

تأثیر یک جلسه فعالیت ورزشی هوازی تداومی و تناوبی بر پاسخ HSP₇₂ کورتیزول و کراتین کیناز خون

مجید امانی*، دکتر عباسعلی گایینی**، دکتر مجید کاشف***، سجاد کرمی****

دریافت: ۹۱/۱۲/۴ ، پذیرش: ۹۲/۴/۱۷

چکیده:

مقدمه و هدف: پروتئین‌های شوک گرمایی (HSP) به توانایی سلول‌ها برای حفظ ساختار خود در برابر استرس‌های متفاوت کمک می‌کنند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر یک جلسه فعالیت ورزشی هوازی تداومی و تناوبی بر پاسخ HSP₇₂، کورتیزول و کراتین کیناز (CK) خون بود.

روش کار: این مطالعه از نوع نیمه تجربی بود که در آن ۲۱ دانشجوی پسر ورزشکار به سه گروه برابر تداومی، تناوبی و کنترل تقسیم شدند. پروتکل فعالیت گروه تداومی شامل یک ساعت دویدن با شدت ۸۰٪ ضربان قلب بیشینه و ۳ مرحله دویدن ۲۰ دقیقه‌ای با همان شدت برای گروه تناوبی بود. نمونه‌های خونی پایه، پیش از فعالیت، بلافاصله پس از فعالیت و ۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی گرفته شد و مقادیر HSP₇₂، کورتیزول و CK به ترتیب با روش‌های الیزا، RIA و آنزیماتیک سنجیده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آنالیز واریانس در اندازه‌گیری‌های تکراری در سطح $P \leq 0.05$ تحلیل شد.

نتایج: سطوح HSP₇₂ در گروه تداومی و تناوبی علیرغم افزایش میانگین، از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. تغییرات بین گروهی در مراحل بلافاصله پس از فعالیت و ۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی معنی‌دار بود (مقدار P به ترتیب ۰/۰۱۷ و ۰/۰۰۲). تغییرات CK در گروه تداومی معنی‌دار بود اما تغییرات کورتیزول در مراحل مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتیجه نهایی: فعالیت ورزشی همراه با نقشی که در ارتباط با کورتیزول و CK دارد محرک HSP₇₂ بوده و تمرین تداومی باعث افزایش بیشتر HSP₇₂ شده و افزایش CK، پاسخ بزرگتر HSP₇₂ را منجر می‌شود.

کلید واژه‌ها: پروتئین‌های شوک گرمایی / کراتین کیناز / کورتیزول / ورزش هوازی

مقدمه:

بنابراین پروتئین‌های شوک گرمایی را پروتئین‌های استرسی نیز می‌نامند (۱،۲،۴). وظایف این پروتئین‌ها در بدن شامل تسهیل یکپارچگی پروتئین‌ها، انتقال پروتئین‌ها از عرض غشا سلول (۱) اتصال به پروتئین‌های تخریب شده و کمک به فعال سازی مجدد (۶،۷) ترمیم و طراحی کمپلکس‌های پروتئینی (۲) جلوگیری از انباشت پروتئین‌های ناپایدار (۸) و تسریع در بهبود سلول‌هایی که در معرض استرس‌هایی نظیر استرس گرمایی، اکسیداتیوی و غیره قرار گرفته‌اند می‌باشد (۱،۴،۵). پروتئین‌های شوک گرمایی به عنوان یک سیگنال خطر در پاسخ به افزایش کلسیم درون سلولی، افزایش اسیدیته و کاهش pH خون،

پروتئین‌های شوک گرمایی (Heat shock proteins; Hsp) برای اولین بار در سال ۱۹۶۲ توسط فروچیو ریتوزا کشف شدند و به آن‌ها به عنوان مجموعه پروتئین‌هایی که تظاهر آن‌ها در اثر شوک گرمایی و مجموعه استرس‌های دیگر است، اشاره شده است (۱). این پروتئین‌ها در هر دو سوی سلول‌های هسته‌دار و فاقد هسته وجود دارند که شاخص محافظتی بالای آن‌ها را نشان می‌دهد (۲،۳). در حال حاضر به خوبی مشخص شده است که در پاسخ به شوک گرمایی و یا سایر عوامل استرس‌زا، سلول‌ها با سنتز سریع پروتئین‌های شوک گرمایی از خود محافظت می‌کنند (۴،۵)

* مربی گروه فیزیولوژی ورزش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ازن (amani.m.ep@gmail.com)

