



اثر تمرین هوازی و ویتامین D بر بیان ژن HSP70 در بافت ریه رت‌های قرار گرفته در معرض آب اکسیژنه

میلاذ رحیمی: دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
 محمدعلی آذربایجانی: استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) m_azarbayjani@iauctb.ac.ir
 مقصود پیری: استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران
 پروین فرزنانگی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، مازندران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

تمرین هوازی،
 استرس اکسیداتیو،
 HSP70

زمینه و هدف: هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی اثر تمرین هوازی و ویتامین D بر بیان ژن HSP70 در بافت ریه رت‌های قرار گرفته در معرض آب اکسیژنه بود.

روش کار: در این پژوهش تجربی، ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ۵ گروه آب اکسیژنه (n=۶)، گروه آب اکسیژنه + ویتامین D (n=۶)، گروه آب اکسیژنه + تمرین هوازی + ویتامین D (n=۶) تقسیم شدند. برنامه تمرین هوازی نیز ۵ روز در هفته، به مدت ۸، با شیب ۱۰ درجه، سرعت ۸ متر و زمان ۳۰ دقیقه در هفته اول شروع شده و در هفته آخر شیب به ۱۰ درجه، سرعت ۲۰ متر و زمان ۶۰ دقیقه رسید. بیان ژن HSP70 با روش Real time & PCR اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تمرین هوازی و ویتامین D به تنهایی باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن HSP70 در مقایسه با گروه آب اکسیژنه شدند (p<۰/۰۵) اما اثر تعامل تمرین هوازی با ویتامین D معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد، تمرین هوازی و ویتامین D باعث بهبود استرس اکسیداتیو و التهاب بافت ریه می‌شود.

تعارض منافع: گزارش نشده است.
منبع حمایت‌کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Rahimy M, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. Effects of aerobic training and vitamin D on HSP70 gene expression in lung tissue of rats exposed to hydrogen peroxide. Razi J Med Sci. 2020;26(12):149-155.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۶/۰۹

تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۲



Original Article

Effects of aerobic training and vitamin D on HSP70 gene expression in lung tissue of rats exposed to hydrogen peroxide

Milad Rahimy, PhD Candidate, Exercise Physiology Department, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran

Mohammad Ali Azarbayjani, Professor, Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran (*Corresponding author) m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

Maghsoud Peeri, Professor, Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran

Parvin Farzanegi, Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

Abstract

Background: The purpose of present study was to investigate the effect of aerobic training and vitamin D on the gene expression of HSP70 in the lung tissue of rats exposed to oxygenated water.

Methods: In this experimental study, 30 male male Wistar rats were randomly divided into five groups of six each: oxygenated water, oxygenated water plus vitamin D, oxygenated water plus aerobic training, and oxygenated water plus aerobic training plus vitamin D. The groups underwent the respective interventions for 8 weeks. HSP70 gene expression were measured by real time and PCR.

Results: The aerobic training and vitamin D a lonely caused significant decrease in gene expression of HSP70 compared to oxygenated water ($P < 0.05$) but the interaction effect of aerobic training and vitamin D interaction did not significant.

Conclusion: It seems that aerobic training and vitamin D induce improve of oxidative stress and inflammation in lung tissue.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Keywords

Aerobic training,
Oxidative Stress,
HSP70

Received: 31/08/2019

Accepted: 01/02/2020

Cite this article as:

Rahimy M, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. Effects of aerobic training and vitamin D on HSP70 gene expression in lung tissue of rats exposed to hydrogen peroxide. Razi J Med Sci. 2020;26(12):149-155.

*This work is published under [CC BY-NC-SA 3.0 licence](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).



