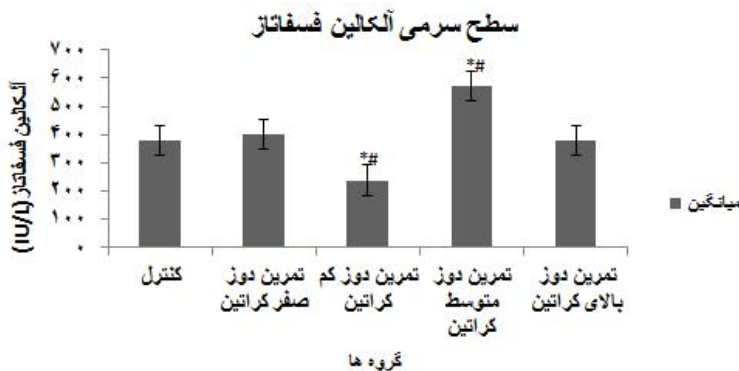
**نمودار ۱. تاثیر مکمل کراتین بر سطح سرمی کراتینین در رت‌های نر تحت تمرین شنا بعد از ده روز**

مقادیر بیانگر «میانگین ± انحراف معیار» است و داده‌های حاصل با آزمون تحلیل واریانس یکطرفه آنالیز گردید. گروه‌های کنترل (بدون دریافت مکمل و بدون تمرین شنا)، تمرین + دوز صفر کراتین (بدون دریافت مکمل و با تمرین شنا)، گروه‌های تمرین + دریافت کننده مکمل با تمرین شنا (روزانه ۴۵ دقیقه) دوزهای کم، متوسط و بالا (۲۰۰ و ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم / کیلوگرم). \* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل ( $p < 0.05$ ).



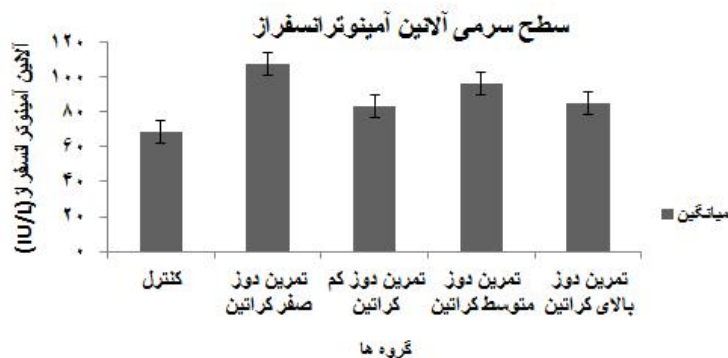
**نمودار ۲. تاثیر مکمل کراتین بر سطح سرمی BUN در رت‌های نر تحت تمرین شنا بعد از ده روز**

مقادیر بیانگر «میانگین ± انحراف معیار» است و داده‌های حاصل با آزمون تحلیل واریانس یکطرفه آنالیز گردید. گروه‌های کنترل (بدون دریافت مکمل و بدون تمرین شنا)، تمرین + دوز صفر کراتین (بدون دریافت مکمل و با تمرین شنا)، گروه‌های تمرین + دریافت کننده مکمل با تمرین شنا (روزانه ۴۵ دقیقه) دوزهای کم، متوسط و بالا (۲۰۰، ۳۰۰، ۶۰۰ میلی گرم / کیلوگرم).



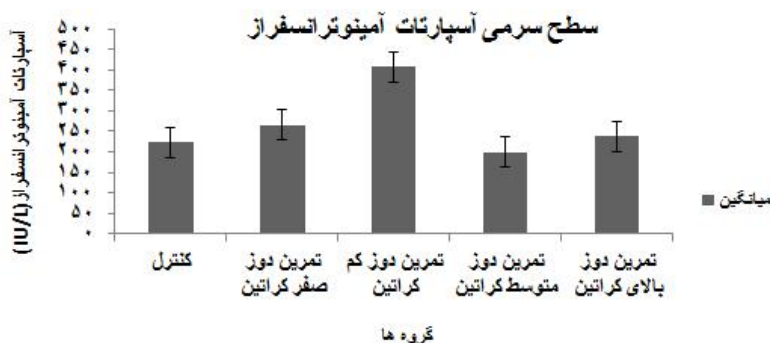
**نمودار ۳. تاثیر مکمل کراتین بر سطح سرمی ALP در رت‌های نر تحت تمرین شنا بعد از ده روز**