** استاد گروه فیزیولوژی دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران

*** استاد گروه فیزیولوژی دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی

**** کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش

می‌رسد تغییر فاکتورهای متابولیکی حین فعالیت ورزشی و برخی از فاکتورهای عصبی-هورمونی مانند کورتیزول می‌تواند پاسخ HSP₇₂ را تحریک کنند. بنابراین، ممکن است استرس ناشی از فعالیت ورزشی به واسطه افزایش کورتیزول نمود پیدا کند و منجر به پاسخ HSP₇₂ شود. کورتیزول هورمونی استروئیدی است که از قشر فوق کلیوی در پاسخ به افزایش ACTH و فعالیت ورزشی بلند مدت ترشح می‌شود و بافت‌هایی نظیر عضلات اسکلتی، بافت چربی و کبد را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۶-۲۴). چنین به نظر می‌رسد که تغییر کورتیزول می‌تواند سطوح HSP₇₂ خون را تغییر دهد. در همین ارتباط باسو و همکاران نشان دادند که کورتیزول سطوح HSP₇₂ را به دنبال استرس در بافت ماهی تعدیل می‌کند (۲۷) و پتهام و همکاران مشاهده کردند که افزایش سطوح HSP₇₂ با سطوح بیشتر کورتیزول همراه می‌باشد (۲۶) این یافته‌ها حاکی از آن است که کورتیزول واسطه مهمی در افزایش سطح HSP₇₂ می‌باشد (۲۵،۲۶) لیو و همکاران بیان کردند، مشخصه آسیب عضلانی افزایش سطوح CK پلازما است که این موضوع با افزایش HSP₇₂ درون عضلانی مرتبط است (۲۸) و همچنین HSP₇₂ ممکن است اثر محافظتی بر آسیب عضلانی داشته باشد (۱۷) پولسن و همکاران بیان کردند که میزان بالای سطوح HSP₇₂ در بخش میوفیبریلی نشان دهنده نقش حمایتی این پروتئین‌ها در جلوگیری از آسیب‌های درون عضلانی می‌باشد (۷). مشاهده شده است با افزایش سطح بیان HSP₇₂، رهایی CK حین یک دوره تمرینی کاهش می‌یابد (۱۷) و HSP₇₂ در سازگاری عضله برای محافظت از آسیب عضلانی درگیر است (۲۹) پاسخ HSP₇₂ به عنوان یک شاخص استرس سلولی می‌تواند اطلاعات مفید و مناسبی را جهت نظارت بر حجم و شدت تمرین فراهم نماید. بیشتر مطالعات، تمرینات تداومی طولانی مدت نظیر دوچرخه سواری و همچنین تمرینات مقاومتی برون‌گرا را مورد بررسی قرار داده‌اند و فقدان بررسی پاسخ این پروتئین‌ها به سایر تمرینات از جمله تمرینات تناوبی به عنوان جزء مهمی از تمرینات رشته‌های ورزشی به وضوح آشکار است. با توجه به موارد مطرح شده فرض ما این بود که شدت و مدت فعالیت ورزشی بواسطه نقشی که می‌تواند در تغییرات هورمون کورتیزول و CK داشته باشد می‌تواند بر پاسخ HSP₇₂ سرم پس از فعالیت

ایسکمی (۵) تغییرات در شارژ انرژی (۸) هایپوکسی و تخریب پروتئینی (۹) هورمون‌های استرسی نظیر کورتیزول (۱۰) رادیکال آزاد (۷) ورزش و فعالیت‌بدنی (۱۰) تولید شده و در وهله اول نقش حفاظت از سلول را به عهده دارند (۱). نقش مثبت HSPs در ورزش و فعالیت بدنی به دلیل عملکردهای حفاظتی از بافت‌ها، بخصوص بافت عضلانی مشخص شده است به طوری که می‌توان از آن‌ها به عنوان عامل مثبت اثرگذار در عملکرد ورزشی یاد کرد (۱۰،۱۱). پروتئین‌های شوک گرمایی بر اساس وزن مولکولی‌شان نامگذاری می‌شوند که HSP₇₂ یکی از معروفترین و در عین حال شاخص‌ترین آن‌ها است که وزن مولکولی آن ۷۲ کیلوالتون می‌باشد (۲،۴،۵،۱۰). بسیاری از استرس‌های یاد شده هنگام ورزش و فعالیت-بدنی علاوه بر افزایش دمای مرکزی بدن، سیگنال‌های دیگری را فعال می‌کنند که می‌توانند بطور بالقوه تظاهر HSPs را فعال کرده و در نتیجه این پروتئین‌ها از طیف وسیعی از سلول‌ها به درون جریان خون رها شوند (۱۰،۱۲). تاثیر فعالیت ورزشی به عنوان استرس بر این پروتئین‌ها در نمونه‌های انسانی و حیوانی مورد بررسی قرار گرفته است که می‌توان به افزایش مقادیر این شاخص پس از دویدن در حیوانات (۱۳،۱۴) و در انسان‌ها (۱۵) دوچرخه سواری (۱۶) قایقرانی (۱۷) و تمرینات سرعتی تناوبی (۱۸) اشاره کرد. اوگاتا و همکاران مشاهده کردند که در پاسخ به تمرینات طولانی مدت، سطوح HSP₇₂ افزایش می‌یابد (۱۴) کایانی و همکاران نیز افزایش معنی‌دار HSP₇₂ را در عضلات موشهای تمرین کرده پس از تمرینات شدید مشاهده کردند (۱۹) پیک و همکاران در پژوهشی نشان دادند دویدن با شدت بالا نسبت به دویدن با شدت متوسط افزایش بیشتر سطوح HSP₇₂ را منجر می‌شود (۲۰) نتینگ و همکاران مشاهده کردند سطوح HSP₇₂ در عضله اسکلتی افراد خوب تمرین کرده کاهش می‌یابد و به فشار تمرین بر پاسخ HSP₇₂ دلالت می‌کند (۲۱). برخی تحقیقات نیز عدم افزایش HSP₇₂ را پس از یک جلسه تمرین نشان دادند. نتایج پژوهش شاستری حاکی از عدم افزایش HSP₇₂ پس از یک ساعت دویدن بر روی نوارگردان با شدت ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود (۲۲) خاسف گزارش کرده است که ۴۵ دقیقه ورزش غیر آسیب‌زا میزان HSP₇₂ را تا ۶ روز پس از ورزش بطور معنادار افزایش نداده است (۲۳) در مجموع به نظر

ورزشی تاثیرگذار باشد. بنابراین سوال اصلی این مطالعه این است که آیا یک ساعت دویدن می تواند بر پاسخ HSP72 بواسطه تغییرات کورتیزول و کراتین کیناز خون پس از فعالیت ورزشی اثر گذار باشد.