تولید زیاده‌تر رادیکال‌های آزاد اکسیژن شوند. در مدل‌های حیوانی، دود سیگار یا آلودگی موجب تخلیه ویتامین A شده است. کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها در مسیرهای هوایی افراد سیگاری نیز نشان داده شده است (۶). پروتئین‌های شوکی حرارتی (HSP)، پروتئین‌های بسیار محافظت‌شده سلولی هستند که در پاسخ به استرس‌های محیطی (فعالیت ورزشی) در سلول بیان می‌شوند و نقش مرکزی در ترمیم سلولی و سازگاری به استرس بازی می‌کنند (۳۰، ۳۱). ROS، الفاکنددهی قوی HSPs می‌باشد (۳۲، ۳۳). HSP70 یکی از اعضای مهم پروتئین‌های ناشی از استرس می‌باشد و بیان آن وقتی سلول یا ارگانیزم تحت شرایط پر استرس می‌باشد، تنظیم بالایی می‌شود (۳۴). نقش HSP70 در شرایط مختلفی مانند استرس اکسیداتیو، هایپوکسی، التهاب و آپوپتوز مشخص شده است. در سلول‌های اپیتلیال ریه انسان، القای HSP70 تحت شرایط پایه بیان می‌شود و در پاسخ به استرس‌ها مانند نماینده‌های سمی، فلزات، گرما و سرما تنظیم بالایی می‌شود (۳۵). بیان HSP70 به‌عنوان شاخص بالقوه برای وجود استرس اکسیداتیو می‌باشد. از آنجایی‌که بافت ریه بیشتر در معرض ROS مانند H_2O_2 قرار دارد و تأثیر استرس اکسیداتیو بر بیان HSP70، استفاده از روش یا مکملی که بتواند این تغییرات را کنترل نماید، به نظر ضروری می‌رسد. یکی از ویتامین‌هایی که ارتباط آن با HSP70 و استرس اکسیداتیو در بعضی از سلول‌ها نشان داده شده است، ویتامین D است. ویتامین D علاوه بر هومئوستازی کلسیم و متابولیسم استخوان دارای اعمال بیولوژیکی مانند القاء تمایز سلولی، مهار رشد سلول، تنظیم ایمنی و کنترل سیستم‌های هورمونی نیز می‌باشد (۸). ویتامین D نقش خود در کاهش التهاب را از طریق مهار بیان TLR4 نشان داده است (۹). آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین D، پاسخ استرس سلولی را با کم کردن تولید HSP70، کاهش می‌دهند (۱۰). بر طبق مطالعات، فعالیت ورزشی نیز قادر به کاهش استرس اکسیداتیو و تغییر در بیان ژن HSP70 می‌باشد. تمرینات ورزشی بخصوص از نوع

گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (Reactive-ROS oxygen species) مرتبط با بیماری‌های مختلفی مانند دیابت، بیماری قلبی، بیماری‌های کبدی و اختلالات کلیوی می‌باشند. گونه‌های اکسیژن شامل مولکول‌های اکسیژنی مانند سوپراکسید (O_2^- - Superoxide)، H_2O_2 و رادیکال هیدروکسیل هستند. تولید بیش از حد O_2^- و H_2O_2 ، فرایندهای سلولی را مختل می‌کند و منجر به آسیب بافت می‌شود (۱). H_2O_2 یک اکسیدان ملایم و نسبتاً پایدار است که به‌طور گسترده به‌عنوان نشانگر ROS برای ارزیابی پاسخ سلول‌ها به استرس اکسیداتیو استفاده می‌شود (۲)، زیرا قادر به نفوذ به سلول بوده، می‌تواند به راحتی از غشاهای زیستی عبور کند و باعث آسیب اکسیداتیو شود (۳). H_2O_2 اعمال سلولی حیاتی مانند رشد سلول، تکثیر و تمایز سلول را تنظیم می‌نماید و آغازکننده‌ی مرگ سلولی، آپوپتوز و نکروز، می‌باشد (۴). معمولاً در طی فرایندهای التهابی و استرس تولید می‌شود و درگیر در هدایت پیام و فعال شدن ژن‌ها می‌باشند و باعث آسیب سلول می‌شود (۵). تمام بافت‌های بدن به‌طور مداوم در معرض استرس اکسیداتیو و حضور H_2O_2 هستند. یکی از این بافت‌ها ریه می‌باشد که برخلاف بافت‌های دیگر از طریق پرفیوژن و تهویه، بیشتر در تماس با اکسیژن است. هایپوکسی به کاهش چشمگیر آدنوزین تری فسفاتاز (ATP) و تجزیه‌ی شدیدتر ATP منجر می‌شود که نتیجه‌ی آن افزایش تولید هیپوگزانتین می‌باشد. وقتی که اکسیژن از طریق تهویه یا پرفیوژن به داخل محیط ریه فرستاده می‌شود، رادیکال سوپر اکسید توسط اثر زانتین اکسیداز بر روی هیپوزانتین شکل می‌گیرد. کمبود جریان خون در ریه‌ها می‌تواند باعث پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اکسیداتیو (افزایش H_2O_2) گردد (۶). اندوتلیوم، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها از منابع اکسیدانی مهم در ریه‌ها هستند. هوای آلوده و دود سیگار موجب افزایش سطوح رادیکال‌های آزاد اکسیژن در مسیرهای هوایی انسان‌ها می‌شوند (۷) و می‌توانند باعث التهاب و رهایی بیشتر پروتئازها به دلیل