مقادیر بیانگر «میانگین ± انحراف معیار» است و داده‌های حاصل با آزمون تحلیل واریانس یکطرفه آنالیز گردید. گروه‌های کنترل (بدون دریافت مکمل و بدون تمرین شنا)، تمرین + دوز صفر کراتین (بدون دریافت مکمل و با تمرین شنا)، گروه‌های تمرین + دریافت کننده مکمل با تمرین شنا (روزانه ۴۵ دقیقه) دوزهای کم، متوسط و بالا (۲۰۰، ۳۰۰، ۶۰۰ میلی گرم / کیلوگرم). \* اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل ( $p < 0.05$ ), # اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه تمرین دوز صفر کراتین ( $p < 0.05$ ).



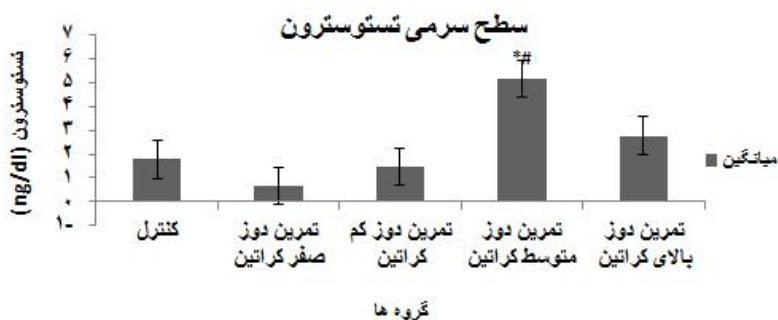
نمودار ۴. تاثیر مکمل کراتین بر سطح سرمی ALT در رت‌های نر تحت تمرین شنا بعد از ده روز

مقادیر بیانگر «میانگین  $\pm$  انحراف معیار» است و داده‌های حاصل با آزمون تحلیل واریانس یکطرفه آنالیز گردید. گروه‌های کنترل (بدون دریافت مکمل و بدون تمرین شنا)، تمرین + دوز صفر کراتین (بدون دریافت مکمل و با تمرین شنا)، گروه‌های تمرین + دریافت کننده مکمل با تمرین شنا (روزانه ۴۵ دقیقه) دوزهای کم، متوسط و بالا (۲۰۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم / کیلوگرم)



نمودار ۵. تاثیر مکمل کراتین بر سطح سرمی AST در رت‌های نر تحت تمرین شنا بعد از ده روز

مقادیر بیانگر «میانگین  $\pm$  انحراف معیار» است و داده‌های حاصل با آزمون تحلیل واریانس یکطرفه آنالیز گردید. گروه‌های کنترل (بدون دریافت مکمل و بدون تمرین شنا)، تمرین + دوز صفر کراتین (بدون دریافت مکمل و با تمرین شنا)، گروه‌های تمرین + دریافت کننده مکمل با تمرین شنا (روزانه ۴۵ دقیقه) دوزهای کم، متوسط و بالا (۲۰۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم / کیلوگرم).



نمودار ۶. تاثیر مکمل کراتین بر سطح سرمی تستوسترون در رت‌های نر تحت تمرین شنا بعد از ده روز

مقادیر بیانگر «میانگین  $\pm$  انحراف معیار» است و داده‌های حاصل با آزمون تحلیل واریانس یکطرفه آنالیز گردید. گروه‌های کنترل (بدون دریافت مکمل و بدون تمرین شنا)، تمرین + دوز صفر کراتین (بدون دریافت مکمل و با تمرین شنا)، گروه‌های تمرین + دریافت کننده مکمل با تمرین شنا (روزانه ۴۵ دقیقه) دوزهای کم، متوسط و بالا (۲۰۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم / کیلوگرم). \*اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل ( $p < 0.05$ ). # اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه تمرین دوز صفر کراتین ( $p < 0.05$ )



## بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف مکمل کراتین طی بازه کوتاه مدت ده روز همراه با تمرین شنا در رت‌های نر در گروه دریافت کننده دوز بالا سطح سرمی کراتینین را افزایش داد. در گروه تمرین+ دریافت کننده دوز متوسط و بالای کراتین سطح سرمی تستوسترون افزایش یافت و در گروه دریافت کننده دوز کم موجب کاهش و در دوز متوسط سبب افزایش سطح سرمی ALP نسبت به گروه کنترل و شاهد گردید. سطح سرمی BUN و AST و ALT در گروه‌های آزمایش تغییرات معناداری نداشتند.

این مطالعه نشان داد که استفاده دوز بالای کراتین در مدت زمان کوتاه (ده روز) در رت‌های نر تحت تمرین سطح کراتینین سرم را افزایش داد که از مارکرهای آسیب کلیوی است. یکی از مکانیسم‌های احتمال سمی بودن مکمل کراتین می‌تواند این باشد، انباشتگی و تجمع کراتین درون بافتی که ظرفیت متابولیکی کمی دارند. در مطالعه اخیر، در گروه دریافت کننده دوز بالا ممکن است حیوانات به ماکزیم ظرفیت ذخیره سازی درون عضلانی کراتین رسیده باشند و کراتین اضافی ممکن است در کلیه موجب مقداری آسیب شده باشد [۱۵]. این امر می‌تواند توجیه کننده افزایش سطح سرمی کراتینین در گروه دریافت کننده دوز بالا باشد. همچنین کراتین یک سوبسترا برای سنتز کراتینین است، سطح بالای کراتینین در گروه دریافت کننده دوز بالا به طور خیلی ساده می‌تواند نتیجه مصرف مکمل کراتین با دوز بالا باشد. همچنین کراتین یک منبع اضافی آرژنین برای افزایش تولید اوره است [۲۶] و ممکن است مصرف مکمل کراتین در دوزهای تجربی در حدی نبود که موجب فراهم نمودن یک منبع اضافی آرژنین برای تولید اوره بیشتر گردد. کراتین مصرفی به احتمال زیاد نمی‌تواند موجب افزایش یا کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های AST و ALT شود. احتمالاً کراتین باعث

تثبیت غشا، سازگاری‌های متابولیک و تغییرات مولکولی شده، از رهایش و افزایش آنزیم‌های کبدی به داخل خون جلوگیری می‌کند [۲۷]. LH تنظیم‌گر اصلی تولید تستوسترون است و پرولاکتین نیز با تأثیر مستقیم بر گیرنده‌های ویژه در سلول‌های لایدیگ در تراوش آن موثر است [۲۸]. افزایش ترشح تستوسترون می‌تواند نتیجه افزایش تراوش LH و پرولاکتین و تأثیر بر سلول‌های لایدیگ باشد که جهت اثبات این توجیه نیاز به تحقیقات بیشتر است.