روش کار:

مطالعه حاضر از نوع نیمه تجربی است که به شکل میدانی با ۲ گروه تجربی و یک گروه کنترل به اجرا در آمده است. برای انجام این مطالعه ۲۱ نفر از دانشجویان تربیت بدنی بصورت داوطلبانه انتخاب و بطور تصادفی به سه گروه تمرین تداومی (۷ نفر)، تناوبی (۷ نفر) و گروه کنترل (۷ نفر) تقسیم شدند. بر اساس اطلاعات بدست آمده از پرسشنامه سلامت و پرسشنامه فعالیت بدنی r-Par-Q آزمودنی‌ها سابقه بیماری خاصی نداشته و در سه ماه گذشته از هیچگونه مکمل کربوهیدراتی، اسید آمینه‌ای، کافئینی، آنتی‌اکسیدانی استفاده نکرده و سابقه مصرف الکل و تنباکو را نداشتند. شرایط شرکت در مطالعه، مشکلات احتمالی و تعداد دفعات خونگیری بطور کامل و واضح برای آزمودنی‌ها توضیح داده شد و از آن‌ها برای شرکت رضایتنامه آگاهانه گرفته شد. پس از کسب رضایت‌نامه و همچنین تاییدیه معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی تهران، متغیرهای آنروپومتریکی اندازه‌گیری شدند. قد و وزن آزمودنی‌ها با استفاده از ترازوی پزشکی مجهز به قد سنج (۲۲۰ seca ساخت کشور آلمان) شاخص توده بدن نیز از فرمول Kg/m^2 محاسبه و درصد چربی آزمودنی‌ها با استفاده از فرمول هفت نقطه‌ای (مجموع چین پوستی هفت نقطه: سه سر بازو، تحت کتفی، دوسر بازو، فوق خاصره، فوق خاری، شکم، ران) با استفاده از کالیپر اسلیم گاید ساخت کشور آمریکا اندازه‌گیری و محاسبه و حداکثر اکسیژن مصرفی ($\text{VO}_{2\text{max}}$) با استفاده از پروتکل بروس تعیین شد.

پروتکل فعالیت ورزشی برای گروه تداومی شامل ۶۰ دقیقه دویدن بر روی نوارگردان بدون شیب با شدت ۷۵-۸۰ درصد ضربان قلب بیشینه و پروتکل گروه تناوبی شامل سه مرحله دویدن ۲۰ دقیقه‌ای بر روی نوارگردان بدون شیب با شدت ۷۵-۸۰ درصد ضربان قلب بیشینه، با تناوب‌های استراحتی ۵ دقیقه راه رفتن بین هر تناوب بود. گروه کنترل نیز بدون داشتن برنامه تمرینی در محیط آزمون قرار گرفتند.

دمای آزمایشگاه 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت

نسبی 50 ± 40 درصد تنظیم شد (۲۹) پس از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی شبانه از هر آزمودنی ۸ سی‌سی خون سیاهرگی، از ورید دست غیر برتر، توسط پزشک گرفته شد. پس از مرحله خونگیری اولیه، آزمودنی‌های سه گروه به صرف صبحانه‌ای استاندارد دعوت شدند. صبحانه‌ای استاندارد تلقی می‌شود که دست کم حاوی ۳۰۰ کیلوکالری انرژی باشد. در این مطالعه صبحانه حاوی تقریباً ۳۱۵ کیلوکالری (کربوهیدرات ۵۰٪، پروتئین ۲۰٪، چربی ۳۰٪) حدوداً ۴۵ گرم نان، ۱۵ گرم کره و یک لیوان آب جوش بود (۳۰). پس از گذشت یک ساعت، نمونه خونی پیش از فعالیت به حجم ۸ سی‌سی از تمامی آزمودنی‌ها گرفته شد. آزمودنی‌ها ابتدا به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵ کیلومتر در ساعت مرحله گرم کردن را روی نوار گردان انجام دادند سپس سرعت نوارگردان تا زمانی که ضربان قلب آزمودنی‌ها به ۸۰ درصد ضربان قلب بیشینه خود برسد به صورت تدریجی افزایش یافت و هر یک به مدت یک ساعت و با شدتی در دامنه ۸۰ درصد ضربان قلب بیشینه بر روی نوار گردان بدون شیب به فعالیت پرداختند. پس از اتمام فعالیت، از همه آزمودنی‌ها نمونه خونی گرفته شد. بلافاصله پس از سومین نمونه‌گیری، آزمودنی‌ها به استراحت غیرفعال پرداختند، و پس از ۹۰ دقیقه آخرین مرحله نمونه‌گیری از آزمودنی‌ها به حجم ۸ سی‌سی بعمل آمد.

از نمونه‌های خونی گرفته شده که برای اندازه‌گیری متغیرها به آزمایشگاه فرستاده شده بود، ۶ سی‌سی به صورت لخته جهت تهیه سرم (لخته حدود ۲۰ دقیقه در دمای محیط مانده و ۱۰ دقیقه با دور 2500 rpm سانتریفیوژ شد) و ۲ سی‌سی جهت تهیه پلاسما درون لوله محتوی EDTA ریخته و چند دقیقه آرام مخلوط شد، سپس پلاسما در دور 3000 rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم در چند لوله و پلاسما در یک لوله برای انجام آزمایش آماده و در دمای -20 درجه سانتیگراد نگهداری شد. برای تعیین میزان HSP72 سرم به روش الایزا و با استفاده از (کیت سنجش HSP72: (HSP70 high sensitivity EIA kit ADI-EKS-715) ساخت کشور آمریکا) دستگاه الایزا ریدر (مدل استاتنی ۲۱۰۰ اوارنس ساخت کشور آمریکا) و دستگاه اتوآنالایزر (مدل هیتاچی ۹۱۲ ریشه ساخت کشور آلمان) شناسایی شد. بدین ترتیب که ابتدا چاهک‌های پلیت با ۱۰۰

تغییرات HSP72، کورتیزول و کراتین کیناز به صورت میانگین و انحراف معیار در جداول ۴-۱ ارائه شده است. هیچگونه تفاوت معنی‌داری در مقادیر سطوح پایه متغیرها بین سه گروه مورد مطالعه وجود نداشت که این امر حاکی از همسان بودن گروه‌ها قبل از اجرای کار بود.

