

تأثیر تعاملی تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف ویتامین E بر سطوح سرمی Hsp70 و SOD در رت‌های نر نژاد ویستار

نازنین قاسم زاده خراسانی¹، معصومه حسینی²، بهزاد دیوکان³، شاهین ریاحی ملایری⁴

1- کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

2- نویسنده مسئول: استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: mhbisadi@yahoo.com

3- استادیار گروه مدیریت ورزشی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

4- استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: 97/7/4

تاریخ دریافت: 97/4/15

چکیده

سابقه و هدف: از جمله آنزیم‌های اکسیداتیو در موجودات زنده، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) می‌باشد که در تولید H₂O₂ نقش دارد. پروتئین شوک گرمایی (Hsp70) در شرایط استرس ایجاد شده و اثرات ضد التهابی دارد. هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید و مصرف ویتامین E بر سطوح Hsp70 و SOD در رت‌های نر بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی 32 سر موش صحرایی به طور تصادفی به 4 گروه (کنترل، مکمل، تمرین، تمرین+مکمل) تقسیم شدند. برنامه تمرینی شامل هشت هفته، هفته‌ای پنج جلسه، هر جلسه 15 دقیقه [5 دقیقه گرم کردن، 4 دقیقه تناوب شدید (95 تا 100 درصد VO₂max)، 2 دقیقه تناوب باز یافت (65 تا 75 درصد VO₂max)، 4 دقیقه سرد کردن] بود. 100 Mg/kg ویتامین E در گروه‌های مکمل به مدت 8 هفته، سه بار در هفته به صورت داخل صفاقی تجویز شد. نمونه خونی از آزمودنی‌ها گرفته شد و سطوح Hsp70 و SOD با روش الایزا اندازه‌گیری شد. از روش آماری آنالیز کواریانس استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد پس از اجرای پروتکل تحقیق سطوح Hsp70 گروه تمرین+مکمل به طور معنی‌داری بالاتر از سه گروه دیگر بود (P<0.001). سطوح SOD گروه‌های تجربی نیز در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (P<0/001).

نتیجه‌گیری: تمرین تناوبی شدید، مکمل سازی با ویتامین E و ترکیبی از دو روش فوق ممکن است از طریق تنظیم مثبت دفاع آنتی‌اکسیدانتی، اثرات حمایتی خود را در مقابل استرس اکسایشی اعمال نماید.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی شدید، ویتامین E، پروتئین شوک گرمایی 70، سوپراکسید دیسموتاز، استرس اکسیداتیو

• مقدمه

بدن شامل آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی درون زا و آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی موجود در وعده‌های غذایی می‌باشد. یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سوپراکسید دیسموتاز SOD (Superoxide dismutase) می‌باشد. فعالیت میتوکندریایی این آنزیم زیاد است و همراه با آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز (Glutathione peroxidase) GSH-Px نقش مهمی در پیشگیری از اکسایش و تخریب غشای میتوکندری‌ها ایفا می‌کند (2).

تمرین بدنی میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسید شدن چربی‌ها را افزایش می‌دهد. بخش عمده‌ای از

استرس اکسایشی شرایطی است که طی آن توازن میان مواد پراکسیدانی - آنتی‌اکسیدانی مختل می‌شود. در طی این فرایند رادیکال‌های آزاد در سطح غشای سلول ایجاد شده و سبب آسیب غشاء سلول و غشاء اندامک‌های داخل سلولی به خصوص میتوکندری‌ها می‌شود (1). رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های فیزیولوژیک برای عملکرد طبیعی سلول ضروری بوده و افزایش کم تا متوسط آنها نقش تنظیم کننده در مسیرهای پیام‌رسان سلولی دارد. موجودات زنده برای محدود کردن اثرات مضر رادیکال‌های آزاد به دستگاه آنتی‌اکسیدانی نیاز دارند (2). دامنه ضد اکسایشی فعال در

دیگر که ممکن است با گرفتن آن فاسد شده و تغییرات نامطلوبی در آنها رخ دهد، می‌کاهد. این ویتامین با دادن یک الکترون به رادیکال چربی پروکسی، تبدیل به شکلی از رادیکال آزاد می‌گردد که از طریق پدیده رزونانس بی اثر و خنثی می‌شود (11). بیوشیمی این ویتامین طوری است که پتانسیل بالای از دست دادن دومین الکترون و تبدیل به فرم کاملاً اکسیده را دارد. فسفو لیپیدهای میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی و غشاهای پلاسمایی دارای میل ترکیبی نسبت به آلفاتوکوفرول هستند. ویتامین E با اتصال به لیوپروتئین‌های غشاء سلول، از اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در برابر رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون ممانعت کرده و باعث پایداری غشای سلول می‌شود (11). مطالعات نشان داده اند ویتامین E فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داده و بعد از تمرینات شدید ورزشی باعث بازسازی سریع سلول‌های تخریب شده می‌شود (10).