در مطالعاتی که اثرات مصرف کوتاه مدت کراتین با طول دوره ۵-۱۴ روز بررسی شده سطح سرمی کراتینین و اوره (BUN) تغییرات معناداری را نشان ندادند [۳۰، ۲۹] که نتایج این مطالعات در زمینه BUN با تحقیق حاضر همسو و در مورد کراتینین ناهمسو بود. در تحقیقی ۲۴ موش رت نر نژاد ویستار طی مدت ۱۴ روز مکمل کراتین دریافت کردند، نتایج نشان دادند که تغییرات در سطح سرمی کراتینین و BUN در مقایسه با گروه کنترل معنادار نبود [۱۱] که در مورد BUN نتایج با مطالعه اخیر همسو و در مورد کراتینین ناهمسو بود که این تحقیق از نظر مدت زمان آزمون، دوزهای مصرفی و روش کار متفاوت است، چرا که گروه‌ها در شرایط تمرین شنا قرار نداشته‌اند. در مطالعاتی دیگر اثرات مصرف بلندمدت مکمل کراتین در بازه زمانی ۱۲-۴ هفته بر روی مردها و زن‌ها بررسی شد که شاخص‌های بیوشیمیایی بافت کلیوی و کبدی تغییرات معناداری نداشتند [۳۳-۳۱] و نتایج این مطالعات در مورد شاخص‌های BUN و AST و ALT با مطالعه حاضر همخوانی داشت و با نتایج شاخص‌های کراتینین، تستوسترون و ALP تحقیق حاضر مغایرت داشت. در پژوهشی اثرات دوز بالای کراتین خوراکی روی بافت کلیوی و کبدی در موش‌های رت طی مدت ۸ هفته بررسی شد، نتایج نشان داد که میزان ALP، ALT و AST و اوره و کراتینین در گروه بی‌حرکت که کراتین دریافت کرده بودند افزایش یافته است و این در

حالی است که در رت‌های دریافت‌کننده کراتین که ورزش (شنا) کرده بودند شاهد افزایش معناداری نبودند. نتایج مطالعه بیان می‌دارد مصرف طولانی‌مدت و با دوز بالای کراتین می‌تواند برای کلیه و کبد در حالت بی‌حرکت آسیب‌زا باشد [۱۵]. در مطالعه اخیر سطح سرمی کراتینین، ALP و تستوسترون تغییرات نشان داد که با یافته‌های پژوهش مذکور در رت‌های دریافت‌کننده کراتین که ورزش شنا کرده بودند مغایرت داشت ولی در سایر موارد شاخص‌های سرمی با مطالعه فوق همسو بود، هرچند طول مدت آزمون و دوزهای اعمال شده همچنین مدت زمان تمرین شنا در تحقیق اخیر متفاوت بود. در مطالعه‌ای اثر مصرف خوراکی مکمل کراتین به مدت ۴۰ روز روی رت‌های نژاد ویستار مورد بررسی واقع شد. نتایج نشان داد که در گروه کراتین و گروه کراتین+ ورزش شاخص‌های کبدی (AST و GGT) و کلیوی (اوره و کراتینین) در سطح معناداری ( $p < 0.05$ ) افزایش یافت [۱۲]. در پژوهشی دیگر تأثیر مکمل کراتین بر روی شاخص‌های سلامتی انسان به مدت ۲۸ روز بررسی شد، نتایج نشان دادند که در هر دو گروه نسبت به گروه کنترل، BUN و کراتینین سرم افزایش معناداری یافت [۱۳] که نتایج آن در مورد کراتینین با مطالعه حاضر همسو بود اما در مورد BUN مغایرت داشت، که مطالعه ذکر شده از نظر نوع آزمون، دوزها و طول مدت مصرف و روش کار با پژوهش اخیر متفاوت است.

مطالعه حاضر نشان داد که سطح سرمی آلکالین فسفاتاز در گروه‌های تمرین داده شده همراه با دوز کم و متوسط کراتین نسبت به گروه کنترل که هیچ‌گونه تمرین و کراتین دریافت نکرده بودند و نسبت به گروه تمرین+ دوز صفر کراتین دارای تفاوت است. پژوهشی نشان داد که انجام شنای اجباری در موش‌های صحرایی نر هیچ‌گونه افزایش معنی‌داری در سطح سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز ایجاد نمی‌کند [۳۴] که با نتایج گروه تمرین دوز صفر کراتین در

مطالعه اخیر که کراتین دریافت نکرده بودند و شنا کرده بودند همسو بود. در پژوهشی کاهش معنادار ALP بر اثر مصرف کراتین همراه با انجام تمرین مقاومتی مشاهده شده است که با نتایج مطالعه حاضر در صورت تجویز دوز کم کراتین مطابقت دارد اما با دوزهای متوسط و بالای کراتین در مغایرت است [۳۵] که این ناهمخوانی ممکن است به دلیل تفاوت در نوع آزمون که در مطالعه حاضر رت‌های نر و در این پژوهش زن‌ها بوده‌اند و همچنین روش آزمون باشد.