پروتکل تمرین هوازی: رت‌های دارای تمرین هوازی به‌طور روزانه به مدت ۸ هفته بر روی تردمیل دویدند، رت‌ها در هفته اول با سرعت ۸ m/min و شیب ۱۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه بر روی تردمیل تمرین کردند، در هفته دوم با سرعت ۱۲ m/min با شیب و زمان مشابه، در هفته سوم با سرعت ۱۶ m/min با شیب مشابه به مدت ۴۵ دقیقه و در چهارمین هفته با سرعت ۲۰ m/min با شیب مشابه به مدت ۴۵ دقیقه تمرین کردند. طی هفته‌های پنجم تا هشتم رت‌ها در سرعت ۲۰ m/min با زاویه ده درجه به مدت ۶۰ دقیقه هر روز تمرین داده شد (۱۱).

ویتامین D3: از ویتامین D3 با نام تجاری DITHRECOL از شرکت کاسپین ویتامین با غلظت 300000 UI/ml به شکل تزریق درون صفاقی استفاده شد. جهت رسیدن به دوز مناسب تزریق از نورمال سالین برای رقیق کردن و از دی متیل سولفوکساید (DMSO) جهت حل کردن ویتامین D3 در سالین استفاده شد. درمان با ویتامین D3 در گروه‌های دارای مداخله ویتامین D3 شامل تزریق روزانه‌ی درون صفاقی ۰/۵ میکروگرم ویتامین D3 (۱۵) به مدت ۸ هفته بود. قربانی نمودن و بافت‌برداری: ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه پروتکل و بعد از ۱۲ ساعت گرسنگی، رت‌ها با استنشاق کلروفورم بیهوش و سپس قربانی شدند. ریه‌ها به دقت جدا و بلافاصله در ازت مایع غوطه‌ور و منجمد شدند و برای آزمایشات بعدی در دمای $^{\circ}\text{C} -75$ نگهداری شدند.

سنجش ژن HSP70: بیان ژن HSP70 بافت ریه توسط روش Real time & PCR انجام شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و محلول RNA استخراج شده با آنزیم DNaseI (سیناژن) از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب‌کننده RNA پاک‌سازی شد. نسبت جذبی ۲۸۰-۲۶۰ نانومتر به شیوه اسپکترومتری برای تمامی نمونه‌های استخراج شده بین ۲-۱/۸ بود. سپس برای بررسی کیفیت RNA استخراج شده از روش الکتروفورز و ژل آگاروز ۱٪ استفاده شد. جهت سنتز cDNA، ۵ میکروگرم از هرکدام از نمونه‌های mRNA، پرایمرهای Oligo-dT و آنزیم نسخه‌برداری معکوس دستورالعمل کیت سنتز cDNA استفاده شد. از بتا اکتین به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد.

هوازی آمادگی قلبی عروقی و تنفسی را بهبود می‌بخشند. تمرین هوازی به‌طور موقت، تولید ROS را افزایش می‌دهد اما باعث کاهش بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو می‌شود و اجرای منظم تمرین هوازی در طولانی مدت بدن را در مقابل استرس اکسیداتیو محافظت می‌نماید (۱۱، ۱۲). با توجه به اثر دوگانه فعالیت بدنی بر سیستم استرس اکسیداتیو، التهاب و نقش ویتامین D به‌عنوان آنتی‌اکسیدان بر آن‌ها و از سوی دیگر عدم بررسی تعامل تمرین هوازی و ویتامین D بر بیان ژن HSP70 در بافت ریه، در پژوهش حاضر محقق در پی پاسخ به این سؤال است که آیا تمرین هوازی و ویتامین D بر بیان ژن HSP70 در بافت ریه رت‌های قرار گرفته در معرض آب اکسیژنه تأثیر دارد یا خیر؟