با توجه به نتایج متناقض تأثیر تمرینات ورزشی مختلف بر سطوح سرمی Hsp70 و SOD و توصیه کالج پزشکی ورزشی آمریکا مبنی بر انجام تمرینات ورزشی به شیوه متناوب (12) و با توجه به این که اثرات تعاملی تمرین شدید تناوبی و مصرف ویتامین E مقوله‌ایست که کمتر مورد توجه قرار گرفته است [بیشتر مطالعات، تمرینات تداومی طولانی مدت و تمرینات مقاومتی برون‌گرا را مورد بررسی قرار داده و به بررسی آنتی‌اکسیدانت‌های دیگری مانند ویتامین C پرداخته‌اند]، هم چنین ضرورت دستیابی به اطلاعات دقیق‌تر برای تدوین برنامه‌های راهبردی در جهت ارتقاء سلامت ارگان‌های بدن، محقق با انتخاب آزمودن‌های حیوانی به دلیل امکان کنترل دقیق تر و نظارت بیشتر عوامل مداخله‌گر در نتایج تحقیق، به دنبال یافتن پاسخ این پرسش بود که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با مصرف ویتامین E چه تأثیری بر سطوح سرمی Hsp70 و SOD در رت‌های نر نژاد ویستار دارد.

• مواد و روش‌ها

روش پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس آزمون با گروه کنترل بود که در آزمایشگاه حیوانات گروه تربیت بدنی دانشکده علوم انسانی دانشگاه آزادساری در بهار سال 96 انجام شد. به این منظور 32 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با دامنه وزنی 150-200 گرم از مرکز پژوهش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی واحد ساری انتخاب و پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و آشنایی با محیط جدید، به طور تصادفی در 4 گروه زیر تقسیم شدند (8 سر در هر گروه): کنترل، مکمل

فعالیت‌های ورزشی شدید با استفاده از روش تناوبی انجام می‌شود. در این سری از فعالیت‌ها نیاز به انرژی به مراتب بیشتر است. مضافاً این که در فواصل استراحت بین تکرارها نیز، افزایش مصرف اکسیژن مشاهده می‌شود. از سوی دیگر فرایندهای کم‌خونی - تزریق مجدد خون، اتواکسیداسیون کاتکولامین‌ها، القاء فعالیت سلول‌های التهابی همچون نوتروفیل‌ها بر اثر آسیب‌های بافتی در این فعالیت‌ها، میزان تولید بیشتر گونه‌های فعال اکسیژن را تشدید می‌کند (3). نتایج تحقیقات نشان دادند 8 هفته تمرین شدید، سبب افزایش مقادیر SOD بازیکنان جوان فوتبال می‌شود (4).

پروتئین شوک گرمایی Hsp70 (heat shock protein) که پروتئین استرس نامیده می‌شود اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی دارد و در شرایط فشار سلولی و سیستمیک، بقا سلولی را تقویت کرده و از آپوپتوز (مرگ برنامه ریزی شده سلولی) جلوگیری می‌کند (5). برخی از شرایط مانند تخلیه انرژی، کمبود اکسیژن، اسیدوز، ایسکمی، گونه‌های فعال اکسیژن و التهاب ویروسی موجب افزایش نسخه برداری Hsp70 می‌شود (5). پژوهش‌ها نشان داده‌اند فعالیت ورزشی سطوح Hsp70 را در عضله اسکلتی و اندام‌های حیاتی نظیر قلب، کلیه و کبد افزایش می‌دهد (6). در تحقیقی انجام تمرینات هوازی سبب افزایش Hsp70 و SOD قلبی موش‌ها شد (7) لیکن محققان در پژوهشی دیگر پس از 12 هفته تمرین مقاومتی شاهد کاهش Hsp70 گردش خون بودند (8) Liu و همکاران هم گزارش کردند به دنبال تمرینات شدید در قایقرانان حرفه‌ای تغییر معنی‌داری در سطوح Hsp70 و ریکواری بعد از آن مشاهده نگردید (9). بنابراین، با مشاهده نتایج تحقیقات گذشته مشخص می‌شود که پروتکل‌های تمرینی مختلف و همچنین نوع فعالیت ورزشی می‌تواند در بروز سازگاری‌های سیستم ضداکسایشی بدن نقش داشته باشد.

شواهد نشان می‌دهد که تحت شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک گوناگونی از جمله ورزش شدید، تمرین در ارتفاع زیاد، عدم تحرک و بسیاری از بیماری‌ها، مواد ضد اکسایشی درون‌زا نمی‌توانند به طور کامل از آسیب اکسایشی جلوگیری کنند. چنین مواقعی نقش مواد آنتی‌اکسیدانی رژیم غذایی از قبیل ویتامین E اهمیت پیدا می‌کند. ویتامین E که نام علمی آن توکوفرول (Tocopherol) است مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان محلول در چربی است که برای عملکرد طبیعی سلول‌ها در حین ورزش ضروری است (10). توکوفرول به راحتی اکسید می‌شود و میزان اکسیژن در دسترس را برای مواد

حیوانات در فضای ویژه نمونه برداری (محیط استریل) توسط متخصصین کارآموزده، با ترکیبی از کتامین (30 تا 50 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (3 تا 5 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. سپس خونگیری از بطن چپ به میزان 5 سی سی انجام گرفته و بلافاصله در درون لوله‌های آزمایش حاوی ماده ضدانعقاد EDTA (تیلن دی آمین تترا استیک اسید) ریخته شده و در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کلیه مراحل تحقیق فوق با مجوز شماره 139427 مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری قرار گرفت.

