مقاله پژوهشی

تاثیر یک جلسه فعالیت ورزشی هوازی تداومی و تناوبی بر پاسخ HSP_{72} 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 تاثیر یک جلسه فعالیت ورزشی هوازی تداومی و تناوبی بر پاسخ HSP_{72}،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 HSP_{72}، کورتیزول و CK به ترتیب با روش‌های الایزا، RIA و آنزیماتیک سنجیده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آنالیز واریانس در اندازه‌گیری‌های تکراری در سطح $P\leq ۰/۰۵$ تحلیل شد.

نتایج: سطوح HSP_{72} 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 ازفعالیت بدنی معنی‌دار بود (مقدارP به ترتیب ۰/۰۱۷ و۰/۰۰۲). 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 HSP_{72} بوده و تمرین تداومی باعث افزایش بیشترHSP_{72} شده و افزایش CK، پاسخ بزرگترHSP_{72} را منجر می‌شود.

کلید واژه ها: پروتئین های شوک گرمایی / کراتین کیناز / کورتیزول / ورزش هوازی

مقدمه :

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) 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 کاهشpH خون،

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

** استاد گروه فیزیولوژی دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران

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

**** کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش

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 آن ها به عنوان عامل مثبت اثرگذار در عملکرد ورزشی یاد کرد(۱۰،۱۱). پروتئین‌های شوک گرمایی بر اساس وزن مولکولی‌شان نامگذاری می‌شوند که HSP_{72} یکی از معروف‌ترین و در عین حال شاخص‌ترین آن‌ها است که وزن مولکولی آن ۷۲ کیلودالتون 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 تظاهرHSPs را فعال کرده و درنتیجه این پروتئین‌ها از طیف وسیعی از سلول‌ها به درون جریان خون رها شوند(۱،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 HSP_{72} افزایش می‌یابد (۱۴) کایانی و همکاران نیز افزایش معنی‌دار HSP_{72} 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 HSP_{72} را منجر می شود(۲۰) نتینگ و همکاران مشاهده کردند سطوح HSP_{72} در عضله اسکلتی افراد خوب تمرین کرده کاهش می‌یابد و به فشار تمرین بر پاسخ HSP_{72} دلالت می‌کند (۲۱). برخی تحقیقات نیز عدم افزایش HSP_{72} را پس از یک جلسه تمرین نشان دادند. نتایج پژوهش شاستری حاکی از عدم افزایشHSP_{72} 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 HSP_{72} را تا ۶ روز پس از ورزش بطور معنادار افزایش نداده است(۲۳) در مجموع به نظر می‌رسد تغییر فاکتورهای متابولیکی حین فعالیت ورزشی و برخی از فاکتورهای عصبی- هورمونی مانند کورتیزول می‌تواند پاسخ HSP_{72} را تحریک کنند. بنابراین، ممکن است استرس ناشی از فعالیت ورزشی به واسطه افزایش کورتیزول نمود پیدا کند و منجر به پاسخ HSP_{72} 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 HSP_{72} خون را تغییر دهد. در همین ارتباط باسو و همکاران نشان دادند که کورتیزول سطوح HSP_{72} را به دنبال استرس در بافت ماهی تعدیل می‌کند(۲۷) ویتهام و همکاران مشاهده کردند که افزایش سطوح HSP_{72} با سطوح بیشتر کورتیزول همراه می‌باشد(۲۶) این یافته‌ها حاکی از آن است که کورتیزول واسطه مهمی در افزایش سطح HSP_{72} می‌باشد(۲۵،۲۶) لیو و همکاران بیان کردند، مشخصه آسیب عضلانی افزایش سطوح CK پلاسما است که این موضوع با افزایش HSP_{72} درون عضلانی مرتبط است (۲۸) و همچنین HSP_{72} ممکن است اثر محافظتی بر آسیب عضلانی داشته باشد (۱۷) پولسن و همکاران بیان کردند که میزان بالای سطوح HSP_{72} در بخش میوفیبریلی نشان دهندهٔ نقش حمایتی این پروتئین‌ها در جلوگیری از آسیب‌های درون عضلانی می باشد (۷). مشاهده شده است با افزایش سطح بیان HSP_{72} ، رهایی CK حین یک دوره تمرینی کاهش می‌یابد (۱۷) و HSP_{72} در سازگاری عضله برای محافظت از آسیب عضلانی درگیر است (۲۹) پاسخ HSP_{72} 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 می تواند در تغییرات هورمون کورتیزول و CK داشته باشد می تواند بر پاسخ HSP_{72} سرم پس از فعالیت