روش کار

در این پژوهش تجربی، ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار بالغ با وزن 20 ± 22 گرم و سن ۱۰-۸ هفته از مرکز حیوانات دانشگاه شیراز تهیه شدند. همه‌ی رت‌ها در قفس‌های پلی کربنات (۵ رت در هر قفس) در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ درصد و تحت چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت بدون محدودیت در آب و غذا نگهداری شدند. رت‌ها به مدت دو هفته قبل از شروع پروتکل با محیط سازگار شدند و سپس به‌طور تصادفی به ۵ گروه آب اکسیژنه ($n=6$)، گروه آب اکسیژنه + ویتامین D ($n=6$)، گروه آب اکسیژنه + تمرین هوازی ($n=6$)، گروه آب اکسیژنه + تمرین هوازی + ویتامین D ($n=6$) تقسیم شدند. گروه‌های دارای تمرین هوازی به مدت ۱۰ روز با دویدن بر روی تردمیل آشنا شدند. لازم به ذکر است پژوهش حاضر دارای کد کمیته اخلاق IR.KMU.REC.1396.1562 از وزارت بهداشت و آموزش پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان کرمان مرکز تحقیقات و فناوری می‌باشد.

القاء استرس اکسیداتیو: تمام رت‌ها، سه بار در هفته و در روزهای زوج به میزان 0.1 Mmol/kg از وزن بدنشان آب اکسیژنه (مرک آلمان) دریافت کردند. (۱۳، ۱۴).

سیستم تنفسی رخ دهد که می‌تواند استرس اکسیداتیو و التهاب را در بافت ریه ایجاد کند (۱۶). در مطالعه‌ی حاضر، ما به بررسی اثر ترکیب ۸ هفته تمرین هوازی و ویتامین D بر بیان ژن HSP70 در بافت ریه‌ی رت‌های قرار گرفته در معرض آب اکسیژنه پرداختیم. نتایج به دست آمده از روش اندازه‌گیری Real time PCR نشان داد HSP70 در گروه آب اکسیژنه + تمرین هوازی و گروه آب اکسیژنه + ویتامین D دارای کاهش معناداری نسبت به گروه آب اکسیژنه (کنترل) بود اما تعامل تمرین آب اکسیژنه + تمرین هوازی و ویتامین D در مقایسه با گروه آب اکسیژنه معنی‌دار نبود.

القای H_2O_2 به‌عنوان یکی از مدل‌های القای استرس اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود. گونه‌های اکسیژن واکنشی مانند H_2O_2 در طول متابولیسم طبیعی سلول تولید می‌شوند و نقش مهمی در مسیرهای سیگنالینگ بازی می‌کنند. همچنین H_2O_2 اثرات سمی ایجاد می‌کند، زیرا می‌تواند رادیکال‌های جدید تولید کند و سبب آسیب به اجزای اصلی سلولی شود (۱۷). H_2O_2 می‌تواند به‌راحتی از طریق غشای سلولی با انواع اندازه‌ی قطر سلولی به دلیل حلالیتش در هر دو محیط لیپیدی و آبی انتشار یابد، عملکردهای ضروری سلول همچون رشد، تکثیر و تمایز سلولی را تنظیم کند و یا می‌تواند باعث مرگ سلول توسط آپوپتوز یا نکروز شود (۴). علاوه بر این، نشان داده شده است که القای برونزای H_2O_2 باعث عدم تعادل بین تولید و حذف ROS می‌شود که به‌عنوان استرس اکسیداتیو تعریف شده است (۱۷). نتایج نشان داد گروه آب اکسیژنه دارای

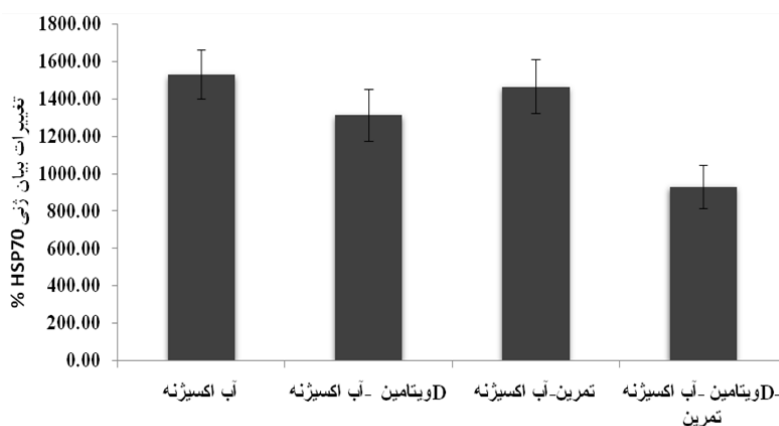
روش آماری: ابتدا طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک تایید شد. سپس جهت تعیین اثر تمرین و ویتامین D به تنهایی و اثر تعاملی تمرین و ویتامین D بر متغیر HSP70 از آزمون تحلیل واریانس دو راهه استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت، از آزمون پیگیری بن فرونی برای پیدا نمودن محل تفاوت استفاده شد. سطح معنی‌داری نیز برای تمام محاسبات ($p < 0.05$) در نظر گرفته شده است. تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام شد.