به منظور سنجش Hsp70 از کیت‌های اختصاصی با بر چسب (Applied bio system, USA) ساخت کشور آمریکا با حساسیت 15/6 پیکوگرم بر میلی‌لیتر و با ضریب تغییرات (CV<7/3%) با روش الیزا استفاده شد و برای سنجش SOD از کیت‌های اختصاصی با بر چسب (Applied bio system, USA) ساخت کشور آمریکا با حساسیت 3/5 نانوگرم بر میلی‌لیتر و با ضریب تغییرات (CV<9/4%) با روش الیزا استفاده شد.

روش کمی و آماری: توصیف کمی داده‌ها با استفاده از شاخص‌های مرکزی و پراکنندگی از قبیل میانگین و انحراف استاندارد انجام شد. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov Smirnov) و بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین (Levine) استفاده شد. هم‌چنین برای بررسی تغییرات معنی‌داری هریک از متغیرهای تحقیق، بین گروه‌های مختلف از روش آنالیز واریانس یک راهه و آنالیز کواریانس و در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری از آزمون تعقیبی LSD جهت تعیین محل اختلاف بین گروهی استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 20 انجام گردید.

ویتامین E، تمرین (HIIT)، تمرین (HIIT) + مکمل ویتامین E

حیوانات مورد آزمایش در طی مراحل پژوهش در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف به ابعاد 30*15*15 سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد، چرخه روشنایی به تاریکی 12:12 با دمای محیطی 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت هوای 55 ± 5 درصد و هم‌چنین با تهویه مناسب و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند. مقدار 100 mg/kg ویتامین E (تولید شرکت ایران هورمون - ایران) در گروه‌های مکمل و تمرین + مکمل به مدت 8 هفته و سه بار در هفته به صورت داخل صفاقی تجویز شد (13).

پروتکل تمرینی: توان هوازی موش‌های صحرایی به طور غیر مستقیم ارزیابی شد. ابتدا 10 دقیقه گرم کردن با شدت 40 تا 50 درصد VO_{2max} (حداکثر اکسیژن مصرفی) صورت گرفت. بعد از گرم شدن، آزمون با دویدن موشها با سرعت 15 متر در دقیقه به مدت دو دقیقه شروع شد. سپس سرعت نوار گردان هر دو دقیقه یک بار به میزان 1/8 تا 2 متر بر دقیقه افزایش یافت تا حیوانات دیگر قادر به دویدن نباشند. ملاک رسیدن به VO_{2max} ، عدم افزایش VO_2 با وجود افزایش سرعت بود (14).

برنامه تمرینی (اجرای پروتکل ورزشی بر روی نوار گردان با شیب صفر) شامل هشت هفته، هفته‌ای پنج جلسه، هر جلسه 15 دقیقه شامل 5 دقیقه گرم کردن با شدت 50 درصد VO_{2max} ، 4 دقیقه تناوب شدید با شدت 95 تا 100 درصد VO_{2max} ، 2 دقیقه تناوب باز یافت با شدت 65 تا 75 درصد VO_{2max} و 4 دقیقه سرد کردن حیوانات با شدت 50 درصد VO_{2max} بود (15). جدول 1 برنامه تمرینی گروه‌های تمرین را ارائه می‌کند.

برای بررسی متغیرهای بیوشیمیایی، عمل خونگیری 48 ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی (برای از بین بردن اثرات حاد تمرینی) پس از 12 تا 14 ساعت ناشتایی، انجام شد. ابتدا

جدول 1. برنامه تمرینی گروه‌های تمرین

| گرم کردن/سرعت 50 درصد VO_{2max} | تناوب شدید/سرعت 95 تا 100 درصد VO_{2max} | تناوب باز یافت/سرعت 65 تا 75 درصد VO_{2max} | سرد کردن 50 درصد VO_{2max} |
|--------------------------------------|---|--|---------------------------------|
| شیب نوار گردان صفر درجه | | | |
| 5 دقیقه / 10 متر در دقیقه | 4 دقیقه / 15 متر در دقیقه | 2 دقیقه / 12 متر در دقیقه | 4 دقیقه |
| 5 دقیقه / 10 متر در دقیقه | 4 دقیقه / 20 متر در دقیقه | 2 دقیقه / 12 متر در دقیقه | 4 دقیقه |
| 5 دقیقه / 10 متر در دقیقه | 4 دقیقه / 25 متر در دقیقه | 2 دقیقه / 12 متر در دقیقه | 4 دقیقه |
| 5 دقیقه / 10 متر در دقیقه | 4 دقیقه / 30 متر در دقیقه | 2 دقیقه / 12 متر در دقیقه | 4 دقیقه |

• یافته‌ها

در جدول 2 وزن اولیه، وزن نهایی، تغییرات وزن، مقادیر Hsp70 و SOD موش‌های چهار گروه کنترل، تمرین، مکمل و تمرین + مکمل آورده شده است. در مقایسه بین گروهی متغیرهای وزن اولیه، وزن نهایی و تغییر وزن موش‌ها، با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>0/05$). متغیر تغییر وزن به صورت (تغییر وزن - وزن اولیه - وزن نهایی) در نظر گرفته شد.

