

## **Investigation response of Heat Shock Protein $_{70}$ and liver enzymes and Cpk response to eccentric exercise test**

Jokar N(M.Sc)<sup>1</sup>, Daryanoosh F(Ph.D)<sup>1\*</sup>, Jafari H(M.Sc)<sup>1</sup>, Kasharafifard S (M.Sc)<sup>2</sup>, Askarzadeh A(M.Sc)<sup>3</sup>

- 1- Department of Exercise Physiology, Shiraz University, Shiraz, Iran
- 2- Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran branch, Tehran, Iran
- 3- Department of Engineering , Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Received:10 Mar 2013, Accepted: 29 May 2013

### **Abstract**

**Background:** Exercise is a stimulus for the emergence of HSP and liver enzymes in the blood. The purpose of the present study was to investigate the probable changes of HSP70, liver enzymes & Cpk in professional athletes after a training season and participating in skating open world championship.

**Materials and Methods:** 10 elite female skaters were chosen. Eccentric exercise test were performed in three sections (24 hours before the beginning of the training, after six months of training (before participating in Skating World Championship) and 24 hours after the end of world championship). The training program consisted of 26 weeks of training, performed 5 times a week encompassing specialized skate trainings. Blood samples were taken before and after each eccentric exercise test.

**Results:** there was no significant change, in HSP<sub>70</sub> concentration in response to eccentric exercise test, in pre exercise period ( $p=0.8$ ). But, it illustrated a significant increase in after eccentric exercise test, in post exercise period ( $p=0.03$ ). Moreover, in measuring down, it showed a significant increased in the amount of liver enzymes and Cpk after eccentric exercise test in second and third step compared to first step ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** the results of the study illustrated that improving an athlete's physical fitness level during training season and matches leads to a significant increase in the protective level of the body (via the production of HSP<sub>70</sub>), depending also on the ability of the body of the individual in producing that protein. It can also be stated probably individual body fitness level, is an important factor in determining ALT, AST, ALP levels after performing eccentric exercise.

**Keywords:** Heat Shock Protein, Aspartate Amino Transfers (AST or SGOT), Alanin Amino Transfers (ALT or SGPT), Alkaline phosphatase (ALP), eccentric exercise test

\*Corresponding author:

Address: Daryanoosh F, Dept. of Sport Physiology, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Email: daryanoosh@shirazu.ac.ir

## بررسی پاسخ پروتئین شوک گرمایی 70، آنزیم‌های کبدی و کراتین فسفوکیناز به آزمون ورزشی برون‌گرا

ناز آفرین جوکار<sup>1</sup>، فرهاد دریانوش<sup>2\*</sup>، حسین جعفری<sup>1</sup>، سمیه کاشرفی فرد<sup>3</sup>، علی عسکرزاده<sup>4</sup>

- 1- کارشناسی ارشد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، شیراز، ایران
- 2- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، شیراز، ایران
- 3- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، دانشکده تربیت بدنی، تهران، ایران
- 4- کارشناسی ارشد، گروه مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لارستان، لارستان، ایران

تاریخ دریافت: 91/12/20 تاریخ پذیرش: 92/3/8

### چکیده

**زمینه و هدف:** ورزش یک محرک برای ظهور پروتئین شوک گرمایی 70 و آنزیم‌های کبدی در خون می باشد. هدف از انجام این تحقیق، مطالعه تغییرات احتمالی پروتئین شوک گرمایی 70، آنزیم‌های کبدی و کراتین فسفوکیناز پس از فصل تمرینات و مسابقات آزاد جهانی در ورزشکاران حرفه‌ای می باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، 10 دختر ورزشکار حرفه‌ای اسکیت انتخاب شدند. آزمون ورزشی برون‌گرا در سه نوبت (24 ساعت قبل از شروع تمرینات، بعد از شش ماه برنامه تمرینی قبل از مسابقات جهانی و 24 ساعت بعد از مسابقات جهانی) توسط ورزشکاران انجام شد. برنامه تمرینی تخصصی اسکیت، 26 هفته و هر هفته در 5 جلسه اجرا می شد و نمونه خونی به منظور اندازه گیری قبل و بعد از هر آزمون ورزشی برون‌گرا گرفته شد.

**یافته‌ها:** در مرحله قبل از تمرین، غلظت پروتئین شوک گرمایی 70، در واکنش به آزمون ورزشی برون‌گرا تغییر معنی‌داری نشان نداد ( $p=0/8$ ). اما در مرحله پس از تمرین، به طور معنی‌داری پس از آزمون برون‌گرا افزایش یافت ( $p=0/03$ ). همچنین، در اندازه گیری‌های پس از آزمون برون‌گرا، غلظت آنزیم‌های کبدی و کراتین فسفوکیناز در مرحله دوم و سوم نسبت به مرحله اول به طور معنی‌داری بیشتر بود ( $p<0/05$ ).