یافته‌ها

در بررسی داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دو راهه اختلاف معنی‌داری در بیان ژن HSP70 بین پنج گروه مشاهده شد ($P < 0.05$). بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون تعقیبی بن فرونی مشخص شد، تمرین اثر معنی‌داری بر غلظت HSP70 دارد ($\mu = 0.418$ ، $F = 5.74$ ، $p = 0.043$ ، اما ویتامین D معنی‌داری بر غلظت HSP70 داشت ($\mu = 0.669$ ، $p = 0.004$ ، $F = 16.17$ ، در حالی که تعامل تمرین و ویتامین D اثر معنی‌داری بر غلظت HSP70 نداشت ($\mu = 0.266$ ، $p = 0.127$ ، $F = 2.90$) (شکل ۱).

بحث و نتیجه‌گیری

سیستم تنفسی دارای تماس فیزیکی با آلاینده‌های هوا از طریق تنفس است. پس از قرار گرفتن در معرض آلودگی هوا، ممکن است مسمومیت استنشاقی در



شکل ۱- میانگین ± انحراف استاندارد تغییرات بیان ژن HSP70

ویتامین D، از طریق ویژگی آنتی‌اکسیدانی اش، HSP70 را کاهش داده است (۲۰). ویتامین D، همچنین بیان HSP را توسط مهار کانال‌های کلسیمی معین (۱۰) و نیز تنظیم بالایی سطوح گلوکوتائون، کاهش داده است (۲۳). از سویی دیگر، احتمالاً ویتامین D، جذب کلسیم را افزایش داده و موجب ترشح هورمون پاراتورمون شده است. پاراتورمون باعث افزایش غلظت کلسیم در خون می‌شود و متعاقب آن، افزایش سطوح کلسیم درون سلولی باعث کاهش HSP70 شده است (۲۰). در رابطه با تمرین هوازی، کاهش بیان ژن HSP70 در مقایسه با گروه آب اکسیژنه مشاهده شد. تولید ROS به‌طور موقت در طول تمرین افزایش می‌یابد اما با اجرای تمرین منظم کاهش می‌یابد. تمرین منظم و طولانی مدت آسیب اکسیداتیو را تضعیف می‌کند (۲۴). همچنین، تمرینی شدید، بسته به نوع، شدت و مدت زمان فعالیت، باعث آسیب بافت، استرس اکسیداتیو و راه اندازی التهاب موضعی می‌شود (۲۵). به نظر می‌رسد مناسب بودن شدت و مدت تمرین هوازی در مطالعه‌ی حاضر باعث کاهش HSP70 شده است. تعامل تمرین هوازی و ویتامین D باعث تغییر معناداری در بیان ژن HSP70 در مقایسه با گروه آب اکسیژنه نشد و از آنجایی که مطالعه‌ی در رابطه با بررسی اثر تعامل تمرین هوازی و ویتامین D بر بیان ژن HSP70 بافت ریه‌ی قرار گرفته در معرض آب اکسیژنه صورت نگرفته است نتوانستیم با نتایج مطالعه‌ی حاضر مقایسه نماییم. اما احتمالاً مسیرهای سیگنالینگ مربوط به اثرگذاری ویتامین D و تمرین هوازی، نتوانسته اند بخوبی یکدیگر را پوشش دهند.

مکمل ویتامین D و تمرین هوازی به‌طور جداگانه باعث کاهش معنادار بیان ژن HSP70 شدند اما تعامل آن‌ها اثر معناداری بر بیان ژن HSP70 نداشت. با توجه به نتایج حاصل مصرف ویتامین D و اجرای تمرین هوازی می‌تواند با ایفای نقش آنتی‌اکسیدانی باعث بهبود استرس اکسیداتیو و التهاب بافت ریه شود.