با استفاده از آنالیز کواریانس، به منظور مقایسه متغیر Hsp70 بین گروه‌های تحقیق، با در نظر گرفتن متغیر تغییر وزن موش‌ها، اثر متقابل (گروه‌های تحقیق * تغییر وزن) از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p>0/05$). بنابراین می‌توان آنالیز کواریانس بدون اثر متقابل را به کار برد. بر این اساس در پی هشت هفته تمرین تناوبی همراه با مصرف ویتامین E اثر گروه‌های تحقیق از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P<0.001$). به عبارت دیگر متوسط HSP70 بین گروه‌ها متفاوت بود. نتایج آزمون تعقیبی LSD نشان داد مقادیر Hsp70 گروه تمرین + مکمل (9.45 ± 1.34) در مقایسه با گروه تمرین (5.82 ± 2.09)، گروه مکمل (5.95 ± 1.39) و گروه کنترل (2.0055 ± 1.024) به طور معنی‌داری بالاتر بود. هم‌چنین اختلاف آماری میان گروه کنترل با گروه تمرین و گروه مکمل وجود داشت ($P<0.001$).

نتیجه دیگر تحقیق نشان داد با استفاده از آنالیز کواریانس، به منظور مقایسه متغیر SOD بین گروه‌های تحقیق، با در نظر گرفتن متغیر تغییر وزن موش‌ها، اثر متقابل (گروه‌های تحقیق * تغییر وزن) از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p>0/05$). بنابراین می‌توان آنالیز کواریانس بدون اثر متقابل را به کار برد.

براین اساس در پی هشت هفته تمرین تناوبی همراه با مصرف ویتامین E اثر گروه‌های تحقیق از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P<0.001$). به عبارت دیگر متوسط SOD بین گروه‌ها متفاوت بود. نتایج آزمون تعقیبی LSD نشان داد مقادیر SOD گروه تمرین + مکمل (2.42 ± 1.26)، گروه تمرین (1.85 ± 0.882)، گروه مکمل (1.79 ± 0.933) در مقایسه با گروه کنترل (1.1 ± 0.024) به طور معنی‌داری بالاتر بود ($P=0.002$).

• بحث

متعاقب تمرینات ورزشی خصوصاً تمرینات شدید به دلیل عدم هماهنگی میان میزان اکسیژن دریافتی و اکسیژن مورد نیاز بافت‌ها و از سوی دیگر کاهش جریان خون موضعی و برقراری مجدد جریان خون بافتی، تولید انواع اکسیژن‌های فعال شده و رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد (8). فعالیت‌های ورزشی همانند یک تیغ دولبه عمل می‌کنند. از یک سو با افزایش فشار اکسایشی، احتمال تشکیل رادیکال‌های آزاد مضر را افزایش می‌دهند و از طرف دیگر با القای آنزیم‌های ضد اکسایشی، سبب کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شوند (1).

نتایج بررسی حاضر نشان داد که در اثر هشت هفته تمرین HIIT و مصرف ویتامین E سطوح سرمی Hsp70 در موش‌های نر به طور معنی‌داری بیشتر بود. در این رابطه پژوهشگرانی گزارش کردند، هشت هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌دار Hsp70 در موش‌های صحرایی می‌شود (16). Lawler و همکاران با بررسی تأثیر 12 هفته تمرین استقامتی بر روی نوار گردان، افزایش معنی‌داری در Hsp70 موش‌ها مشاهده کردند (17).

جدول 2. میانگین و انحراف معیار وزن اولیه، وزن نهایی، تغییرات وزن؛ Hsp70 و SOD موش‌های چهار گروه کنترل، تمرین، مکمل، تمرین + مکمل

| گروه | وزن اولیه موش‌ها (گرم) | وزن نهایی موش‌ها (گرم) | تغییرات وزن موش‌ها (گرم) | Hsp70 (پیکوگرم بر میلی‌لیتر) | SOD (نانوگرم بر میلی‌لیتر) |
|--------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|----------------------------|
| کنترل (8سر) | 182/65 ± 3/24 | 258/56 ± 2/93 | 75.75 ± 9.3 | 2.005 ± 1.024 | 1.1 ± 0.024 |
| تمرین (8سر) | 182/25 ± 1/82 | 264/73 ± 1/03 | 81.92 ± 9.7 | 5.82 ± 2.09* | 1.85 ± 0.882* |
| مکمل (8سر) | 183/26 ± 2/51 | 266/01 ± 3/18 | 83.2 ± 9.88 | 5.95 ± 1.39* | 1.79 ± 0.933* |
| تمرین + مکمل (8سر) | 183/08 ± 4/32 | 260/4 ± 2/38 | 77.59 ± 9.31 | 9.45 ± 1.34* | 2.42 ± 1.26* |
| p-value | 1 | 0/37 | 0/37 | 0.000 | 0.002 |
| | (آنالیز واریانس یک طرفه) | (آنالیز واریانس یک طرفه) | (آنالیز واریانس یک طرفه) | آنالیز کواریانس | آنالیز کواریانس |

* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل

■ تفاوت معنی‌دار با گروه تمرین + مکمل

تمامی این سازگاری‌ها را با افزایش شاخص‌های استرس اکسایشی معکوس کند (20).