**نتیجه گیری:** یافته‌های پژوهش نشان داد که بالا رفتن سطح آمادگی بدنی ورزشکاران در طول فصل تمرینات و مسابقات باعث افزایش سطح محافظت از بدن (تولید HSP70) می‌گردد و این موضوع به سطح توانایی بدن فرد جهت تولید این پروتئین بستگی دارد. همچنین می‌توان گفت احتمالاً سطح آمادگی بدنی افراد، عاملی مهم در میزان سطوح ALT، AST و ALP پس از اجرای آزمون ورزشی برون‌گرا است.

**واژگان کلیدی:** پروتئین شوک گرمایی بدن، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، آزمون ورزشی برون‌گرا

\*نویسنده مسئول: شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، بخش تربیت بدنی

Email: daryanoosh@shirazu.ac.ir

## مقدمه

اساس شناسایی پروتئین های شوک گرمایی (Heat Shock Protein-HSP) در ابتدا آسیب پذیر بودن آن در مقابل افزایش حرارت بود اما تاثیر استرس های دیگر به جز حرارت، موجب گردید که نام عمومی پروتئین های استرسی برای آنها منظور گردد (1). معمولی ترین پروتئین های وابسته به شوک گرمایی دارای وزن مولکولی تقریباً برابر با 10، 30، 70، 90، 100 و 110 کیلو دالتون هستند که به صورت HSP70 (پروتئین های حرارتی 70 کیلو دالتون)، HSP90 (پروتئین های حرارتی 90 کیلو دالتون) و غیره اشاره می شوند (2). پیش بینی التهاب و عوامل بیماری زا در بدن، یکی از مهم ترین و حساس ترین نقش های سیستم ایمنی است که این امر مهم بر عهده عامل های التهابی می باشد. یکی از اندام های درگیر در این موضوع کبد است از طرف دیگر حساس ترین و پر مصرف ترین آنزیم های کبدی آسپاراتات آمینوترانسفراز (SGOT یا Aspartate Aminotransferase-AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (SGPT یا Alanine Aminotransferase-ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP- Alkaline phosphatase) است. آمینوترانسفرازها باعث کاتالیز واکنش های شیمیایی در سلول ها می شوند که در آن گروه آمین از یک مولکول دهنده به یک مولکول گیرنده منتقل می گردد (3، 4). تحت شرایط عادی این آنزیم ها، درون سلول های کبدی وجود دارند اما زمانی که کبد آسیب می بیند این آنزیم ها وارد جریان خون می شوند (5). میزان طبیعی AST، 5 تا 40 واحد در هر لیتر سرم، ALT، 7 تا 65 واحد در هر لیتر سرم و ALP، 60 تا 250 واحد در هر لیتر سرم است (6). هم چنین کراتین فسفو کیناز (CPK-Creatine Phosphokinase) به طور معمول وارد فضای خارج سلولی نمی شود مگر این که آسیبی به سارکولما رسیده باشد (7). تغییرات در CPK با توجه به توده عضلانی، شدت، مدت و حجم تمرین و میزان آشنایی آزمودنی با تمرینات برون گرا، متفاوت است. محققان

معمولاً CPK را به عنوان یک شاخص قوی در تعیین آسیب عضله می دانند (8).

در برخی تحقیقات مشخص شده است ورزش ممکن است یک محرک قوی برای ظهور HSP و آنزیم های کبدی در خون باشد (1، 2). در تحقیقی پژوهشگران 14 مرد ورزشکار را انتخاب و تغییرات HSP70 را با سه نوع فعالیت ورزشی (آزمون درون گرا، آزمون برون گرا و آزمون برون گرای مکرر) مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد بیش ترین افزایش HSP70 در برنامه ای که بیش ترین آسیب به عضلات (با اندازه گیری کراتین فسفو کیناز) رسیده بود، مشاهده شد (آزمون برون گرای مکرر)؛ محققان دریافتند میزان HSP70 بلافاصله بعد از انجام این فعالیت افزایش می یابد اما به مرور زمان (4، 8، 24، 96 و 168 ساعت بعد از پایان فعالیت) کاهش پیدا می کند (9). اما توپلینگ و همکاران در پژوهشی 10 مرد غیر ورزشکار را انتخاب کردند و آزمودنی ها یک فعالیت با وزنه (باز کننده زانو با انقباض ایزومتریک) انجام دادند. نتایج نشان داد بلافاصله بعد از پایان فعالیت، میزان HSP70 تغییری پیدا نمی کند (10). از طرف دیگر برخی محققان بیان می کنند فعالیت ورزشی ممکن است باعث تغییر در سطوح آنزیم های کبدی شود. کراتز و همکاران با اندازه گیری مقادیر AST و ALP در دوندگان ماراتن در قبل و 24 ساعت پس از پایان مسابقه، افزایش معنی داری در این آنزیم ها مشاهده کردند (11). در مقابل کینوشیتا و همکاران در موش های نر، به بررسی ارتباط فعالیت شدید و آسیب سلول های کبدی پرداختند. آنان دریافتند، موش هایی که با 60 الی 80 درصد حداکثر ضریان قلب و مدت 120 دقیقه دویدند، افزایش معنی داری در مقادیر آنزیم های کبدی شان مشاهده نمی شود (12). از این رو نتایج در تحقیقات گذشته ناهمسو می باشد از طرف دیگر در برخی تحقیقات عامل جنسیت نیز مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال درویس و همکاران در پژوهشی تاثیر فعالیت استقامتی بر آنزیم های کبدی در زنان و مردان را بررسی کردند. این فعالیت برای زنان از 50 درصد به 65

درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و زمان از 15 دقیقه به 60 دقیقه و برای مردان از شدت 50 درصد به 70 درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و زمان از 30 دقیقه به 60 دقیقه افزایش می‌یافت.