References

1. Dong Z, Yuan Y. Accelerated inflammation and oxidative stress induced by LPS in acute lung injury: Inhibition by ST1926. *Int J Mol Med*.

میانگین بیان ژن HSP70 بیشتری نسبت به گروه‌های دیگر می‌باشد. H₂O₂ تولید HSP70 را تحت تأثیر خود قرار داده است. پروتئین‌های HSP، نقش کلیدی در حفظ سلول‌ها در وضعیت هومئوستاتیک طبیعی و برگشت به حالت اولیه‌ی سلول‌ها از آسیب، بازی می‌کنند (۳۰). HSP در سلول دو عملکرد اصلی دارد: اول اینکه تحت شرایط فیزیولوژیکی، به‌عنوان نگهبان‌های مولکولی هستند که در ساخت و ترشح پروتئین‌ها شرکت داشته و به‌علاوه از تجزیه آن‌ها نیز جلوگیری می‌کنند و در نقل و انتقالات بین سلولی نیز شرکت می‌کنند. دومین عملکرد این پروتئین‌ها، در پاسخ به استرس‌های سلولی نظیر دما، رادیکال‌های آزاد، عفونت و پروسه، باکتریایی و ایسکمی است که این استرس‌ها ساختار سوم پروتئین را تخریب می‌کنند و باعث القای بیان HSP شوند این پروتئین‌ها با ترمیم و بازسازی پروتئین‌های آسیب‌دیده، به بهبود و رهایی سلول از استرس‌های کشنده کمک می‌کنند و همچنین باعث حفاظت از سلول در حملات بعدی می‌شوند. تولید HSPs معمولاً موقتی می‌باشد به استثنای زمانی که آسیب وجود داشته باشد که به مدت طولانی تولید می‌شوند. از آنجایی که هومئوستازی HSP برای عمل درون سلولی مهم می‌باشد، سنتز در سطح بیان از طریق سرکوب بیان ژن شوکی حرارتی تنظیم می‌شود (۱۸). با وجود این، تعداد زیادی از گزارش‌ها بیان کرده اند، ROS و RNS درگیر در تنظیم HSP70، از طریق مسیر HAK/ATAT بوجود می‌آیند (۱۹). استرس اکسیداتیو باعث افزایش NFκB می‌شود که خود یکی از دلایل فعال شدن HSP70 می‌باشد (۲۰). تنظیم بالایی HSP70، فعالیت NADPH اکسیداز را که منبع اصلی ROS سلولی می‌باشد را مهار می‌نماید (۲۱، ۲۲). با افزایش ROS، بیان ژن HSP70 افزایش می‌یابد تا بتواند فعالیت NADPH اکسیداز را که منبع اصلی ROS سلولی می‌باشد را مهار نماید (۲۱، ۲۲). از این رو گروه آب اکسیژنه، میانگین بالاتری از بیان ژن HSP70 را در مقایسه با گروه‌های دیگر نشان داده است. ویتامین D نیز در مقایسه با گروه آب اکسیژنه موجب کاهش بیان ژن HSP70 در بافت ریه شده است. نجمینی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند بین بیان ژن HSP70 و ویتامین D رابطه‌ی معکوسی وجود دارد (۲۰).

2018;41(6):3405-21.

2. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: the evolution of a concept. *Redox Biol.* 2015;6:524-51.

3. Cui K, Luo X, Xu K, Murthy MV. Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants. *Progress Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry.* 2004;28(5):771-99.

4. Park WH. The effects of exogenous H₂O₂ on cell death, reactive oxygen species and glutathione levels in calf pulmonary artery and human umbilical vein endothelial cells. *Int J Mol Med.* 2013;31(2):471-6.

5. Adler V, Yin Z, Tew KD, Ronai Ze. Role of redox potential and reactive oxygen species in stress signaling. *Oncogene.* 1999;18(45):6104.

6. Andrade Júnior DRd, Souza RBd, Santos SAd, Andrade DRd. Oxygen freeradicals and pulmonary disease. *J Brasil Pneumol.* 2005;31(1):60-8.