در مطالعه حاضر نشان داده شد که سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز در تمامی گروه‌ها بیش از گروه کنترل بود، هرچند این تفاوت معنادار نبود. نتایج مطالعه بشیری و همکاران نشان داد که سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز بر اثر مصرف کراتین و نیز در صورت دریافت دو ماه تمرین مقاومتی و کراتین به صورت توأم افزایش داشت هرچند این افزایش به لحاظ آماری معنادار نبود [۳۶] که با مطالعه حاضر که سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز افزایش نیافت همسو می‌باشد. البته مطالعات از نظر نوع آزمون و روش کار متفاوت است. در مطالعه بارانی و همکاران نیز مصرف کراتین همراه با انجام تمرین‌های مقاومتی تأثیر معناداری بر سطح سرمی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز نداشت [۳۵] که با مطالعه حاضر همخوانی داشت. برخلاف یافته‌های مطالعه حاضر، یافته‌های برخی مطالعات نیز حاکی از افزایش میزان آنزیم ALT بر اثر فعالیت‌ها و تمرین‌های ورزشی بود. برای مثال، پاریک<sup>۱</sup> و همکاران تأثیر ۳۰ دقیقه بالا و پایین رفتن از پله بر میزان فعالیت آنزیم ALT, AST را معنی‌دار گزارش کردند [۳۷].

مطالعه حاضر نشان داد که تیمار دوزهای متفاوت مکمل کراتین سبب تغییرات در سطح سرمی AST در گروه‌های تمرین داده شده همراه با دوز کم کراتین، تمرین داده شده با دوز متوسط کراتین و نیز گروه

<sup>1</sup> Parikh

### محدودیت‌های پژوهش

از محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به نبود قفسه‌های متابولیک جهت جمع‌آوری ادرار موش‌های صحرائی و عدم امکان اندازه‌گیری کراتینین ادرار برای محاسبه کلیرانس کلیوی جهت بررسی دقیق‌تر عملکرد کلیه‌ها اشاره کرد.

### نتیجه‌گیری

تحقیق اخیر نشان داد که مصرف کوتاه مدت کراتین (۱۰ روز) می‌تواند موجب تغییرات در سطح سرمی شاخص‌های بیوشیمیایی کبد، کلیه و بیضه در رت‌های نر تحت تمرین شنا شود. آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه تمرین + دریافت کننده دوز کم کراتین کاهش معنادار و در گروه تمرین + دوز متوسط کراتین افزایش معناداری را نسبت به گروه کنترل و گروه تمرین + دوز صفر کراتین نشان داد، سطح سرمی کراتینین در گروه تمرین + دوز بالای کراتین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری یافت و سطح سرمی تستوسترون در گروه تمرین + دوز متوسط کراتین در مقایسه با گروه کنترل و گروه تمرین + دوز صفر کراتین بطور معناداری افزایش نشان داد. سطح سرمی آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز و ازت اوره خون در گروه‌های تجربی تغییر یافت اما این تغییرات به لحاظ آماری معنادار نبودند. با توجه به روند تغییرات مشاهده شده در شاخص‌های مذکور در اثر مصرف مکمل کراتین بهتر است جانب احتیاط در طول مدت استفاده، دوزهای مصرفی و مدت زمان تمرین ورزشی رعایت شود، البته جهت بیشتر روشن شدن اثرات کراتین بر عملکرد دستگاه‌ها و شاخص‌های بیوشیمیایی نیاز به تحقیقات بیشتری در نمونه‌های جانوری می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد با کد ۱۷۱۳۰۵۱۳۹۳۲۰۱۲ در رشته زیست‌شناسی جانوری