احتمال دارد در پژوهش حاضر، مصرف مکمل ویتامین E و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالای آن، دلیلی دیگر در مقادیر بالاتر Hp70 گروه‌های تجربی باشد به طوری که در مطالعه‌ای گزارش شد مصرف ویتامین E منجر به افزایش معنی‌دار Hp70 می‌شود (22) Aguilu. و همکاران در تحقیق خود به ورزشکاران دوچرخه سوار توصیه می‌کنند بهتر است حین دوره بازگشت به حالت اولیه برای پیشگیری از استرس اکسایشی آلفا-توکوفرول مصرف نمایند. این نتایج نشان می‌دهد که ویتامین E در پیشگیری از تولید رادیکال‌های آزاد و در نهایت بهبود اجرای ورزشی مؤثر است (23). احتمالاً افزایش بیشتر فعالیت Hp70 در گروه تمرین مکمل، نتیجه اثر سینرژی مصرف ویتامین E همراه با تمرین است.

با این حال برخی از نتایج تحقیقات پیشین نتایجی متناقض با نتایج تحقیق حاضر گزارش کردند به طوری که Liu و همکاران در تحقیق بر روی مردان قایقران گزارش کردند سه هفته تمرین استقامتی با شدت پایین تأثیر معناداری بر مقادیر Hp70 ندارد (9) در پژوهش دیگر هم، شش هفته تمرین استقامتی همراه با مکمل سیلی مارین منجر به تغییر معنی‌داری در Hp70 مردان غیر ورزشکار نشد (24).

ناهمسویی نتایج فوق با نتیجه تحقیق حاضر ممکن است به علت تفاوت در مدت اجرای تمرینات ورزشی، شدت تمرینات، تفاوت آزمودنی‌ها، زمان نمونه برداری، بافت‌های مورد مطالعه و تغذیه آزمودنی‌ها باشد. آنچه که مجموعاً از یافته‌های پژوهش‌های پیشین بر می‌آید این است که احتمالاً تمرینات هوازی چه با شدت پایین و چه با شدت متوسط در یک دوره سه یا چهار هفته‌ای در افراد ورزشکار و غیرورزشکار، تغییر معنی‌داری در سطوح Hp70 ایجاد نمی‌کند.

نتیجه دیگر این تحقیق نشان داد سطوح سرمی SOD پس از هشت هفته تمرین HIIT و مصرف ویتامین E در موش‌های نر به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود. در پژوهشی گزارش شد هشت هفته تمرین بی‌هوازی منجر به افزایش معنی‌دار سطوح سرمی SOD در موش‌های صحرایی می‌شود (25). سوپراکسید دیسموتاز از جمله آنزیم‌های ضد اکسایشی است که هم در میتوکندری و هم در سیتوزول وجود دارد و برای ارزیابی تعادل بین سیستم اکسایشی و ضد اکسایشی مورد سنجش قرار می‌گیرد (26). تخلیه ذخایر آنتی‌اکسیدانی و کاهش فعالیت آنزیم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی از جمله: سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز (Catalase) و گلوکاتایون پراکسیداز موجب نقص سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در بدن،

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 (18).

Hsp70 در پاسخ به طیف وسیعی از عوامل مانند استرس اکسیداتیو، عدم تعادل کلسیمی، تخلیه گلوکز و گلیکوژن، کاهش PH پلاسما، تغییرات دما و برخی هورمون‌های استرسی مانند کورتیزول و کاتکول آمین‌ها تولید می‌گردد و این عوامل رابطه مستقیمی با حجم و شدت تمرین دارند (18). تمرینات ورزشی از جمله عوامل مؤثر در تغییرات سطوح Hsp70 می‌باشند که در این میان گزارش شده است. تغییرات سطوح این فاکتور ممکن است بیشتر وابسته به شدت تمرینات ورزشی باشد (9) به طوری که Liu و همکاران گزارش کردند شدت تمرینات ورزشی نسبت به عامل مدت تمرین، فاکتور مؤثرتری در تغییرات Hsp70 می‌باشد (9). بنابراین احتمال دارد در تحقیق حاضر، تمرین تناوبی شدید فشار بالایی بر عضلات فعال وارد کرده و باعث تغییرات تجمعی در عوامل بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی تأثیرگذار شده باشد.