7. Ho JC-m, Zheng S, Comhair SA, Farver C, Erzurum SC. Differential expression of manganese superoxide dismutase and catalase in lung cancer. *Cancer Research.* 2001;61(23):8578-85

8. Adamczak DM. The role of toll-like receptors and vitamin d in cardiovascular diseases—a review. *Int J Mol Sci.* 2017;18(11):2252.

9. Fitch N, Becker AB, HayGlass KT. Vitamin D [1, 25 (OH) 2D₃] differentially regulates human innate cytokine responses to bacterial versus viral pattern recognition receptor stimuli. *J Immunol.* 2016:1500460.

10. Brewer LD, Thibault V, Chen K-C, Langub MC, Landfield PW, Porter NM. Vitamin D hormone confers neuroprotection in parallel with downregulation of L-type calcium channel expression in hippocampal neurons. *J Neurosci.* 2001;21(1):98-108.

11. Husain K, Hazelrigg SR. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: effect of regular exercise on the heart. *Biochim Biophysic Acta (BBA)-Molr Bas Dis.* 2002;1587(1):75-82.

12. Krüger K, Reichel T, Zeilinger C. Role of heat shock proteins 70/90 in exercise physiology and exercise immunology and their diagnostic potential in sports. *J Appl Physiol.* 2019;126(4):916-27.

13. Radák Z, Sasvári M, Nyakas C, Pucsok J, Nakamoto H, Goto S. Exercise preconditioning against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in proteins of rat myocardium. *Arch Biochem Biophys.* 2000;376(2):248-51.

14. Li SF, Liu HX, Zhang YB, Yan YC, Li YP. The protective effects of alpha-ketoacids against oxidative stress on rat spermatozoa in vitro. *Asian J Androl.* 2010;12(2):247-56.

15. Halder SK, Sharan C, Al-Hendy A. 1, 25-

dihydroxyvitamin D₃ treatment shrinks uterine leiomyoma tumors in the Eker rat model. *Biol Reprod.* 2012;86(4):116, 1-10.

16. Møller P, Jacobsen NR, Folkmann JK, Danielsen PH, Mikkelsen L, Hemmingsen JG, et al. Role of oxidative damage in toxicity of particulates. *Free Rad Res.* 2010;44(1):1-46.

17. Quincozes-Santos A, Bobermin LD, Latini A, Wajner M, Souza DO, Gonçalves CA, et al. Resveratrol protects C6 astrocyte cell line against hydrogen peroxide-induced oxidative stress through heme oxygenase 1. *PloS One.* 2013;8(5):e64372.

18. Han SG, Castranova V, Vallyathan V. Heat shock protein 70 as an indicator of early lung injury caused by exposure to arsenic. *Mol Cell Biochem.* 2005;277(1-2):153-64.

19. Madamanchi NR, Li S, Patterson C, Runge MS. Reactive oxygen species regulate heat-shock protein 70 via the JAK/STAT pathway. *Arteriosclerosis Thrombos Vasc Biol.* 2001;21(3):321-6.

20. Njemini R, Smitz J, Demanet C, Sosso M, Mets T. Circulating heat shock protein 70 (Hsp70) in elderly members of a rural population from Cameroon: association with infection and nutrition. *Arch Gerontol Geriatr.* 2011;53(3):359-63.

21. Chen F, Haigh S, Yu Y, Benson T, Wang Y, Li X, et al. Nox5 stability and superoxide production is regulated by C-terminal binding of Hsp90 and CO-chaperones. *Free Rad Biol Med.* 2015;89:793-805.

22. Li X, Yu Y, Gorshkov B, Haigh S, Bordan Z, Weintraub D, et al. Hsp70 suppresses mitochondrial reactive oxygen species and preserves pulmonary microvascular barrier integrity following exposure to bacterial toxins. *Frontiers Immunol.* 2018;9.

23. Park JW, Moon C, Yun S, Kim SY, Bae YC, Chun M-H, et al. Differential expression of heat shock protein mRNAs under in vivo glutathione depletion in the mouse retina. *Neurosci Lett.* 2007;413(3):260-4.

24. Sallam N, Laher I. Exercise modulates oxidative stress and inflammation in aging and cardiovascular diseases. *Oxid Med Cell Long.* 2016;6.

25. Smith LR, Meyer G, Lieber RL. Systems analysis of biological networks in skeletal muscle function. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine.* 2013;5(1):55-71.