نتایج نشان داد غلظت آنزیم‌ها در گروه‌ها تغییر پیدا نمی‌کند و عامل جنسیت تاثیری بر این موضوع ندارد (13).

لذا با توجه به این که، یکی از مهم‌ترین اهداف ورزش قهرمانی، حفظ و نگهداری سطوح عملکرد ورزشکار بعد از هر مسابقه می‌باشد و از طرف دیگر، یکی از عوامل تاثیرگذار در کاهش سطوح عملکرد ورزشکاران ایجاد شدن عوامل التهابی بعد از مسابقه می‌باشد از این رو، مساله مورد پژوهش در تحقیق حاضر عوامل التهابی در نظر گرفته شد و با توجه به طولانی بودن اجرای تحقیق حاضر (دوره شش ماهه) و همچنین فشار تمرین و مسابقه در سطوح جهانی سعی بر آن شد تا فعالیت سلولی جهت محافظت از خود (HSP70)، عملکرد کبد به عنوان چهار راه متابولیسم بدن (سطوح آنزیم‌های کبدی) و تعیین آسیب‌های عضلانی (اندازه‌گیری کراتین فسفو کیناز) در ورزشکاران مورد بررسی قرار گرفت.

بنابر این محققان در تحقیق حاضر به دنبال آن هستند که آیا تغییرات معنی‌داری در میزان پروتئین شوک گرمایی، آنزیم‌های کبدی و کراتین فسفو کیناز در طول یک فصل از تمرینات و مسابقات آزاد جهانی در ورزشکاران نخبه مشاهده می‌شود؟ هم‌چنین با توجه به دوره بی‌تمرینی (پنج ماهه) ورزشکاران قبل از ورود به تحقیق حاضر، آیا افزایش سطح آمادگی بدنی (با شش ماه برنامه تمرینی) می‌تواند روی این متغیرهای وابسته موثر باشد؟ بنابراین هدف کلی از انجام این تحقیق، مطالعه تغییرات احتمالی HSP70، آنزیم‌های کبدی و کراتین فسفو کیناز در طول یک فصل از تمرینات و مسابقات جهانی در ورزشکاران حرفه‌ای می‌باشد و در این پژوهش هم‌زمان با طی شدن برنامه تمرینی (شش ماه برنامه تمرینی)، اجرای مسابقات جهانی و افزایش سطح آمادگی بدنی، پاسخ

سلولی (سطوح HSP70)، کبدی (آنزیم‌های کبدی) و آسیب عضلانی (کراتین فسفو کیناز) به اجرای آزمون ورزشی برون‌گرا (در سه نوبت) مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

پژوهش مورد نظر به روش نیمه تجربی انجام گرفت و در آن تعداد 10 دختر ورزشکار حرفه‌ای اسکیت شرکت کردند (در ابتدا 21 ورزشکار بودند اما فقط 10 نفر از آنها در مسابقات آزاد جهانی کره جنوبی شرکت کردند و فقط اطلاعات این 10 نفر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت). مشخصات فیزیولوژی آزمودنی‌ها (قد، وزن، درصد چربی بدن و شاخص توده بدن) به صورت میانگین و انحراف معیار در جدول 1 آمده است. این ورزشکاران پس از سپری کردن یک دوره پنج ماهه بی‌تمرینی، وارد این پژوهش شدند. آزمون ورزشی برون‌گرای انجام شده بدین صورت بود که برای انجام برنامه تمرینی، هر آزمودنی در مقابل پله‌ایی با ارتفاع 46 سانتی‌متر قرار می‌گرفت. ضرب آهنگ متروном روی 60 و 4/4 تنظیم می‌شد. برنامه به شکل 20 دقیقه پله زدن با شدت 15 گام در دقیقه و با فواصل 5 دقیقه‌ای انجام و بین هر مرحله 5 دقیقه‌ای، یک دقیقه استراحت در نظر گرفته می‌شد. از آزمودنی‌ها خواسته می‌شد با شنیدن صدای هر بوق متروном، ابتدا پای راست و سپس پای چپ را روی سکو بگذارند، بعد از آن پای راست و پس از آن پای چپ را پایین بیاورند (8). این آزمون در سه نوبت (24 ساعت قبل از شروع تمرینات، بعد از شش ماه برنامه تمرینی (قبل از مسابقات آزاد جهانی) و 24 ساعت بعد از مسابقات آزاد جهانی) توسط ورزشکاران انجام شد. برنامه تمرینی، شش ماه (26 هفته) و هر هفته در 5 جلسه اجرا می‌شد. این برنامه تمرینی شامل تمرینات تخصصی اسکیت بود. ورزشکاران از ماده‌های 300، 500، 1000 و 5000 متر سرعت بودند و در مسابقات جهانی هر کدام از ورزشکاران در دو ماده شرکت می‌کردند. نمونه خونی به منظور اندازه‌گیری پروتئین شوک گرمایی 70، آنزیم‌های کبدی و کراتین فسفو کیناز در قبل و بعد از هر آزمون ورزشی برون‌گرا گرفته می‌شد.