فعال‌سازی فاکتور رونویسی شوک گرمایی (Heat Stress Transcription Factors) که HSF1 یکی از فاکتورهای مهم آن است بعد از صدمات پروتئینی مربوط به تمرینات ورزشی، باعث گسستگی HSP70 از HSF1 و کمک آن به تاشدگی پروتئین‌های صدمه دیده می‌شود. HSF1 به محض رهایی، تحت یک رویداد پیچیده از تغییرات، مانند قرار گیری در هسته، تریمر شدن و اتصال به DNA قرار می‌گیرد. فعالیت‌های ورزشی مسیرهای متعدد سیگنالینگ مانند مسیر مرتبط به پروتئین کیناز A را فعال می‌کنند که فاکتورهای سرکوب گر HSF1 را خنثی می‌سازند. HSF1 با اتصال به HSP70، پس از بر طرف شدن صدمات پروتئینی ناشی از ورزش، غیر فعال می‌شود (19).

گزارش شده است مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند اثر فعالیت‌های بدنی را در جهت عملکرد مطلوب سیستم‌های حیاتی بدن و کاهش عوامل خطر ساز قلبی - عروقی سوق دهد (20). نتیجه پژوهشی نشان داد، با تخلیه ویتامین E افزایش معنی‌داری در تخریب غشاء لیپیدی سلول‌ها مشاهده شد و ظرفیت استقامتی حیوانات چهل درصد کاهش یافت (21).

Peake و همکاران در مطالعه‌ای اظهار داشتند تمرین استقامتی همراه با مصرف ویتامین C باعث کاهش پراکسیداسیون چربی حالت پایه و پراکسیداسیون لیپید ناشی از ورزش می‌شود، اما فعالیت‌های بدنی با شدت بالا و طولانی مدت بدون مصرف مکمل و حتی قطع تمرین می‌تواند

تفاوت در نوع، شدت و مدت تمرینات، نوع آزمودنی‌ها، مکمل مصرفی، زمان خون‌گیری، گوناگونی شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی، استفاده از آنتی‌بادی‌های مختلف در روش الیزا (30)، تفاوت در مدت ذخیره‌سازی نمونه‌های سرم و روش‌های متفاوت اندازه‌گیری در پژوهش‌های مختلف می‌تواند نتایج غیر هم سوئی به دنبال داشته باشد. همان طور که در تناقض با نتایج پژوهش حاضر محققانی گزارش کردند 4 هفته تمرینات استقامتی تأثیر معنی‌داری بر SOD دانشجویان غیرفعال نداشت (18) و در تحقیقی دیگر هم با انجام 12 هفته تمرین استقامتی تأثیر معنی‌داری بر SOD موش‌های صحرایی مشاهده نشد (30).

در مجموع، به نظر می‌رسد با توجه به نتایج پژوهش حاضر و مرور مطالعات قبلی در این زمینه تمرینات تناوبی شدید با وجود افزایش فشار اکسایشی و تشکیل رادیکال‌های آزاد، با القای آنزیم‌های ضد اکسایشی، سبب کاهش رادیکال‌های آزاد می‌گردند و می‌توانند به عنوان الگوی مناسب تمرینی مورد استفاده قرار گیرند. همچنین، مصرف مکمل ویتامین E در محدوده مقادیر سلامت به همراه ورزش احتمالاً می‌تواند محرک مناسبی برای بهبود و افزایش کارایی دستگاه ضد اکسایشی باشد.

از جمله محدودیت‌های این تحقیق فعالیت شبانه آزمودنی‌ها بود (موش‌ها مانند سایر جوندگان دارای فعالیت شبانه و ریتم منظم شبانه روزی هستند و اوج فعالیت آنها در دوره تاریکی می‌باشد) که پیشنهاد می‌شود این محدودیت در پژوهش‌های آتی در کنترل محقق درآید. پیشنهاد می‌شود زمان نمونه‌برداری، تجویز سایر آنتی‌اکسیدانت‌ها و تغییر مدت و شدت تمرینات ورزشی انجام شود.

سپاسگزاری

هزینه اجرای این پژوهش توسط دانشجو تأمین شده است. پژوهشگران بدین‌وسیله مراتب قدردانی و تشکر خود را از مسئولان محترم آزمایشگاه حیوانات دانشگاه آزاد واحد ساری که در اجرای پروتکل تحقیق ما را یاری کردند، اعلام می‌دارند.

References

1. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol Rev* 2008; 88 (4):1243-76.
2. Leu JI, Pimkina J, Frank A, Murphy ME, George DL. A Small Molecule Inhibitor of Inducible Heat Shock Protein 70 (HSP70). *Mol Cell* 2009; 36(1):15-27.
3. Aguiló A, Tauler P, Pilar G M, Villa G, Córdova A, Tur JA, et al. Effect of exercise intensity and training on

فعالسازی مسیرهای پیام‌رسانی درون سلولی حساس به استرس، افزایش بیان ژن‌های درگیر در التهاب و در نتیجه افزایش التهاب و آسیب‌های بافتی می‌گردد (26)

تمرینات تناوبی از دو فاز با شدت بالا و شدت پایین تشکیل شده است، مرحله با شدت بالا موجب تولید زیاد آنیون‌های اکسایشی می‌شود (27). در مرحله با شدت پایین، آنیون‌های تولیدشده توسط پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خنثی می‌شوند. SOD خط دفاعی اولیه آنتی‌اکسیدانی است که فعال می‌شود، در مرحله اول زمانی که رادیکال‌های آزاد تولید می‌شوند، از طریق SOD بلافاصله آنیون‌های سوپراکسید دیسموته شده و به H₂O₂ تبدیل می‌شوند. تا زمانی که فعالیت ورزشی با شدتی اجرا شود که به دفع بیشتر رادیکال‌های آزاد نیاز نداشته باشد، SOD به فعالیتش ادامه می‌دهد. اما با افزایش شدت فعالیت ورزشی، Px-GSH و کاتالاز فعال می‌شوند و H₂O₂ را خنثی می‌کنند (27).