ورزشی تاثیرگذار باشد. بنابراین سوال اصلی این مطالعه این است که آیا یک ساعت دویدن می تواند بر پاسخ HSP_{72} بواسطه تغییرات کورتیزول و کراتین کیناز خون پس از فعالیت ورزشی اثر گذار باشد.

روش کار:

مطالعه حاضر از نوع نیمه‌تجربی 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 (۷نفر)، تناوبی (۷نفر) و گروه کنترل (۷نفر) 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، اسیدآمینه‌ای، 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 آنتروپومتریکی اندازه‌گیری شدند. قد و وزن آزمودنی‌ها با استفاده از ترازوی پزشکی مجهز به قد سنج (seca ۲۲۰ 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 (VO2max) با استفاده از پروتکل بروس تعیین شد.

پروتکل فعالیت ورزشی برای گروه تداومی شامل ۶۰ دقیقه دویدن بر روی نوارگردان بدون شیب با شدت ۸۰-۷۵ درصد ضربان قلب بیشینه و پروتکل گروه تناوبی شامل سه مرحله دویدن ۲۰ دقیقه‌ای بر روی نوارگردان بدون شیب با شدت ۸۰-۷۵ 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 ۲±۲۳ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۵±۴۰ 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 rpm ۲۵۰۰ سانتریفیوژ شد) و ۲ سی‌سی جهت تهیه پلاسما درون لوله محتوی EDTA ریخته و چند دقیقه آرام مخلوط شد، سپس پلاسما در دورrpm ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم در چند لوله و پلاسما در یک لوله برای انجام آزمایش آماده و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. برای تعیین میزان HSP_{72} سرم به روش الایزا و با استفاده از (کیت سنجش HSP_{72} : (HSP70 high sensitivity EIA kit ADI-EKS-715 ساخت کشور آمریکا) دستگاه الایزا ریدر (مدل استاتفی ۲۱۰۰ اوارنس ساخت کشور آمریکا) و دستگاه اتوآنالایزر (مدل هیتاچی ۹۱۲ روشه ساخت کشور آلمان) شناسایی شد. بدین ترتیب که ابتدا چاهک‌های پلیت با ۱۰۰

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 HSP_{72} 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 ۴۰۰rpm انجام شد. بعد از ۴ بار شستشو، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده آنتی‌بادی پلی‌کلونال ویژهٔ HSP_{72} 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 ۴۰۰rpm انجام شد. پس از ۴ بار شستشو۱۰۰ 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 ۴۰۰rpm 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 دور۴۰۰rpm 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 HSP_{72} در سرم برحسبng/ml تعیین گردید. برای تعیین کورتیزول پلاسما از روش RIA و با کیت Immunotech ساخت کشورفرانسه، 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 تعقیبیLSD استفاده شد. سطح معنی‌داری در این مطالعه P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام گرفت.