دوم ( $p=0/028$ )، میانگین نوبت اول و سوم ( $p=0/012$ ) و میانگین نوبت دوم و سوم ( $p=0/038$ ) وجود دارد. افزون بر این مشخص گردید تغییرات HSP70 در قبل و بعد از انجام آزمون ورزشی برون گرا (مرتب اول) معنادار نمی باشد هر چند میزان این پروتئین افزایش یافته بود ( $p=0/898$ ). بعد از شش ماه برنامه تمرینی و انجام آزمون ورزشی برون گرا (مرتب دوم)، میزان HSP70 پس از انجام آزمون نسبت به قبل از آزمون برون گرا افزایش معنادار پیدا کرده بود ( $p=0/031$ ). هم چنین مشخص شد اجرای آزمون ورزشی برون گرا (مرتب سوم) پس از مسابقات آزاد جهانی اسکیت باعث افزایش قابل توجه در سطح HSP70 (بعد نسبت به قبل از اجرای آزمون ورزشی برون گرا) می شود ( $p=0/001$ ) (جدول 1).

جدول 1. تغییرات پروتئین شوک گرمایی (بر حسب ng/ml) در قبل و بعد از تمرینات شش ماهه (قبل از مسابقات) و پس از مسابقات جهانی به دنبال اجرای یک آزمون ورزشی برون گرا

اندازه گیری HSP <sub>70</sub>	نوبت اول	نوبت دوم	نوبت سوم
قبل از آزمون	6/7	10/4	8/3
بعد از آزمون	7/9	14/7	22/3

هم چنین مشخص گردید تفاوت معناداری در بین پیش آزمون هر سه نوبت (قبل از شروع تمرینات، قبل از مسابقات و بعد از مسابقات) اندازه گیری آنزیم های کبدی وجود ندارد ( $p>0/05$ ) اما پس از آزمون برون گرا، میانگین AST، ALT و ALP در هر سه نوبت اندازه گیری تفاوت معناداری نشان داد ( $p<0/05$ ). آزمون تعقیبی نشان داد تفاوت بین میانگین پس آزمون این سه آنزیم در نوبت اول نسبت به نوبت های دوم و سوم است ( $p<0/05$ ). اما تفاوتی بین میانگین ها در نوبت دوم و سوم مشاهده نمی شود ( $p>0/50$ ). از طرف دیگر مشخص گردید در نوبت اول اجرای آزمون ورزشی برون گرا، در هر سه آنزیم، میانگین پس از اجرای آزمون نسبت به قبل از آزمون، افزایش معناداری داشته است (AST ( $p=0/001$ ), ALT ( $p=0/016$ ) و ALP ( $p=0/022$ )). اما به دنبال

بازار مورد نیاز شامل کیت برای اندازه گیری HSP70 (SPA-812 & SPA-810) و شرکت Stressgen- Canada) با حساسیت 0/2 نانوگرم بر میلی لیتر، میزان دقت درونی (CV) کمتر از 5 درصد، دقت بیرونی کمتر از 13 درصد هم چنین برای اندازه گیری آنزیم های کبدی از کیت (مدل man، ساخت ایران) با میزان تغییرات درون آزمونی برای ALT، AST و ALP به ترتیب برابر با 101، 116 و 108 ضریب تغییرات (CV) به ترتیب برابر با 0/92، 0/69 و 0/78 و میزان تغییرات برون آزمونی به ترتیب برابر با 3/99، 115 و 103 استفاده شد. میزان کراتین فسفو کیناز سرم با روش اتو آنالایزر توسط دستگاه اتو آنالایزر شیمی، هیتاچی (Hitachi 717) ساخت کمپانی روش (Roche) آلمان و به صورت تمام اتوماتیک اندازه گیری شد. در این پژوهش جهت بررسی تغییرات متغیرهای وابسته در طول روند تحقیق، مقایسه این متغیرها در قبل از اجرای آزمون ورزشی برون گرا در سه نوبت، مقایسه آنها بعد از اجرای آزمون ورزشی برون گرا در سه نوبت و در نهایت مقایسه در قبل و بعد از اجرای آزمون ورزشی برون گرا در هر نوبت، از آزمون اندازه گیری مکرر (Repeated Measure) استفاده شد و مقدار P کمتر از 0/05 به عنوان سطح معنی و نرم افزار آماری SPSS نسخه 16 بود.