در ارتباط با مقادیر بالاتر سطوح آنزیم SOD گروه‌های تجربی، می‌توان به شدت بالای برنامه تمرین در تحقیق حاضر و در نتیجه افزایش شدید در سطوح اکسیژن رسانی و تولید رادیکال‌های آزاد اشاره داشت. به عبارت دیگر پروتکل تمرین بی‌هوای فزاینده، مدت و شدت تمرین، کفایت لازم برای ایجاد استرس اکسایشی مناسب در جهت تحریک سیستم ضد اکسایشی را داشته است. در این راستا در تحقیقی گزارش شد چهار هفته تمرینات مقاومتی دایره‌ای موجب افزایش معنی‌دار SOD مردان غیر فعال می‌شود (18).

در مواردی که بدن با کمبود آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و غلظت بالای رادیکال‌های آزاد مواجه است، مصرف آنتی‌اکسیدانت‌های غیر آنزیمی مانند برخی از ویتامین‌ها، توانایی بدن را در حذف رادیکال‌ها بالا می‌برد (28). به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر می‌توان افزایش SOD را به مصرف ویتامین E هم نسبت داد. همان طور که Akturk و همکاران دریافتند تجویز ویتامین E و C باعث افزایش فعالیت SOD بافت قلب موش‌ها شد (29).

antioxidants and cholesterol profile in cyclists. *J Nutr Biochem* 2003; 14(6):319-25.

4. Jahani G, Firoozrai M, Matin Homae H, Tarverdzadeh B, Azarbayjani M, Movaseghi G, et al. The Effect of Continuous and Regular Exercise on Erythrocyte Antioxidative Enzymes Activity and Stress Oxidative in Young Soccer Players. *RJMS* 2010; 17 (74):22-32 [in Persian].