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار ویژگی‌های عمومی آزمودنی‌ها

تداومی	تناوبی	کنترل	تعداد
۷	۷	۷	۷
۲۰/۵۷±۰/۹۷	۱۹/۴±۰/۷	۲۰/۴۲±۱/۹	سن (سال)
۱۷۹±۳/۲۶	۱۷۶±۲/۹۴	۱۷۷±۲/۹۶	قد (سانتیمتر)
۷۳/۳±۴/۳۱	۷۰±۳/۳	۷۲/۷±۳/۰۴	وزن (کیلوگرم)
۲۲/۸±۱/۰۵	۲۲/۶±۱/۳	۲۳/۱۸±۱/۲۳	شاخص توده بدن (kg/m ²)
۵۵/۷۳±۳/۴۴	۵۵/۸±۳/۶	۵۲/۱±۳/۳۱	حداکثر اکسیژن مصرفی (ml/kg/min)
۱۲/۷۲±۳/۶۵	۱۲/۳±۱/۰۲	۱۲/۹۲±۱/۰۹	چربی بدن (درصد)

نتایج آزمون تحلیل واریانس در اندازه‌گیری‌های مکرر نشان داد، اختلاف پاسخ HSP72 به تمرین تداومی و تمرین تناوبی در مراحل مختلف معنی‌دار نبود، این شاخص در همه مراحل نسبت به مرحله پایه افزایش غیر معنی‌داری داشت (جدول ۲).

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار مقادیر HSP72 سرم (نانوگرم در میلی لیتر) سه گروه در مراحل مختلف مطالعه

پایه	پیش از فعالیت	بلافاصله پس از فعالیت	۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی
۰/۴۷±۰/۳۰	۰/۵۲±۰/۳۴	۰/۵۳±۰/۳۳	۰/۷۰±۰/۱۷
۰/۵۱±۰/۳۷	۰/۵۴±۰/۳۶	۰/۶۲±۰/۲۲*	۰/۸۳±۰/۳۶*
۰/۳۹±۰/۰۶	۰/۳۷±۰/۱۳	۰/۳۸±۰/۱۶	۰/۳۸±۰/۱۱

* در سطح $P \leq 0.05$ معنادار است.

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ویژه کورتیزول حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مختلف مطالعه بود (جدول ۳) همچنین در مقایسه بین گروهی در فاکتور کراتین کیناز، علیرغم افزایش میانگین در گروه تداومی از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴).

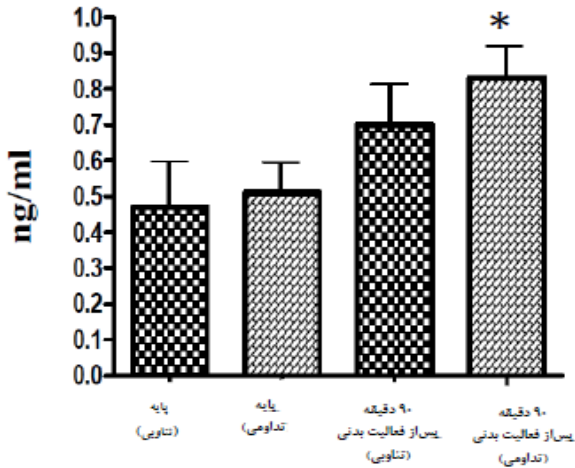
میکرولیتر از محلول رقیق شده در بافر PBS پوشانده شد سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استاندارد به چاهک‌ها اضافه شد. همچنین ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه HSP72 به چاهک اضافه شد. بعد از قرار دادن پوشش پلیت بر روی آن، انکوباسیون در دمای محیط به مدت ۲ ساعت بر روی شیکر با دور ۴۰۰ rpm انجام شد. بعد از ۴ بار شستشو، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده آنتی‌بادی پلی کلونال ویژه HSP72 به عنوان آنتی‌بادی لایه دوم اضافه گردید. بعد از قرار دادن پوشش پلیت بر روی آن، انکوباسیون در دمای محیط به مدت یک ساعت بر روی شیکر با دور ۴۰۰ rpm انجام شد. پس از ۴ بار شستشو ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده آنتی‌بادی کنژوگه با آنزیم Horseradish peroxidase ضد آنتی‌بادی خرگوش (Anti Rabbit IgG) به هر چاهک اضافه شد، پلیت در درجه حرارت اتاق روی شیکر با دور ۴۰۰ rpm به مدت یک ساعت قرار داده شد. بعد از شستشو و اضافه کردن تترا متیل بنزیدین (TMB) بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط بر روی شیکر با دور ۴۰۰ rpm با اضافه کردن اسید هیدروکلریک یک نرمال واکنش آنزیمی متوقف گردید. میزان جذب نور (OD) در طول موج ۴۵۰ نانومتر در دستگاه الایزا ریدر معین شد سپس با استفاده از منحنی استاندارد غلظت HSP72 در سرم برحسب ng/ml تعیین گردید. برای تعیین کورتیزول پلاسما از روش RIA و با کیت Immunotech ساخت کشور فرانسه، برای تعیین میزان کراتین کیناز سرم از روش آنزیماتیک و با کیت پارس آزمون ساخت کشور ایران استفاده شد.

آمار و آنالیز: توزیع طبیعی داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به ترتیب با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و آزمون لوین تایید شد و سپس از آزمون‌های پارامتریک استفاده شد. جهت بررسی معنی‌داری بین گروهی در مراحل مختلف مطالعه از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه با آزمون تعقیبی توکی و برای بررسی معنی‌داری درون گروهی در مراحل مختلف، از آزمون آنالیز واریانس در اندازه‌گیری‌های تکراری با آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. سطح معنی‌داری در این مطالعه $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام گرفت.

نتایج:

نتایج بدست آمده از ویژگی‌های عمومی آزمودنی‌ها،

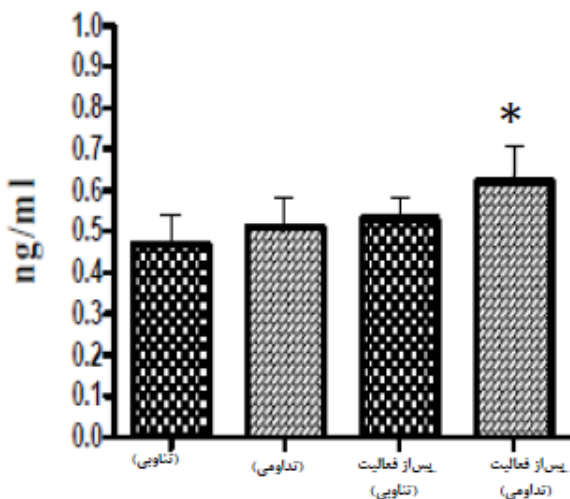
مرحله بلافاصله پس از فعالیت و ۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی معنی دار بود (مقدار P به ترتیب ۰/۰۱۷ و ۰/۰۰۲). در مراحل بلافاصله پس از فعالیت و ۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی در گروه تداومی افزایش بیشتری نسبت به گروه تناوبی داشت (شکل ۳ و ۴).