#### یافته ها

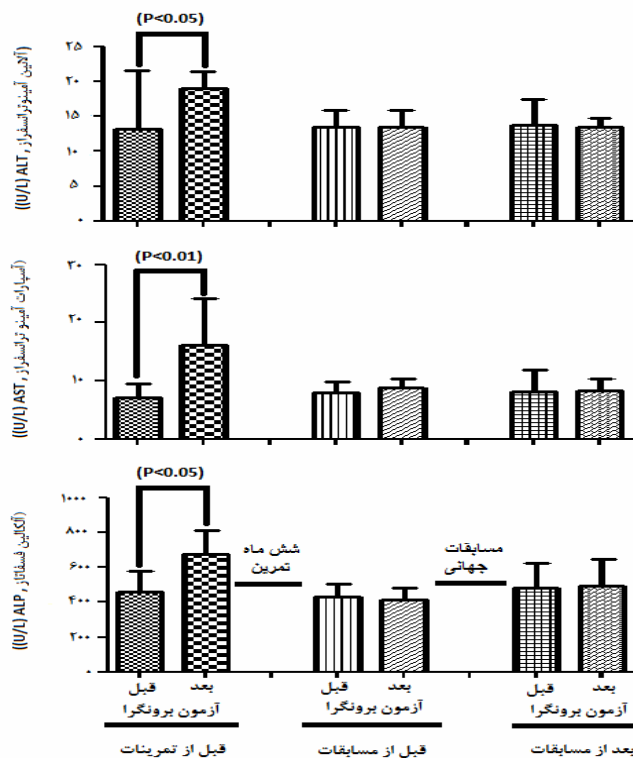
میانگین قد  $8/4 \pm 3/2$  سال، وزن  $36/6 \pm 4/1$  کیلو گرم، قد  $146/8 \pm 6/2$  سانتی متر و شاخص توده بدنی  $18/41 \pm 3/2$  کیلوگرم بر متر مربع بود. در پایان تحقیق، نتایج نشان داد بین سطوح HSP70 در نوبت های قبل از اجرای آزمون ورزشی (در سه نوبت) تفاوت معناداری وجود دارد ( $p<0/05$ ). آزمون تعقیبی بونفرنی نشان داد که این تفاوت بین میانگین نوبت اول با نوبت دوم ( $p=0/023$ ) و سوم ( $p=0/041$ ) مشاهده می شود. هم چنین با مقایسه سطوح HSP70 در نوبت های بعد از اجرای آزمون ورزشی (در سه نوبت)، تفاوت معناداری مشاهده شد ( $p<0/05$ ). آزمون تعقیبی مشخص کرد که این تفاوت بین میانگین نوبت اول و

آنزیم های کبدی و کراتین فسفوکیناز فقط در مرحله قبل از شروع تمرینات (نوبت اول) افزایش معنی داری را نشان داد. محققان نشان داده اند در رویارویی با استرس و بازیابی هموستاز در سطح سلولی، تعدیل های گذرای در بیان ژن های پروتئینی و هم چنین تغییر در عملکرد ساختمان سلولی برای مقابله با شرایط نامطلوب صورت می گیرد (14). پروتئین های HSP نقش های مختلفی از جمله تسهیل در یک پارچه سازی پروتئین ها، جابه جایی و انتقال پروتئین ها، اتصال به پروتئین های تخریب شده، کمک به فعال سازی مجدد آنها و حذف پروتئین های ناپایدار را در بدن ایفا می کنند (15). به علاوه، آنها این پتانسیل را دارند که به عنوان نشانه های آسیب سلولی و در نتیجه جهت اهداف تشخیصی و درمانی استفاده شوند (10، 16).

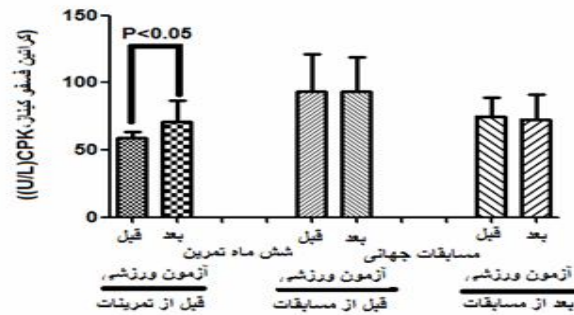
انجام آزمون ورزشی برون گرا، تغییرات معناداری در نوبت های دوم و سوم مشاهده نمی شود ( $p > 0/05$ ). تغییرات آنزیم های AST، ALT و ALP در هر سه نوبت اجرای آزمون ورزشی برون گرا در شکل 1 نشان داده شده است. از طرف دیگر نتایج این تحقیق نشان داد تغییرات کراتین فسفو کیناز تنها در نوبت اول اجرای آزمون ورزشی برون گرا افزایش معنادار پیدا کرده بود ( $p = 0/036$ ) و در نوبت های دوم ( $p = 0/915$ ) و سوم ( $p = 0/736$ ) معنادار نبود. هر چند سطح CPK در نوبت های دوم و سوم (قبل و بعد از آزمون) از نوبت اول بالاتر بود (شکل 2).