تمرین داده شده همراه با دوز بالای کراتین نشد. در مطالعه‌ای که توسط والدرون و همکاران انجام شد، مشخص شد که مصرف مکمل کراتین در تمرین‌ها، بر بیماری کبدی و فعالیت آنزیم‌های ALT و AST تاثیر نداشت [۳۸]. مطالعات دیگری هم‌راستا با یافته‌های والدرون و همکاران نشان داد مصرف مکمل کراتین در تمرین‌ها، بر بیماری کبدی و فعالیت آنزیم‌های ALT و AST تاثیر نداشت [۴۰، ۳۹] که با مطالعه حاضر همسو می‌باشند. مغایر با آن در پژوهش حاضر در گروه تمرین دوز صفر که بدون دریافت مکمل کراتین طی مدت ده روز روزانه ۴۵ دقیقه شنا کردند در شاخص‌های بیوشیمیایی، ALP ALT, AST, Creat, BUN و تستوسترون افزایش معناداری گزارش نشد. پژوهش حاضر نشان داد که میزان سطح سرمی تستوسترون در گروه تمرین داده شده با دوز متوسط بطور قابل توجهی افزایش یافت. مطالعه رحیمی و همکاران به بررسی مصرف کوتاه مدت مکمل کراتین بر ورزش مقاومتی پرداختند، نشان داد کراتین می‌تواند موجب افزایش ترشح هورمون تستوسترون شود [۲۰] که همسو با نتایج مطالعه حاضر بود. در پژوهش حاضر سطح سرمی تستوسترون در گروه تمرین + دوز صفر که تنها تمرین شنا کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل که تحت تمرین شنا قرار نگرفته بودند کاهش یافته است که مغایر با مطالعه رحیمی بود و نتیجه مطالعه حاضر در مورد اثر کاهشی تمرین ورزشی بر سطح سرمی تستوسترون با نتایج حاصل از مطالعه ای که نشان داد یک جلسه تمرین مقاومتی دویدن تا حد درماندگی دهنده از ادامه ورزش، باعث تغییرات معنادار در سطح تستوسترون نشده است مغایرت دارد [۴۲]. ناهمخوانی این یافته‌ها ممکن است به دلیل تفاوت در نوع و شدت تمرین و نوع آزمودنی‌ها و دوزهای متفاوت کراتین باشد.

معاونت محترم و کلیه افرادی که در اجرای این تحقیق یاری کردند، ابراز می‌دارند.

### تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

گرایش سلولی تکوینی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان در سال ۱۳۹۵ است که با حمایت‌های حوزه محترم معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان به انجام رسیده است. لذا نویسندگان مقاله کمال تشکر و قدردانی را از این