شکل ۳: تغییرات مقادیر HSP₇₂ در مرحله ۹۰ دقیقه پس از

فعالیت در گروه تناوبی و تداومی نسبت به مرحله پایه

مقادیر این شاخص در مرحله ۹۰ دقیقه پس از فعالیت در گروه تداومی افزایش معنی دار داشته است. (*) در سطح $P \leq 0.05$ معنادار است. ارزش‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار می‌باشد.



شکل ۳: تغییرات مقادیر HSP₇₂ در مرحله بلافاصله پس از

فعالیت در گروه تناوبی و تداومی نسبت به مرحله پایه

مقادیر این شاخص در مرحله بلافاصله پس از فعالیت در گروه تداومی افزایش معنی دار داشته است. (*) در سطح $P \leq 0.05$ معنادار است. ارزش‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار می‌باشد.

بحث:

یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از افزایش غیر معنی‌دار سطح سرمی HSP₇₂ در گروه تمرین تداومی و تمرین

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار مقادیر کورتیزول پلاسما (میکروگرم در دسی لیتر) سه گروه در مراحل مختلف مطالعه

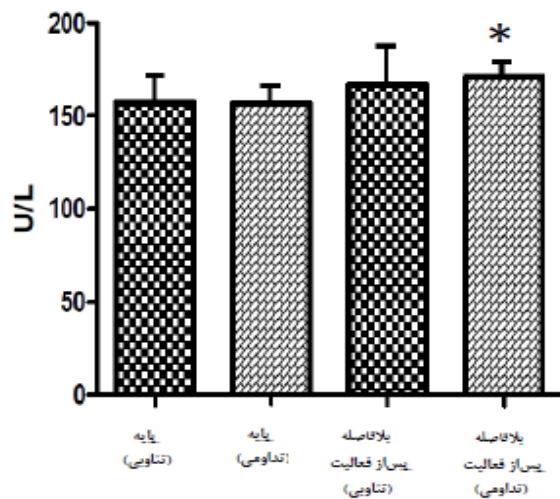
پایه	پیش از فعالیت	بلافاصله پس از فعالیت	۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی
تناوبی	۱۴/۸۲ ± ۲/۴۳	۱۴/۷۷ ± ۲/۲۷	۱۳/۱۸ ± ۲/۵۳
تداومی	۱۳/۷۸ ± ۴/۶۳	۱۳/۳۷ ± ۵/۴۰	۱۲/۱۱ ± ۵/۲۴
کنترل	۱۴/۴۲ ± ۴/۲۷	۱۴/۶۸ ± ۳/۸۱	۱۲/۵۴ ± ۴/۰۶

جدول ۴: میانگین و انحراف معیار مقادیر کراتین کیناز سرم (واحد در لیتر) سه گروه در مراحل مختلف مطالعه

پایه	پیش از فعالیت	بلافاصله پس از فعالیت	۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی
تناوبی	۱۵۷ ± ۳۶/۴۷	۱۵۴ ± ۳۱/۹۱	۱۶۱/۸۶ ± ۶۳/۵۵
تداومی	۱۵۶/۵۷ ± ۶۳/۰۷	۱۵۰/۷۱ ± ۵۷/۶۴	۱۶۲/۸۶ ± ۶۱/۶۹*
کنترل	۱۴۰/۵۷ ± ۵۱/۹۴	۱۲۸ ± ۴۶/۹۹	۱۳۰ ± ۴۴/۹۷

* در سطح $P \leq 0.05$ معنادار است

در پاسخ کورتیزول به تمرین تناوبی و تداومی در مراحل مختلف درون گروهی، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. مقادیر کراتین کیناز گروه تداومی در مرحله پایه با مرحله بلافاصله پس از فعالیت اختلاف معنی‌دار نشان داد اما در گروه تناوبی تفاوت معنی‌داری در هیچ یک از مراحل مشاهده نشد (شکل ۱).



شکل ۴: تغییرات مقادیر CK در مرحله بلافاصله پس از فعالیت

در گروه تناوبی و تداومی نسبت به مرحله پایه

مقادیر این شاخص در مرحله بلافاصله پس از فعالیت در گروه تداومی افزایش معنی دار داشته است. (*) در سطح $P \leq 0.05$ معنادار است. ارزش‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار می‌باشد.

تحقیقات می‌توان پاسخ متفاوت HSP72 در یافته‌های پژوهشی را به نوع پروتکل تمرینی و یا شدت و مدت آن نسبت داد همچنین توان جسمی افراد در پاسخ به استرس می‌تواند متفاوت باشد (۱۰). برخی شواهد حاکی است mRNA مربوط به HSP72 در عضله اسکلتی به سرعت در پاسخ به ورزش افزایش می‌یابد، در حالی که افزایش در مقادیر HSP72 تا چند ساعت پس از ورزش مشاهده نمی‌شود (۲۳). این موضوع نشان می‌دهد افزایش مقادیر HSP72 در اولین ساعات پس از آغاز تمرین استقامتی چشمگیر نیست اگرچه در مطالعه حاضر سعی شد آخرین نمونه‌گیری در ۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی انجام شود ولی پژوهش‌های مختلفی نیز افزایش مقادیر این پروتئین را با تاخیر زمانی تا چند ساعت پس از ورزش نیز گزارش کرده‌اند (۱۸،۲۳).