5. Murlasits Z, Cutlip RG, Geronilla KB, Rao KMK, Wonderlin WF. Always. SE. Resistance training increases heat shock protein levels in skeletal muscle of young and old rats. *Exp Gerontol* 2006; 41(4):398-406.
6. Samelman TR. Heat Shock Protein expression increased in cardiac and skeletal muscles of Fischer 344 rats after endurance training. *Experimental Physiology* 2000; 85(1):97-102.
7. Reinaldi B, Corbi G, Boccuti S, Filippelli W, Rengo G, Leosco D, et al. Exercise training affects age-induced changes in SOD and heat shock protein expression in rat heart. *Exp Gerontol* 2006; 41(8):764-70.
8. Ogawa K, Sanada K, Machida S, Okutsu M, Suzuki K. Resistance exercise training-induced muscle hypertrophy was associated with reduction of inflammatory markers in elderly women. *Mediators of inflammation* 2010; 17-23.
9. Liu Y, Lormes W, Wang L, Reissnecker S, Steinacker JM. Different skeletal muscle Hsp70 responses to high-intensity strength training and low-intensity endurance training. *Eur J Appl Physiol* 2004; 91(2-3):330-5.
10. Gurel A, Coskun O, Armutcu F, Kanter M, Ozen OA. Vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in frontal cortex and hippocampus: biochemical and histological studies. *J Chem Neuroanat* 2005; 29(3):173-178.
11. Naghizadeh H, Banparvari M, Salehikia A. Effect of one course exercise with consumption Vitamin E on antioxidant status and Cardiovascular Risk Factors. *ZJRMS*.... 2010; 12 (1) [in Persian].
12. Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, et al. Physical Activity and Public Health Updated Recommendation for Adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39(8): 1423-34.
13. Shokrzadeh M, Hosseini Payam SS, Zargari M, Abasi A, Abedian S, Layali I, et al. The Protective Effect of Vitamin A, C, and E on the Superoxide Dismutase Enzyme Activity in Rat Erythrocytes Exposed to Diazinon. *J Mazand Univ Med Sci* 2012; 22 (1) :30-38 [in Persian].
14. Høydal MA, Wisløff U, Kemi, OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007; 14(6):753-60.
15. Rahimi M, Shekarforoush S, Asgari AR, Khoshbaten A, Rajabi H, Bazgir.B, et al. The effect of high intensity interval training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in wistar rats. *EXCLI J* 2015; 14:237-46
16. Isanejad A, HasanSarraf Z, Mahdavi M, Gharakhanlou R. The Effect of Aerobic Exercise Training on Serum Levels of TNF- α , IL - 1 β , IL-6 and Hsp70 in Rats 2013; 4(15):91-106 [in Persian].
17. Lawler JM, Kwak HB, Song W, Parker JL. Exercise training reverses down regulation of Hsp70 and antioxidant enzymes in porcine skeletal muscle after chronic coronary artery occlusion. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 291(6):756-63.
18. Barari A, Bashiri J, Farzaneg P, Fayyaziniya V. The effect of endurance and circuit resistance training on serum superoxide dismutase and heat shock protein 70 levels in inactive college students. *RJMS* 2015; 22(134): 9-17[in Persian].
19. Melling CW, Thorp DB, Milne KJ, Krause MP, Noble E G. Exercise-mediated regulation of Hsp70 expression following aerobic exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293(6):692-698.
20. Peake JM. Vitamin C: effects of exercise and requirements with training. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2003; 13(2):125-51.
21. Choobineh S, Akbarzadeh H, Naghizadeh H. Effect of vitamin E supplementation on lipid peroxidation and the antioxidant defense responses following an exhausting aerobic exercise. *Tkj* 2014; 6 (2):32-43 [in Persian].
22. Jang IS, Ko YH, Moon YS, Sohn SH. Effects of Vitamin C or E on the Pro-inflammatory Cytokines, Heat Shock Protein 70 and Antioxidant Status in Broiler Chicks under Summer Conditions. *Asian-Australas J Anim Sci* 2014; 27(5): 749-756.
23. Aguiló A, Tauler P, Pilar Guix M, Villa G, Córdova A, Tur JA, et al. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. *J Nutr Biochem* 2003; 14(6):319-25.
24. Shiralı S, Barari AR, Hosseini SA. The Effects of Endurance Training and Administration of Silymarin Supplementation on Oxidative Enzyme of SOD and Heat Shock Proteins 70 in Plasma of unathletes men Students. *Jundishapur Sci Med J* 2015; 14(6):703-712 [in Persian].
25. Modiri M, Daryanoosh F, Tanideh N, Mohammadi M, Firouzmand H. The effects of short and middle times aerobic exercise with high intensities on ingredients antioxidant in female Sprague Dawley rats. *Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences* 2014; 57(3):587-95 [in Persian].
26. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med* 2009; 8(1):1.20.
27. Botezelli JD, Cambri LT, Ghezzi AC, Dalia RA, Scariot PP M, Ribeiro C, et al. Different exercise protocols improve metabolic syndrome markers, tissue triglycerides content and antioxidant status in rats. *Diabetol metab syndr* 2011; 3(35)
28. Khastar H, Hatami L. Antioxidant Effects of Vitamin E on Liver Oxidative Stress after Renal Ischemia Reperfusion in Mice. *Knowledge and Health* 2015; 10(2):33-38.
29. Akturk O, Demirin H, Sutcu R, Yilmaz N, Koylu H, Altuntas I. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat heart and ameliorating role of vitamin E and vitamin C. *Cell Biol Toxicol* 2006; 22(6): 455-461.
30. Ebrahimi M, Hovanloo F, Hedayati M. Effects of various time courses of endurance training on antioxidant enzymes activity in rat Serum. *Pejouhandeh* 2013; 18(1):16-22 [in Persian].

Interactive Effect of High Intensity Interval Training with Vitamin E Consumption on the Serum Levels of Hsp70 and SOD in Male Wistar Rats

Ghasemzadeh Khorasani N¹, Hosseini M^{2*}, Divkan B³, Riyahi Malayeri Sh⁴

1-MSc, Department of Exercise Physiology. East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2-*Corresponding author: Assistant Prof., Department of Exercise Physiology. East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Email: mhbisadi@yahoo.com

3- Assistant Prof., Department of Exercise Management, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

4-Assistant Prof., Department of Exercise Physiology. East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received 6 Jul, 2018

Accepted 26 Sept, 2018

Background and Objectives: One of the antioxidant enzymes in organisms is Superoxide dismutase, which is involved in the production of H₂O₂. Heat shock protein is created in stress conditions and has anti-inflammatory effects. The purpose of this study was to determine the interactive effect of high intensity interval training with vitamin E consumption on the levels of Hsp70 and SOD in male wistar rats.

Materials & Methods: In this experimental study, 32 male wistar rats were divided into four groups randomly: control, supplement, training, training+supplement. The training program was planned for eight weeks, five sessions per week (each session 15 minutes) [warm up: 5 minutes, interval training: 4 minutes 95-100% maximal oxygen consumption (VO₂max), recycling: 2 minutes 65-75% VO₂max, cool down: 4 minutes]. The amount of 100 mg/kg vitamin E was administered intraperitoneally in the supplement groups for eight weeks and three times per week. The blood samples were taken, and the levels of Hsp70 and SOD were measured by using ELISA method. Analysis of covariance was used.

Results: The results showed that the level of Hsp70 was significantly higher in the training + supplement group than in the other three groups (P <0.001). Also the SOD levels of the experimental groups had a significant increase compared to the control group (P <0.001).

Conclusion: High intensity interval training, supplementation with Vitamin E and a combination of the two methods may potentially exert supportive effects against oxidative stress through positive antioxidant defense regimen.

Keywords: High intensity interval training, Vitamin E, Heat shock protein 70, Superoxide dismutase, Oxidative stress