### References

- 1- Becque DM, Lochmann JD, Melrose DR. Effects of oral creatine supplementation on muscular strength and body composition. *Med Sci Sports Exerc.* 2000 Mar;32(3):654-8.
- 2- Walker JB. Creatine biosynthesis, regulation and function. *AdvEnzymolRelat Areas Mol Biol.* 1979 Jan;50:177-242.
- 3- Santos RV, Bassit RA, Caperuto EC. The effect of creatine supplementation upon inflammatory and muscle soreness markers after a 30km race. *Life Sci.* 2004 Sep; 75(16): 1917-1924.
- 4- Yanez silva A, Buzzachera F, Picarro DC, Janvario RS, Ferreira LH, MC Anulty SR, et al. Effect of low dose, short term creatine supplementation on muscle power output in elite youth soccer players. *Int J Soc Sports Nutr.* 2017 Feb; 14(1): 5-13.
- 5- Okudan N, Gokbel H. The effects of creatine supplementation on performance during the repeated bouts of supramaximal exercise. *J Sports Med Phys Fitness.* 2005 Dec;45(4):507-11.
- 6- Havenetidis K, Boone T. Assessment of ergogenic properties of creatine using an intermittent exercise protocol. *J Exerc physiol.* 2005 Feb; 8(1): 26-33.
- 7- Kocak S, Karli U. Effects of high dose oral creatine supplementation on anaerobic capacity of elite wrestlers. *Sport Med Phys Fitness.* 2003 Dec; 3(4): 488-492.
- 8- Arazi H, Garazhian Y. The effects of dietary creatine ethyl ester supplementation and resistance training on the body composition and muscular strength in underweight non-athlete males. *Iran J Nutr Sci Food Technol.* 2011 autumn; 6 (3): 59-66. [Full text in Persian]
- 9- Bird SP. Creatine supplementation and exercise performance: a brief review. *J Sports Sci Med.* 2003 Dec; 2(4): 123-132.
- 10- Shao A., Hathcock JN. Risk assessment for creatine monohydrate. *Regul Toxic Pharmacol.* 2006 Jun; 45(3): 242-251.
- 11- Bracho NC, Decastro LP, Borges ND, Laira PB. Study of renal and hepatic toxicity in rats supplemented with creatine. *Ac Cirurgica Brasil.* 2015 Apr; 30(5): 313-318.
- 12- Souza WM, Heck TG, Wron Ski EC, Ulbrich AZ, Boff E. Effects of creatine supplementation on biomarkers of hepatic and renal function in young trained rats. *Toxicol Mech Methods.* 2013 Nov; 23(9): 697-701.
- 13- Joy JM, Lowery RP, Falcone PH, Mosman MM, Roxanne M, Vogel RM, et al. 28 days of creatine nitrate supplementation is apparently safe in healthy individuals. *J Int Soc Sports Nutr.* 2014 Dec;11(1):60.
- 14- Kreider RB. Creatine supplementation: analysis of ergogenic value, medical safety, and concerns. *J Exerc Physiol Online.* 1998 Apr ;1(1):7-18.
- 15- Souza RA, Miranda H, Xavier M, Rodigo A, Osorio L, Gouvea HA, et al. Effect of high-dose creatine supplementation on Kkidney and liver responses in sedentary and exercised rats. *J Sport Sci Med.* 2009 Dec; 8(4): 672-681.
- 16- Robinson TM, Sewell DA, Casey A, Steenge G, Greenhaff PL. Dietary creatine supplementation does not affect some haematological indices, or indices of muscle damage and hepatic and renal function. *Br J Sports Med.* 2000 Jan; 34(4):284-288.
- 17- Ardalan MR, Samadifar Z. VahediA. Creatine monohydrate supplement induced interstitial nephritis. *J Nephropathology.* 2012Apr; 1(2): 117-120.