در پاسخ کورتیزول به تمرین تناوبی و تداومی در مراحل مختلف درون گروهی و همچنین در بین گروه‌ها، تغییر قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد. در تحقیق عبدی و همکاران (۱۰) آزمودنی‌ها به دنبال دویدن استقامتی تا حد واماندگی بر روی نوارگردان بدون شیب کاهش غیر معنی‌دار کورتیزول را در مرحله پایانی فعالیت گزارش کردند. در تحقیق استارکی و همکارانش نیز غلظت کورتیزول تغییری نکرد (۲۵) برای توجیه عدم افزایش سطح کورتیزول در این مطالعه شاید بتوان گفت که افراد فعال نسبت به افراد غیر فعال در مواجهه با تمرین حاد پاسخ کورتیزول ضعیفی از خود نشان می‌دهند (۱۰،۲۴) و عدم افزایش کورتیزول پس از تمرین می‌تواند ناشی از فعال بودن آزمودنی‌های تحقیق باشد همچنین تنها تغییر در سرعت سنتر و آزادسازی کورتیزول در تغییرات غلظت آن موثر نیست، بلکه خروج کورتیزول از پلاسما نیز می‌تواند نقش داشته باشد بعلاوه تغییرات حجم پلاسما و غلظت پروتئین‌های آن نیز بر مقادیر کورتیزول تاثیرگذار می‌باشند (۱۰،۲۴).

در ارتباط با مقادیر کراتین کیناز، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میانگین CK در هر دو گروه در مرحله بلافاصله پس از فعالیت افزایش داشت که این افزایش فقط در گروه تداومی معنی‌دار بود همچنین در مقایسه بین گروهی، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد اما در مقایسه بین میانگین‌ها در بلافاصله پس از فعالیت، گروه تداومی افزایش بیشتری نشان داد. آسیب عضلانی ایجاد شده بواسطه فعالیت ورزشی ممکن است یک سازوکار درگیر در

تناوبی در مراحل مختلف درون گروهی بود. در بررسی اختلاف سطح سرمی HSP72 بین گروه‌ها، این اختلاف در گروه تمرین تداومی و تناوبی در مرحله بلافاصله پس از فعالیت و ۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی معنی‌دار بود. در مراحل بلافاصله پس از فعالیت و ۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی در گروه تداومی افزایش بیشتری نسبت به گروه تناوبی وجود داشت. هم راستا با نتایج دیگر تحقیقات (۱۵-۱۳، ۱۰)، فعالیت ورزشی توانست باعث افزایش سطح HSP72 شود. محتمل‌ترین فاکتور برای افزایش این پروتئین‌ها افزایش دمای بدن در پی فعالیت ورزشی است که این افزایش دما می‌تواند در جریان تبدیل انرژی شیمیایی به مکانیکی آزاد شود (۱،۴،۱۰). دیگر محرک‌ها نظیر ایجاد استرس‌های اکسایشی (۸،۲۳) کاهش زیاد انرژی که اکسیداسیون سوبسترا و تخلیه گلیکوژن را به همراه دارد نیز در تحریک تولید این پروتئین‌ها اثر دارند (۸،۲۳). به نظر می‌رسد که در این مطالعه فعالیت ورزشی تداومی گرمای بیشتری را ایجاد کرده باشد و فعالیت ورزشی تناوبی با توجه به داشتن وهله‌های استراحتی ۵ دقیقه راه رفتن تولید گرمای کمتری حین فعالیت داشته است. مکانیسم افزایش این پروتئین‌ها را بر اساس پیشینه مطالعه می‌توان اینگونه ذکر کرد که هنگام مواجهه با استرس، پروتئین‌های آسیب دیده نسبت به فاکتور شوک گرمایی یک (HSF1) میل اتصال بیشتری به HSP72 دارند و با ایجاد کمپلکس با HSP72، HSF1 آزاد شده و پس از ورود به هسته رونویسی و ترجمه HSP72 آغاز می‌شود (۹). اگرچه سازوکار دقیق رهایش HSP72 به درستی مشخص نشده است اما برخی پژوهش‌ها آزاد شدن اختصاصی آن را از طریق اگزوزوم‌ها در پی استرس اعلام کرده‌اند (۸) و این گونه به نظر می‌رسد که آزاد شدن HSP72 انتخابی باشد.

نتایج این مطالعه در گروه فعالیت ورزشی تناوبی حاکی از افزایش غیر معنی‌دار مقادیر HSP72 می‌باشد که این نتیجه با گزارش آگورا و همکاران همخوانی دارد (۱۸) در توجیه این مورد می‌توان اصل سازگاری با فعالیت را مطرح کرد، زیرا در تحقیقاتی که آزمودنی‌های آن ورزشکار و از آمادگی بالایی برخوردار بودند، پاسخ HSP72 به فعالیت ورزشی کاهش داشته است (۱۵،۲۳). با وجود این، تحقیقاتی نیز عدم افزایش این شاخص را به دنبال ورزش گزارش کرده‌اند (۲۲،۲۳) با نگاه کلی به این دسته از

هنگام افزایش غیر معنی‌دار مقادیر CK در مواردی که آسیب بافتی مشهود نیست در نظر گرفته شود. در حقیقت افزایش CK سرم می‌تواند بدون آسیب سلولی هم رخ دهد (۳۱). سوم اینکه آزمودنی‌های این مطالعه را بازیکنان تیم‌های مختلف دانشگاه تشکیل داده بودند که از نظر سازگاری‌های فیزیولوژیکی از سطح خوبی برخوردار بودند و بر اساس اصل سازگاری، آسیب عضلانی همسو با پیشرفت تمرین کاهش می‌یابد که یکی از سازوکارهای درگیر در این امر می‌تواند پاسخ HSP72 باشد (۱۷) و وجود تناوب‌های استراحتی در گروه فعالیت ورزشی تناوبی، احتمالاً بر میزان پاسخ CK موثر بوده است.

نتیجه نهایی:

از مطالعه حاضر می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که هرچند انجام فعالیت ورزشی باعث افزایش HSP72 می‌شود، ولی به نظر می‌رسد این موضوع با نوع فعالیت ورزشی مرتبط باشد، به طوری که فعالیت تداومی باعث استرس ورزشی بیشتر و افزایش بیشتر HSP72 می‌شود و افزایش CK پاسخ بزرگتر HSP72 را منجر می‌شود.