نتایج:

نتایج بدست آمده از ویژگی‌های عمومی آزمودنی‌ها، تغییرات HSP_{72}، 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
سن (سال)	۲۰/۵۷± ۰/۹۷	۱۹/۴±۰/۷	۲۰/۴۲±۱/۹
قد (سانتیمتر)	۱۷۹ ± ۳/۲۶	۱۷۶ ± ۲/۹۴	۱۷۷ ± ۲/۹۶
وزن(کیلوگرم)	۷۳/۳ ±۴/۳۱	۷۰ ±۳/۳	۷۲/۷ ±۳/۰۴
شاخص تودهٔ بدن (kg/m^2)	۲۲/۸ ±۱/۰۵	۲۲/۶ ±۱/۳	۲۳/۱۸ ±۱/۲۳
حداکثر اکسیژن مصرفی (ml/kg/min)	۵۵/۷۳ ±۳/۴۴	۵۵/۸ ±۳/۶	۵۲/۱±۳/۳۱
چربی بدن (درصد)	۱۲/۷۲ ±۳/۶۵	۱۲/۳ ±۱/۰۲	۱۲/ ۹۲±۱/۰۹

نتایج آزمون تحلیل واریانس در اندازه‌گیری‌های مکرر نشان داد، اختلاف پاسخ HSP_{72} 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).

جدول۲ : میانگین و انحراف معیار مقادیر HSP_{72} 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
تناوبی	۰/۴۷±۰/۳۰	۰/۵۲±۰/۳۴	۰/۵۳±۰/۲۳	۰/۷۰±۰/۱۷
تداومی	۰/۵۱±۰/۳۷	۰/۵۴±۰/۳۶	*۰/۶۲±۰/۲۲	*۰/۸۳±۰/۳۶
کنترل	۰/۳۹±۰/۰۶	۰/۳۷ ±۰/۱۳	۰/۳۸±۰/۱۶	۰/۳۸±۰/۱۱

* در سطح P≤ ۰/۰۵ 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).

جدول۳: میانگین و انحراف معیار مقادیر کورتیزول پلاسما (میکروگرم در دسی لیتر) سه گروه در مراحل مختلف مطالعه

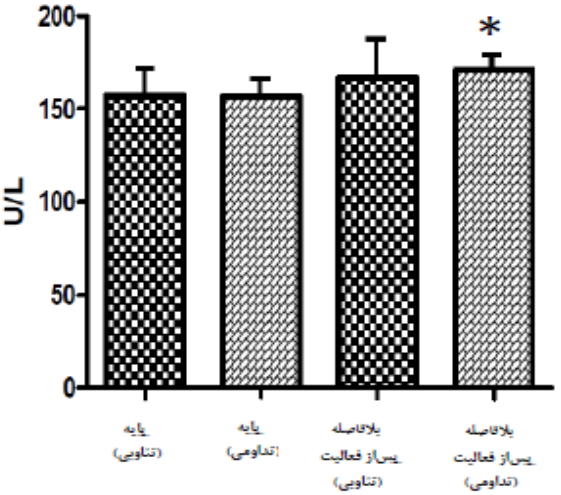
	پایه	پیش از فعالیت	بلافاصله پس از فعالیت	۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی
تناوبی	۱۴/۸۲±۳/۴۳	۱۴/۷۷±۲/۲۷	۱۴/۸۴±۲	۱۳/۱۸±۲/۵۳
تداومی	۱۳/۷۸±۴/۶۳	۱۳/۳۷±۵/۴۰	۱۳/۹۱±۴/۴۶	۱۲/۱۱±۵/۲۴
کنترل	۱۴/۴۲±۴/۲۷	۱۴/۶۸±۳/۸۱	۱۲/۵۴±۴/۰۶	۱۲/۰۴±۲/۵۹

جدول ۴: میانگین و انحراف معیار مقادیر کراتین کیناز سرم (واحد درلیتر) 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	۱۶۷/۷۱±۵۹/۷۷	۱۶۱/۸۶±۶۳/۵۵
تداومی	۱۵۶/۵۷±۶۳/۰۷	۱۵۰/۷۱±۵۷/۶۴	۱۷۰/۴۳±۶۷/۵۵*	۱۶۲/۸۶±۶۱/۶۹
کنترل	۱۴۰/۵۷±۵۱/۹۴	۱۲۸±۴۶/۹۹	۱۳۰±۴۴/۹۷	۱۳۱/۱۴±۴۶/۶۱