### بحث

در پایان نتایج تحقیق، مشاهده گردید که سطوح HSP70 در قبل و بعد از مسابقات آزاد جهانی (نوبت دوم و سوم) افزایش معنی داری می یابد. از سویی دیگر تغییرات



شکل 1. تغییرات آنزیم های AST، ALT و ALP در قبل و بعد از تمرینات شش ماهه (قبل از مسابقات) و پس از مسابقات جهانی به دنبال سه نوبت اجرای آزمون ورزشی برون گرا



شکل 2. تغییرات CPK در قبل و بعد از تمرینات شش ماهه (قبل از مسابقات) و پس از مسابقات جهانی به دنبال اجرای یک آزمون ورزشی برون گرا

چرا که میزان HSP70 در طی نوبت‌های اندازه‌گیری افزایش یافت (جدول 2). شاید در ارتباط با این افزایش بتوان گفت به دنبال شش ماه برنامه تمرینی، سطح آمادگی بدنی ورزشکاران افزایش پیدا کرده بود چرا که مریان با انجام آزمون‌های تخصصی اسکیت، به محققان تحقیق حاضر گزارش دادند که رکوردهای بازیکنان بعد از شش ماه تمرین نسبت به قبل از تمرینات، بسیار بهتر شده است.

نکته مهم در این جا واکنش بدن به انجام تمرینات برون‌گرا است. با اندازه‌گیری میزان کراتین فسفوکیناز در نوبت اول مشاهده می‌شود افزایش معنا داری صورت گرفته است و این موضوع حاکی از آن است که به هر حال تخریب در سارکولما اتفاق افتاده است، اما با واکنش پروتئین شوک گرمایی (جهت محافظت از سلول‌های بدن و مقابله با این آسیب) همراه نبوده است. اما زمانی که نوبت‌های دوم تغییرات کراتین فسفو کیناز و پروتئین شوک گرمایی با یکدیگر مقایسه می‌شود با افزایش معنادار HSP70 همراه است. بنابراین می‌توان گفت با توجه به افزایش شدت نسبی تمرینات در این 26 هفته و بالاتر رفتن سطح آمادگی ورزشکاران احتمالاً توانایی سلول‌های بدن جهت مقابله با آسیب، افزایش پیدا کرده است و در نتیجه بدن این قابلیت را پیدا کرده است که تولید HSP70 را افزایش دهد. از طرف دیگر القای HSP70 به میزان شدت ورزش بستگی

فعالیت ورزشی سنگین با بروز اختلالات متابولیکی و آسیب‌های سلولی ناشی از تمرینی می‌شود و به دنبال آن تنظیماتی در متابولیسم صورت می‌گیرد و فرایندهای انتقال، ترمیم سلولی و سنتز پروتئینی آغاز می‌شود (17). تأثیر شدت و مدت ورزش بر میزان HSP70 توسط محققان بسیاری بررسی شده است (1، 9، 14، 15)، با این حال شدت نسبی تمرین برای ایجاد افزایش HSP70 (بالقوه مفید) به خوبی مشخص نشده است. در فعالیت‌های ورزشی دارای انقباض برون‌گرا مانند پرش‌های ناگهانی به سمت پایین و فعالیت در سرایشی کوهنوردی، آسیب‌های عضلانی بیشتری اتفاق بیفتد (8). مشاهده شده است که تکرار تمرینات برون‌گرا مانند منجر به ایجاد نقص در عملکرد عضلانی، ترشح آنزیم و کوفتگی عضلانی می‌شود (18). در راستای همین موضوع با مراجعه به شکل 2 مشخص می‌شود که به مرور (نوبت اول، دوم و سوم انجام آزمون ورزشی برون‌گرا) میزان HSP70 افزایش پیدا کرده است. پالسون و همکاران (2007) در تحقیقی 14 نفر را انتخاب کردند و آزمون‌های برنامه تمرینی شامل دو دوره پله زدن با فاصله 8 هفته‌ای را، انجام دادند (آزمون‌های در این مدت تمرینات هوازی انجام دادند). نتایج نشان داد میزان HSP70 در هر دو آزمون برون‌گرا افزایش یافته است اما در مرتبه دوم این افزایش بیشتر بود (9) که نتایج با تحقیق حاضر همسو می‌باشد

دارد (14). ورزش با شدت بالا تاثیر بیشتری بر تحریک واکنش های شوک گرمایی دارد. در همین زمینه نتایج تحقیقات نشان می دهد شدت تمرین عاملی مهم در میزان تولید HSP70 است (19). پیک (Peake) و همکاران (2005) دو برنامه تمرینی (دویدن یک ساعته روی نوارگردان بدون شیب با شدت 60 و 85 درصد Vo2Max) را مورد مقایسه قرار دادند. نتایج نشان داد غلظت HSP70 بلافاصله پس از تمرین در هر دو گروه افزایش می یابد اما با بالا رفتن شدت تمرین، افزایش بیشتری اتفاق می افتد (در تمرین متوسط 30 درصد و در تمرین شدید 310 درصد) (19). در پژوهش حاضر به دلیل معنادار بودن تغییرات پروتئین شوک گرمایی می توان گفت بدن ورزشکار در زمانی که در مقابل استرس بیشتری قرار می گیرد واکنش سلولی جهت حفاظت از خود را افزایش می دهد.