سپاسگزاری:

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد است بدینوسیله از اساتید راهنما، مسئولین دانشکده و آقایان دکتر حمید رجبی، دکتر فرشید طهماسبی و همه دانشجویانی که در انجام این مهم ما را یاری داده اند بسیار سپاسگزاریم.

منابع:

1. Locke M, Noble EG, Colavecchia M, Gordon J, Hamilton K, Powers SK, et al. Exercise and stress response the role of stress proteins. Florida: CRC, 2002.
2. Belter JG, Carey H, Garland Jr. Effects of voluntary exercise and genetic selection for high activity levels on HSP72 expression in house mice. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1270-1276.
3. Bouchama A, Knochel P. Heat Stroke. *N Engl J Med* 2002; 346 (25):1978-1988.
4. Magalhaes FC, Amorim FT, Passos RL, Fonseca MA, Oliveira KP, Lima MR, et al. Heat and exercise acclimation increases intracellular levels of Hsp72 and inhibits exercise-induced increase in intracellular and plasma Hsp72 in humans. *Cell Stress and Chaperones. Cell Stress Soc Int* 2010; 15: 885-895.
5. McClung JP, Hasday JD, Juren H, Scott JM, Samuel NC, Michael NS, et al. Exercise-heat acclimation in humans alters baseline levels and ex vivo heat indelibility of HSP72 and HSP90

پاسخ HSP72 باشد (۱۰، ۱۳). مشاهده شده است که هنگام آسیب عضلانی همراه با افزایش رهایش CK در حین فعالیت ورزشی، افزایشی مشابه در HSP72 عضله اسکلتی ایجاد شده است. در حقیقت، عضله اسکلتی که آسیب را حین و یا بعد از ورزش تحمل می‌کند، CK همراه با افزایش HSP72 افزایش می‌یابد (۷، ۱۷). از آنجا که مدل ورزشی مطالعه حاضر (دویدن روی نوارگردان بدون شیب) به لحاظ ماهیتی اساساً از نوع درونگراست (۱۰) و با توجه به معنادار نبودن کراتین کیناز در گروه تناوبی احتمال کمی وجود دارد که هر گونه آسیب مکانیکی قابل توجه به عضلات وارد شده باشد. بنابراین، افزایش اندک و غیر معنادار HSP72 با تغییر غیر معنادار در سطح کراتین کیناز در گروه تناوبی بدین معنی است که افزایش HSP72 گردش خون احتمالاً مربوط به آسیب بافتی ناشی از ورزش و نشت HSP72 داخل سلولی به محیط خارج سلول نیست و بافتهای دیگری مانند کبد، و روده در افزایش آن نقش دارند (۱۰، ۱۳). با توجه به این مطالب، افزایش HSP72 گردش خون در گروه تداومی را شاید بتوان با احتیاط به افزایش کراتین کیناز نسبت داد، که این نتیجه با گزارش عبیدی (۱۰) و والش (۲۹) مغایر است و دلیل این مخالفت را شاید بتوان به تفاوت جنسیت آزمودنی‌ها و پروتکل تمرینی آنها نسبت داد. عادات ورزشی و سازگاری به تمرینات ویژه موضوع دیگری است که تا حدی می‌تواند عدم افزایش معنادار کراتین کیناز و HSP72 در گروه تناوبی در مراحل پس از فعالیت را توجیه نماید (۱۰).

در مطالعه حاضر با توجه به افزایش غیر معنی‌دار مقادیر CK در گروه تمرین تناوبی ذکر چند نکته ضروری به نظر می‌رسد. اول اینکه محقق نمونه‌های خونی را در دوره زمانی پایه، پیش از فعالیت، بلافاصله پس از فعالیت و ۹۰ دقیقه پس از اتمام فعالیت بدنی جمع‌آوری کرده است و ممکن است مدت زمان لازم برای پاسخ CK در این بازه زمانی کافی نبوده و ارزیابی تغییرات CK به زمان‌های بیشتری نیازمند باشد. دوم اینکه سلول به صورت طبیعی سطح معینی از آسیب و جراحت سلولی را دارد که از این طریق عمل اندوسیتوز و اگزوسیتوز مولکول‌های مختلف را انجام می‌دهد. فعالیت ورزشی، فعالیت اندوسیتوز و اگزوسیتوز سلول‌ها را از طریق انتقال مولکول‌های مختلف و همچنین CK از غشاء پلاسمایی افزایش می‌دهد، این تئوری می‌تواند به عنوان توضیحی مناسب