* در سطح P≤ ۰/۰۵ معنادار است

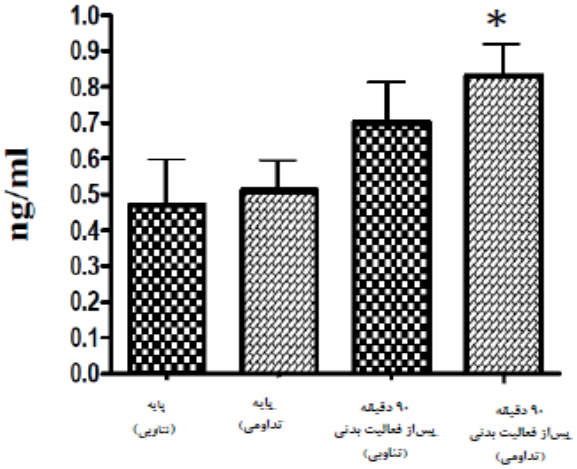
در پاسخ کورتیزول به تمرین تناوبی و تـداومی در مراحـل مختلف درون‌گروهـی، تفـاوت معنـی‌داری مـشاهده نـشد. مقادیر کراتین کیناز گروه تداومی در مرحله پایه با مرحلـه بلافاصله پس از فعالیت اختلاف معنی‌دار نشان داد امـا در گروه تنـاوبی تفـاوت معنـی‌داری در هـیچ یـک از مراحـل مشاهده نشد (شکل ۱).



شکل ۱: تغییرات مقادیر CK در مرحله بلافاصله پس از فعالیت در گروه تناوبی و تداومی نسبت به مرحله پایه

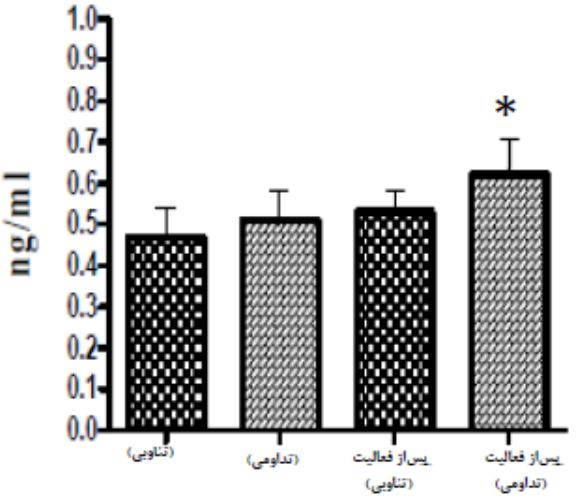
مقادیر این شاخص در مرحله بلافاصله پس از فعالیت در گروه تداومی افزایش معنی‌دار داشته است. (*) در سطح P≤۰/۰۵ معنادار است. ارزش‌ها به صـورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفـه نـشان داد، اثرات تمرین تناوبی و تداومی بر اختلاف پاسخ HSP_{72} در مرحله بلافاصله پس از فعالیت و ۹۰ دقیقه پس از فعالیـت بدنی معنی‌دار بود (مقدار P بـه ترتیـب ۰/۰۱۷ و ۰/۰۰۲). در مراحل بلافاصـله پـس از فعالیـت و ۹۰ دقیقـه پـس از فعالیت بدنی در گروه تداومی افزایش بیـشتری نـسبت بـه گروه تناوبی داشت (شکل ۲و۳).



شکل۲: تغییرات مقادیر HSP_{72} در مرحله ۹۰ دقیقه پس از فعالیت در گروه تناوبی و تداومی نسبت به مرحله پایه

مقادیر این شـاخص در مرحلـه ۹۰ دقیقـه پـس از فعالیـت در گـروه تـداومی افزایش معنی‌دار داشته است. (*) در سطح P≤۰/۰۵ معنادار است. ارزش‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.