- 18- Edmunds JW, Jayapalan S, Dimarco NM, Saboorian MH, Aukema HM. Creatine supplementation increases renal disease progression in Han: SPRD-cy rats. *Am J Kidney Dis.* 2001 Jan; 37(1):73-78.
- 19- Ferreira LG, De Toledo Bergamaschi C, Lazaretti-Castro M, Heilberg IP. Effects of creatine supplementation on body composition and renal function in rats. *Med Sci Sports Exerc.* 2005 Sep; 37(9):1525-9.
- 20- Rahimi R, Faraji H, Sheikholeslami Vatani D. Influence of short-term creatine supplementation on hormonal responses to resistance exercise. *Iran J Nutr sci & Food Technol.* 2010 autumn; 5(3): 39-46. [Full text in Persian]
- 21- Kashef M, Bonyan A, Rad M. The effect of consuming creatine and mixed creatine-carbohydrate supplementations on anaerobic power and cellular damage indexes (CK, LDH) in 15-18-year-old athlete boys. *J Sport Biosci.* 2012 winter; 4(13): 125-152. [Full text in Persian]
- 22- Vieira RP, Duarte AC, Santos AB, Medeiros MC, Mauad T, Martins MA, et al. Exercise reduces effects of creatine on lung. *Int J Sports Med.* 2009 Sep; 30(09):684-90.
- 23- Osorio RA, Christofani JS, D'almeida VK, Picarro IC. Reactive oxygen species in pregnant rats: effects of exercise and thermal stress. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2003 May; 135(1): 89-95.
- 24- Mirdar Sh, Arab A, Hedayati M, Hajizadeh A. The effect of pregnant rat swimming on hypoxia-inducible factor-1 level of neonatal lung. *Tehran Uni Med J.* 2012 summer; 69(12): 754-60. [Full text in Persian]
- 25- Young RE, Young JC. The effect of creatine supplementation on mass and performance of rat skeletal muscle. *Life Sci.* 2007Agu; 81(9): 710-716.
- 26- Ööpik V, Timpmann S, Medijainem L, Aleksejeva T. Effect of creatine administration on blood urea level and post exercise glycogen repletion in liver and skeletal muscle in rats. *Ann Nutr Metab.* 1996 Nov; 40(6): 359-363.
- 27- Rawson ES, Persky AM. Mechanism of muscular adaptations to creatine supplementation. *Int J Sports Med.* 2007 Sep; 8(2): 43-53.
- 28- Guyton Arthur C, Hall Juhn E. *Medical Physiology.* 2<sup>nd</sup> ed. Elsevier Inc. 1996: 1003-1006.
- 29- Armentano MJ, Brenner AK, Hedman TL, Solomon ZT, Chavez J, Kemper GB, et al. The effect and safety of short-term creatine supplementation on performance of push-ups. *Mil Med.* 2007 Mar; 172(3): 312-317.
- 30- Gotshalk LA, Kraemer WJ, Mendonca MA, Vingren JL, Kenny AM, Spiering BA, et al. Creatine supplementation improves muscular performance in older women. *Eur J Appl Physiol.* 2008 Jan; 102(2): 223-231.
- 31- Lugaresi R, Leme M, de Salles Painelli V, Murai IH, Roschel H, Sapienza MT, et al. Dose long-term creatine supplementation impair kidney function in resistance-trained individuals consuming a high-protein diet. *Int J Soc Sport Nutr.* 2013 May; 10(1):26-32.
- 32- Gualano B, Ugrinowitsch C, Novaes RB, Artioli GG, Shimizu MH, Seguro AC, et al. Effects of creatine supplementation on renal function: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Eur J Appl Physiol.* 2008 May; 103(1): 33-40.
- 33- Cancela P, Ohanian C, Cuitino E, Hackney AC. Creatine supplementation does not affect clinical health markers in football players. *Br J Sports Med.* 2008 Sep; 42(9): 731-735.
- 34- Devaki M, Nirupama R, Yajurvedi HN. Repeated acute stress alters activity of serum aminotransferases and lactate dehydrogenase in rat. *J Pharm Bioall Sci.* 2010May; 23(2): 1-4.
- 35- Barani F, Afzalpour M, Ilbeigi S, Kazemi T, Mohamadi Fard M. The effect of resistance and combined exercise on serum level of liver enzymes and fitness indicators in women with nonalcoholic fatty liver disease. *J Birjand Uni Med Sci.* 2014 summer; 21(2): 188-202. [Full text in Persian]
- 36- Bashiri J, Gaeini A. Effect of concurrent creatine monohydrate ingestion and resistance training on hepatic enzymes activity level in non-athlete males. *Iran J Endocrinol Metab.* 2010 spring; 12(1):42-47. [Full text in Persian]
- 37- Parikh DJ, Ramanathan NL. Exercise induced serum enzyme changes in untrained subjects. *Indian J Physiol Pharmacol.* 1977 Jul-Sep; 21(3):175-80.

- 38- Waldron JE, Pendlay GW, Kilgore TG, Haff GG, Peeves JS, Kilgore JL. Concurrent creatine monohydrate supplementation and resistance training does not affect markers of hepatic function in trained weight lifters. *J Exerc Physiol*. 2002 Dec; 5(1): 57-64.
- 39- Mayhew DL, Mayhew JL, Ware JS. Effects of long term creatine supplementation on liver and kidney functions in American college football players. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2002 Dec; 12(4): 453-60.
- 40- Robinson TM, Sewell DA, Casey A, Steenge G, Greenhaff PL. Dietary creatine supplementation does not affect some hematological indices, or indices of muscle damage and hepatic and renal function. *Br J Sports Med*. 2000Agu; 34(1): 284-8.
- 41- Babai AR, Salmani Nodoushan I, Babai E, Jahesh H, Dehnavieh R. The effect of on session of exhausting exercise in testosterone and progesterone of male runners. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2012Nov-Dec; 20(5): 679- 879[full text in Persian]