علاوه بر این در این پژوهش مشخص گردید پس از اجرای آزمون ورزشی برونگرا، تفاوت معناداری در آنزیم های کبدی در سه نوبت اندازه گیری وجود دارد و این تفاوت تنها در نوبت اول اندازه گیری دیده می شود (بعد از اجرای آزمون ورزشی برونگرا نسبت به قبل از اجرای آزمون ورزشی برونگرا). در تحقیقات نشان داده شده است تغییرات آنزیم های کبدی در اثر ورزش مستقل از جنسیت آزمودنی ها است (13). در شروع پژوهش حاضر، ورزشکاران یک دوره بی تمرینی شش ماهه را طی کرده بودند و بنابر این اجرای آزمون ورزشی برونگرا در نوبت اول را بدون آنکه از آمادگی بدنی مطلوبی برخوردار باشند، انجام داده بودند. پس از اجرای آزمون برونگرا در نوبت اول سطح ALT در حدود 33 درصد، سطح AST در حدود 85 درصد و سطح ALP در حدود 39 درصد افزایش معنادار یافته بود. از طرف دیگر در پایان برنامه تمرینی شش ماهه و اجرای آزمون ورزشی برونگرا در نوبت دوم، تغییری

در میزان آنزیم های کبدی اتفاق نیفتاد. بنابر این با توجه به انجام شش ماه برنامه تمرینی منظم و افزایش سطح آمادگی بدنی افراد، شاید تنها دلیل برای عدم نتایج مشابه در نوبت اول و دوم را بتوان به موضوع سطح آمادگی بدنی افراد مربوط دانست. در اینجا بایستی به نکته دیگری نیز توجه شود و آن این است که دوران برگشت به حالت اولیه را بایستی مورد توجه قرار داد چرا که ممکن است میزان آنزیم های کبدی به مرور زمان تغییر پیدا کند و این موضوع در برخی از تحقیقات بیان شده است (11، 20). از این رو در صورتی که محقق بخواهد، می تواند به زمان های برگشت به حالت اولیه توجه کند (در تحقیق حاضر به دلیل آن که افراد از بازیکنان حرفه ای انتخاب شده بودند، محققان در تعداد نمونه گیری خونی از آنان، محدودیت داشتند). از سویی دیگر پس از مسابقات آزاد جهانی نیز انجام آزمون برونگرا (نوبت سوم) نیز نتوانست تغییری در این سه آنزیم ایجاد کند. جمله اخیر نشان می دهد استرس مسابقات و انجام یک جلسه فعالیت ورزشی شدید (در حد یک مسابقه جهانی) نمی تواند منجر به آسیب رسیدن به کبد شود تا در نهایت بخواهد منجر به افزایش ALT، AST و ALP شود. در تحقیق حاضر افزون بر مطالب فوق، می توان به موضوع نوع برنامه تمرینی نیز توجه کرد. در چندین تحقیق مشخص گردید افزایش آنزیم های کبدی عموماً تحت تاثیر تمرینات مقاومتی قرار می گیرد و به دنبال انجام فعالیت های هوازی با شدت پایین، میزان این آنزیم ها کاهش پیدا می کند (21)، (22). در تحقیق حاضر زمانی که سطح آنزیم های کبدی در قبل از اجرای آزمون در هر سه نوبت مورد بررسی قرار می گیرد، تفاوتی مشاهده نمی شود. این موضوع نشان دهنده آن است که سطح آنزیم ها در افراد، مشابه یکدیگر است و اگر تفاوتی در پس آزمون ها در سه نوبت وجود دارد، به دلیل اجرای این نوع از آزمون ورزشی است. بنابر این بایستی توجه داشت اگر آزمون ورزشی از نوع دیگری (غیر



of exertional heat illness. *European journal of applied physiology*. 2006;97(6):732-6.

2- Ogura Y, Naito H, Akin S, Ichinoseki-Sekine N, Kurosaka M, Kakigi R, et al. Elevation of body temperature is an essential factor for exercise-increased extracellular heat shock protein 72 level in rat plasma. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2008;294(5):R1600-R7.

3- Suzuki K, Peake J, Nosaka K, Okutsu M, Abbiss CR, Surriano R, et al. Changes in markers of muscle damage, inflammation and HSP70 after an Ironman Triathlon race. *European journal of applied physiology*. 2006;98(6):525-34.

4- Knez WL, Jenkins DG, Coombes JS. Oxidative stress in half and full Ironman triathletes. *Medicine and science in sports and exercise*. 2007;39(2):283.

5- Bentley DJ, Millet GP, Vleck VE, McNaughton LR. Specific aspects of contemporary triathlon. *Sports Medicine*. 2002;32(6):345-59.

6- Warburton D, Welsh R, Haykowsky M, Taylor D, Humen D. Biochemical changes as a result of prolonged strenuous exercise. *British journal of sports medicine*. 2002;36(4):301-3.

7- Black C, O'Connor P. (197) Short term effects of 2-grams of dietary ginger on muscle pain, inflammation and disability induced by eccentric exercise. *The Journal of Pain*. 2008;9(4):25-6.

8- Hindell P, Poole K, Robinson E, Reynolds L, Mason H. Induction of DNA damage by a step-test exercise protocol. *Biochemical Society Transaction*. 2001;29(5):115-.

9- 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. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2007;293(2):R844-R53.