شکل۳: تغییرات مقادیر HSP_{72} 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 معنی‌دار داشته است. (*) در سطح P≤۰/۰۵ معنادار است. ارزش‌ها به صـورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

بحث:

یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از افزایش غیر معنی‌دار سطح سرمی HSP_{72} در گروه تمرین تداومـــــی و تمرین

تناوبی در مراحل مختلف درون گروهی بود. در بررسی اختلاف سطح سرمی HSP_{72} بین گروه‌ها، این اختلاف در گروه تمرین تداومی و تناوبی در مرحله بلافاصله پس‌از فعالیت و ۹۰ دقیقه پس از فعالیت بدنی معنی‌دار بود. در مراحل بلافاصله پس‌از 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 HSP_{72} 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 وهله های استراحتی ۵ دقیقه راه رفتن تولید گرمای کمتری حین فعالیت داشته است. مکانیسم افزایش این پروتئین ها را بر اساس پیشینه مطالعه می توان اینگونه ذکر کرد که هنگام مواجهه با استرس، پروتئین‌های آسیب دیده نسبت به فاکتور شوک گرمایی یک (HSF1) میل اتصال بیشتری به HSP_{72}دارند و با ایجاد کمپلکس با HSP_{72} ، HSF1 آزاد شده و پس از ورود به هسته رونویسی و ترجمه HSP_{72} آغاز می‌شود (۹). اگرچه سازوکار دقیق رهایش HSP_{72} 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 HSP_{72} انتخابی باشد.

نتایج این مطالعه در گروه فعالیت ورزشی تناوبی حاکی از افزایش غیر معنی‌دار مقادیر HSP_{72} می‌باشد که این نتیجه با گزارش اگورا 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 HSP_{72} 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 تحقیقات می‌توان پاسخ متفاوت HSP_{72} 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 HSP_{72} در عضله اسکلتی به سرعت در پاسخ به ورزش افزایش می‌یابد، در حالی که افزایش در مقادیر HSP_{72} تا چند ساعت پس از ورزش مشاهده نمی‌شود (۲۳) این موضوع نشان می‌دهد افزایش مقادیر HSP_{72} 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 درون‌گروهی و همچنین در بین گروه‌ها، تغییر قابل ملاحظه ای مشاهده نشد. در تحقیق عبدی و همکاران(۱۰) آزمودنی‌ها به دنبال دویدن استقامتی تا حد واماندگی بر روی نوارگردان بدون شیب کاهش غیر معنی-دار 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 افرد 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 سنتز و آزادسازی کورتیزول درتغییرات 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

پاسخ HSP_{72} باشد (۱۰،۱۳). مشاهده شده است که هنگام آسیب عضلانی همـراه بـا افـزایش رهـایش CK در حـین فعالیت ورزشی، افزایشی مشابه در HSP_{72} عـضله اسـکلتی ایجاد شده است. در حقیقت، عضله اسکلتی کـه آسـیب را حین و یـا بعـد از ورزش تحمـل مـی‌کنـد، CK همـراه بـا افزایش HSP_{72} افزایش می‌یابد (۷،۱۷). از آنجـا کـه مـدل ورزشی مطالعه حاضر (دویدن روی نوارگردان بدون شیب) به لحاظ ماهیتی اساساً از نوع درونگراست (۱۰) و با توجـه به معنادار نبودن کراتین کینـاز در گـروه تنـاوبی احتمـال کمی وجود دارد که هر گونه آسیب مکانیکی قابل توجه به عضلات وارد شده باشـد. بنـابراین، افـزایش انـدک و غیـر معنادارHSP_{72} با تغییر غیر معنادار در سطح کـراتین‌کینـاز در گروه تنـاوبی بـدین معنـی اسـت کـه افـزایش HSP_{72} گردش خون احتمـالاً مربـوط بـه آسـیب بـافتی ناشـی از ورزش و نشت HSP_{72} داخل سلولی به محیط خارج سلول نیست و بافتهای دیگری مانند کبد، و روده در افـزایش آن نقش دارند (۱۰،۱۳). بـا توجـه بـه ایـن مطالـب، افـزایش HSP_{72} گردش خون در گـروه تـداومی را شـاید بتـوان بـا احتیاط به افزایش کراتین کیناز نسبت داد، که این نتیجـه با گزارش عبدی (۱۰) و والش (۲۹) مغـایر اسـت و دلیـل این مخالفت را شاید بتوان به تفاوت جنسیت آزمودنی‌ها و پروتکل تمرینی آنها نسبت داد. عادات ورزشی و سـازگاری به تمرینات ویژه موضوع دیگری است که تا حدی می‌تواند عـدم افـزایش معنـادار کـراتین کینـاز و HSP_{72} در گـروه تناوبی در مراحل پس از فعالیت را توجیه نماید (۱۰).