- in peripheral blood mononuclear cells. *Am J Physiol* 2007; 294: 185-191.
6. Yamada P, Amorim F, Moseley P, Schneider S. Heat Shock Protein 72 Response to Exercise in Humans. *Sports Med* 2008; 38 (9): 715-733.
 7. Paulsen G, Vissing K, Kalkhovde JM, Ugelstad I, Bayer ML, Kadi F, et al. Maximal eccentric exercise induces a rapid accumulation of small heat shock proteins on myofibrils and a delayed HSP70 response in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 293: 844-853.
 8. Febbraio MA, Steensberg A, Walsh R, Koukoulas I, Hall G, Saltip B, et al. Reduced glycogen availability is associated with an elevation in HSP72 in contracting human skeletal muscle. *J Physiol* 2002; 583(3) 911-917.
 9. Yuefei L, Larissa G, Katja N, Jürgen M. Response and function of skeletal muscle heat shock protein 70. *Frontiers Biosci* 2006; 11: 2802-2827.
 10. Abdi Hamzehkolaei H, Dabidiroshan V. Heat shock protein responses to eccentric weight or treadmill exercise in active young females. *World J Sport Sci* 2009; 2(3): 171-177.
 11. Desplanches D, Ecochard L, Sempore B, Mayet S.M, Favier R. Skeletal muscle HSP72 response to mechanical unloading: influence of endurance training. *Acta Physiol Scand* 2004; 180: 387-394.
 12. Whitham M, Fortes MB. Effect of blood handling on extracellular Hsp72 concentration after high-intensity training. *Cell Stress Chaperones* 2006; 11(4): 304-308.
 13. Gonzalez B, Manso R. Induction, modification and accumulation of hsp70s in the rat liver after acute exercise: early and late responses. *J Physiol* 2004; 556(2):369-385.
 14. Ogata T, Yasuharu O, Kazuhiko H, Mitsuru H, Muraoka I. Prolonged exercise training induces long-term enhancement of HSP70 expression in rat plantaris muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009; 296: 1557-1563.
 15. Fehrenbach E, Niess AM, Voelke K, Northoff H, Mooren FC. Exercise intensity and duration affect blood soluble HSP72. *Int J Sports Med* 2005; 26(7): 552-557.
 16. Febbraio MA, Koukoulas I. HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1055-1060.
 17. Liu Y, Mayr S, Opitz A, Zeller C, Lormes W. Human skeletal muscle HSP70 response to training in highly trained rowers. *J Appl Physiol* 1999; 86(1): 101-104.
 18. Ogura Y, Naito H, Kurosaka M, Sugiura T, Aoki J, Katamoto S. Sprint interval training induces heat shock protein72 in rat muscles. *J Sport Sci Med* 2006;5:194-201.
 19. Kayani AC, Graeme LC, Malcolm JJ, McArdle A. Prolonged treadmill training increases HSP70 in skeletal muscle but does not affect age-related functional deficits. *Am J Physiol Regul Inter Comp Physiol* 2008; 294:568-576.
 20. Peak JM, Suzuki K, Horden M, Wilson G, Nosaka K, Coombes J. Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. *Eur J Appl Physiol* 2005; 95(5-6): 514-521.
 21. Nething K, Wang L, Liu Y, Lormes W, Steinacker JM. Blunted HSP70 response to acute exercise in well trained skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36: 318.
 22. Shastry S, Toft D, Joyner M. HSP70 and HSP90 expression in leucocytes after exercise in moderately trained humans. *Acta Physiol Scand* 2002; 175: 139-146.
 23. Khassaf M, Child RB, McArdle A, Brodie D, Esanu C, Jackson M. Time course of responses of human skeletal muscle to oxidative stress induced by non-damaging exercise. *J Appl Physiol* 2001; 90: 1031-1035.
 24. Rohleder N, Wolf JM, Kirschbaum C. Glucocorticoid Sensitivity in humans-inter individual differences and acute stress effects. *Int J Biol Stress* 2003; 6(3):207-222.
 25. Starkie RL, Hargreaves M, Rolland J, Febbraio MA. Heat stress, cytokines and the immune response to exercise. *Brain Behav Immun* 2005; 19(5): 404-412.
 26. Whitham M, Gary JW, Nicolette CB. Effect of caffeine supplementation on the extracellular heat shock protein72 response to exercise. *J Appl Physiol* 2006; 101:1222-1227.
 27. Basu N, Nakano T, Grau EG, Iwama GK. The Effects of cortisol on heat shock protein 70 levels in two fish species. *Gen Comp Endocrinol* 2001; 124(1): 97-105.
 28. Liu Y, Steinacker j. Changes in skeletal muscle heat shock proteins: Pathological significance. *Frontiers Biosci* 2001; 6: 12-25.
 29. Walsh R, Koukoulas I, Grantham A, Moseley M, Hargreaves M, Febbraio MA. Exercise increases serum Hsp72 in humans. *Cell Stress Chaperones* 2001; 6(4): 386-393.
 30. Sancho A, Carvajal M. The acute effect of an energy drink on physical and cognitive performance of male athletes. *Kinesiologia Slovenica* 2005; 11(2): 5-16.
 31. Komulainen J, Takala T, Vihko V. Dose increased serum creatine kinase activity reflect exercise-induced muscle damage in rats? *Int J Sports Med* 1995; 16(3):150-154.

*Original Article***The Effect of One Session Continuous and Intermittent Aerobic Exercise on Blood Responses of HSP₇₂ , Cortisol and Creatine Kinase**

M. Amani, M.Sc.^{*}; A.A. Gaeini, Ph.D.^{**}; M. Kashef, Ph.D.^{***}; S. Karami, M.Sc.^{****}

Received: 22.2.2013

Accepted: 8.7.2013

Abstract

Introduction & Objective: Heat shock proteins help the cells' ability to keep their structures against different stresses. The purpose of this study was to investigate the effect of one session continuous and intermittent aerobic exercise on blood responses of HSP₇₂, cortisol and creatine kinase (CK).

Materials & Methods: This study is semi-experimental in which 21 male student athletes were divided in continuous group (n=7), intermittent group (n=7) and control group (n=7). Exercise protocol of continuous group included 1 hour running with 80% maximum heart rate intensity and that of intermittent group was 3 stages of 20 minute running with the same intensity as of continuous group. Blood sampling of basal, pre exercise, immediately after exercise and 90 minutes after exercise were gathered and the amounts of HSP₇₂, cortisol and CK, were measured by ELISA, RIA and Enzymatic methods respectively. The data was analyzed with one way ANOVA and repeated measure analysis of variance at P≤0.05 significance level.

Results: HSP₇₂ levels in the continuous group and intermittent group despite an increase in the average did not show a statistically significant difference. Changes between the groups were significant in immediately after exercise and 90 minutes after exercise (P.values respectively 0.017 and 0.002). CK changes in continuous group were significant but cortisol changes in different stages hadn't significant difference

Conclusion: Exercise with its role associated with cortisol and CK will stimulate HSP₇₂ and continuous exercise will make further increase in HSP₇₂ and CK increasing leads to a greater HSP₇₂ response.

(*Sci J Hamadan Univ Med Sci 2013; 20 (3):223-231*)

Keywords: Cortisol / Creatine Kinase / Exercise, Aerobic / Heat Shock Proteins

* Instructor, Department of Exercise Physiology

Islamic Azad University, Azna , Iran (amani.m.ep@gmail.com)

** Professor, Department of Physiology, School of Physical Education
Tehran University, Tehran, Iran.

*** Professor, Department of Physiology, School of Physical Education
Shaheed Rajaei University, Tehran, Iran.

**** M.Sc. in Exercise Physiology