10- Tupling AR, Bombardier E, Stewart R, Vigna C, Aquilino AE. Muscle fiber type-specific response of Hsp70 expression in human quadriceps following acute isometric exercise.

از آزمون برونگرا) باشد ممکن است نتایج دیگری به دست بیاید.

### نتیجه گیری

در نهایت این تحقیق نشان داد بالا رفتن سطح آمادگی بدنی ورزشکاران در طول فصل تمرینات و مسابقات باعث افزایش سطح محافظت از بدن (تولید HSP70) می گردد هرچند که نمی توان به صورت مستقیم بیان کرد همیشه با افزایش تخریب سلول های عضلانی، HSP70 افزایش می یابد، بلکه این موضوع به سطح توانایی بدن فرد جهت تولید این پروتئین بستگی دارد، اما می توان اظهار کرد پروتئین های شوک گرمایی (HSP) در تثبیت ساختار پروتئین های آسیب دیده و محافظت از پروتئین ها در مقابل تحلیل و تضعیف دخالت دارند. از سوی دیگر، پاسخ آنزیم های کبدی به اجرای آزمون ورزشی برونگرا در ابتدای تحقیق نسبت به شش ماه فعالیت ورزشی و اجرای مسابقات جهانی، با یکدیگر متفاوت است و احتمالاً دلیل آن را می توان به افزایش سطح آمادگی بدنی (بعد از شش ماه برنامه تمرینی) مربوط دانست و ممکن است این موضوع، باعث جلوگیری از افزایش میزان سطوح آنزیم های ALT، AST و ALP در طول تحقیق و حتی پس از انجام آزمون های ورزشی برونگرا شود.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مدیریت مرکز ورزش درمانی دانشگاه شیراز که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تقدیر می گردد.

### منابع

1- Ruell P, Thompson M, Hoffman K, Brotherhood J, Richards D. Plasma Hsp72 is higher in runners with more serious symptoms

- 18- Kim HJ, Lee YH, Kim CK. Changes in serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP), plasma CPK and plasma hs-CRP in relation to running distance in a marathon (42.195 km) and an ultra-marathon (200 km) race. *European journal of applied physiology*. 2009;105(5):765-70.
- 19- Peake JM, Suzuki K, Hordern M, Wilson G, Nosaka K, Coombes JS. Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. *European journal of applied physiology*. 2005;95(5-6):514-21.
- 20- Wu H-J, Chen K-T, Shee B-W, Chang H-C, Huang Y-J, Yang R-S. Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters. *World Journal of Gastroenterology*. 2004;10(18):2711-4.
- 21- Pettersson J, Hindorf U, Persson P, Bengtsson T, Malmqvist U, Werkström V, et al. Muscular exercise can cause highly pathological liver function tests in healthy men. *British journal of clinical pharmacology*. 2008;65(2):253-9.
- 22- Saengsirisuwan V, Phadungkij S, Pholpramool C. Renal and liver functions and muscle injuries during training and after competition in Thai boxers. *British journal of sports medicine*. 1998;32(4):304-8.
- 23- Levinger I, Goodman C, Peake J, Garnham A, Hare DL, Jerums G, et al. Inflammation, hepatic enzymes and resistance training in individuals with metabolic risk factors. *Diabetic medicine*. 2009;26(3):220-7.
- 24- George A, Bauman A, Johnston A, Farrell G, Chey T, George J. Effect of a lifestyle intervention in patients with abnormal liver enzymes and metabolic risk factors. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2009; 24(3) . 399-407.
- Journal of Applied Physiology. 2007;103(6):2105-11.
- 11- Kratz A, Lewandrowski KB, Siegel AJ, Chun KY, Flood JG, Van Cott EM, et al. Effect of marathon running on hematologic and biochemical laboratory parameters, including cardiac markers. *American journal of clinical pathology*. 2002;118(6):856-63.
- 12- Kinoshita S, Yano H, Tsuji E. An increase in damaged hepatocytes in rats after high intensity exercise. *Acta physiologica scandinavica*. 2003;178(3):225-30.
- 13- Devries MC, Samjoo IA, Hamadeh MJ, Tarnopolsky MA. Effect of endurance exercise on hepatic lipid content, enzymes, and adiposity in men and women. *Obesity*. 2008;16(10):2281-8.
- 14- Belter JG, Carey HV, Garland T. Effects of voluntary exercise and genetic selection for high activity levels on HSP72 expression in house mice. *Journal of Applied Physiology*. 2004;96(4):1270-6.
- 15- 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. *European journal of applied physiology*. 2004;91(2-3):330-5.
- 16- Zic SM, Djuric Z, Ruffin MT, Litzinger AJ, Normolle DP, et al. Pharmacokinetics of 6-, 8-, 10-Gingerols and 6-Shogaol and Conjugate Metabolites in Healthy Human Subjects. *Cancer Epidemiol Biomarker*. 2008; 17(8): 1930-6.
- 17- Arent SM, Senso M, Golem DL, McKeever KH. The effects of theaflavin-enriched black tea extract on muscle soreness, oxidative stress, inflammation, and endocrine responses to acute anaerobic interval training: a randomized, double-blind, crossover study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2010;7(1):11-2.