در مطالعه حاضر بـا توجـه بـه افـزایش غیـر معنـی‌دار مقادیر CK در گروه تمرین تناوبی ذکر چند نکته ضـروری به نظر می‌رسد. اول اینکه محقق نمونـه‌هـای خـونی را در دوره زمانی پایه، پیش‌از فعالیت، بلافاصله پس از فعالیت و ۹۰ دقیقه پس از اتمام فعالیت بدنی جمع آوری کرده است و ممکن است مدت زمان لازم برای پاسخ CK در این بـازه زمانی کافی نبوده و ارزیـابی تغییـرات CK بـه زمـان‌هـای بیـشتری نیازمنـد باشـد. دوم اینکـه سـلول بـه صـورت طبیعی سطح معینی از آسیب و جراحت سلولی را دارد که از این طریق عمل اندوسـیتوز و اگزوسـیتوز مولکـول‌هـای مختلف را انجام می‌دهد. فعالیت‌ورزشی، فعالیت اندوسیتوز و اگزوسـیتوز سـلول‌هـا را از طریـق انتقـال مولکـول‌هـای مختلـف و همچنـین CK از غـشاء پلاسـمایی افـزایش می‌دهد، این تئوری می‌تواند به عنوان توضیحی منـاسب هنگام افزایش غیر معنـی‌دار مقـادیر CK در مـواردی کـه آسیب بافتی مشهود نیست در نظر گرفته شود. در حقیقت افزایش CK سرم می‌تواند بدون آسیب سلولی هم رخ دهد (۳۱). سوم اینکه آزمـودنی‌هـای ایـن مطالعـه را بازیکنـان تیم‌های مختلف دانـشگاه تـشکیل داده بودنـد کـه از نظـر سازگاری‌های فیزیولوژیکی از سطح خوبی برخوردار بودنـد و بر اسـاس اصـل سـازگاری، آسـیب عـضلانی همـسو بـا پیشرفت تمرین کاهش می‌یابـد کـه یکـی از سـازوکارهای درگیر در این امـر مـی‌توانـد پاسـخ HSP_{72} باشـد (۱۷) و وجـود تنـاوب‌هـای اسـتراحتی در گـروه فعالیـت ورزشـی تناوبی، احتمالاً بر میزان پاسخ CK موثر بوده است.

نتیجه نهایی:

از مطالعه حاضر می‌توان این‌گونـه نتیجـه گرفـت کـه هرچنـد انجـام فعالیـت ورزشـی باعـث افـزایش HSP_{72} می‌شود، ولی به نظر می‌رسد این موضـوع بـا نـوع فعالیـت ورزشی مرتبط باشد، به طوری که فعالیـت تـداومی باعـث استرس ورزشی بیشتر و افزایش بیـشترHSP_{72} مـی‌شـود و افزایش CK پاسخ بزرگترHSP_{72} را منجر می‌شود.

سپاسگزاری:

این مقاله حاصل پایـان نامـه کارشناسـی ارشـد اسـت بدینوسیله از اساتید راهنما، مـسئولین دانـشکده و آقایـان دکتـر حمیـد رجبـی، دکتـر فرشـید طهماسـبی و همـه 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

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, Kalhovde 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 HSP_{72} , 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 HSP_{72}, 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 $P \leq 0.05$ significance level.

Results: HSP_{72} 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 HSP_{72} and continuous exercise will make further increase in HSP_{72} and CK increasing leads to a greater HSP_{72} 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