

Comparison of Exercise-Induced Inflammatory Response in Serum and Saliva of Healthy Men

A. Jafari^{1*}, L. Satarzadeh²,
F. Askarian³, A. Akbar Malekirad⁴

1. Associate Professor, PhD in Exercise & Sport Physiology, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. PhD Student of Exercise & Sport Physiology, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Iran
3. PhD Physical education & Sports Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran, 4. PhD in Neuroscience, University of Payam-e-Noor, Iran
(Received: Aug. 4, 2012; Accepted: Apr. 26, 2013)

ABSTRACT

This study was conducted to compare of inflammatory markers response in serum and saliva of healthy men following an exhaustive exercise test. Twenty two volunteer healthy men (aged 20-30 years and body fat 10-16%) in a quasi-experimental, single group design participated in Bruce exercise test. Serum and saliva samples were collected immediately before and after the exercise test. C-reactive protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6) were determined by Immunoturbidimetric and ELISA methods, respectively. Data were expressed as mean (\pm SD) and analyzed by paired t-test and Spearman at $\alpha \leq 0.05$. The serum and saliva CRP and IL-6 were significantly increased ($P < 0.05$) after the exercise test. Moreover, the correlation between serum and salivary samples for CRP ($r_{Pre} = 0.82$ and $r_{Post} = 0.88$) and IL-6 ($r_{Pre} = 0.42$ and $r_{Post} = 0.54$) was significantly positive ($P < 0.05$). According to the present results, it can be concluded that saliva CRP and most likely IL-6 samples a suitable and noninvasive alternative for use in order to evaluate exercise-induced systemic inflammation.

Keywords: Exercise test, C-reactive protein, Interleukin-6, Serum, Saliva.

مقایسه پاسخ التهابی ناشی از ورزش در سرم و بزاق مردان سالم

افشار جعفری^{۱*}، لیلا ستارزاده^۲، فریبا اسکریان^۳،
علی اکبر ملکی راد^۴

۱. دانشیار، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز
۲. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز و دانشگاه آزاد اسلامی تهران مرکز
۳. استادیار دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز
۴. استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۵/۱۴، تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۰۲/۰۶)

چکیده

این مطالعه به منظور مقایسه پاسخ شاخص های التهابی در سرم و بزاق مردان سالم متعاقب آزمون ورزشی و آمادگی ساز انجام شد. ۲۲ مرد سالم داوطلب (۲۰-۳۰ سال و توده چربی ۱۰-۱۶ درصد)، در قالب یک طرح نیمه تجربی تک گروهی، در آزمون ورزشی بروس شرکت کردند. نمونه های سرمی و بزاقی بلافاصله قبل و بعد از آزمون ورزشی تهیه شد. پروتئین واکنشگر-C و اینترلوکین-۶ به ترتیب با استفاده از ایمونوتوربیدیمتری و الایزا اندازه گیری شد. داده ها با استفاده از آزمون های t همبسته و اسپیرمن در سطح معنی داری پنج درصد بررسی شد. میزان پروتئین واکنشگر-C و اینترلوکین-۶ سرم و بزاق متعاقب آزمون ورزشی به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.05$). به علاوه، رابطه بین مقادیر سرمی و بزاقی پروتئین واکنشگر-C ($r_{Pre} = 0.82$ و $r_{Post} = 0.88$) و اینترلوکین-۶ ($r_{Pre} = 0.42$ و $r_{Post} = 0.54$) به طور معنی داری مثبت بود ($P < 0.05$). براساس نتایج حاضر، می توان نتیجه گیری کرد که نمونه های بزاقی پروتئین واکنشگر-C و به احتمال زیاد اینترلوکین-۶ یک جایگزین غیرتهاجمی مناسب برای بررسی پاسخ التهاب سیستمیک ناشی از ورزش است.

واژه های کلیدی: آزمون ورزشی، پروتئین واکنشگر-C، اینترلوکین-۶، سرم و بزاق.

مقدمه

پاسخ حاد و مزمن دستگاه دفاعی بدن متعاقب انجام فعالیت‌های بدنی سنگین ممکن است به شکل افزایش شاخص‌های التهابی اینترلوکین-۶ (Interleukin-6: IL-6) و پروتئین واکنشگر-C (C-reactive protein: CRP) خون محیطی بروز نماید (Nehlsen-Cannarella *et al.* ۲۰۰۰) Margeli *et al.* (۲۰۰۵) و Cox *et al.* (۲۰۰۹). اگرچه، پاسخ ایجاد شده به شدت، مدت، نوع فعالیت، میزان آمادگی بدنی، عوامل متابولیکی (میزان قند خون و گلیکوژن بافتی)، تغییرات دمایی، جریان خون، وضعیت آبرسانی بدنی (هیدراتاسیون)، عوامل پیش‌التهابی و هورمون‌های استرسی وابسته است (Kirilmaz *et al.* ۲۰۱۰) Gomez-Laguna *et al.* (۲۰۱۰) و Cunniffe *et al.* (۲۰۱۰) Mendham *et al.* (۲۰۱۱). با این حال، محققین Chiappin *et al.* (۲۰۰۵) Christodoulides *et al.* (۲۰۰۷) و Pfaffe *et al.* (۲۰۱۱) متخصصین و مربیان همواره درصد آن بوده‌اند تا با استفاده از روش‌های غیرتهاجمی‌تر و آسانتر، ضمن آگاهی از وضعیت دستگاه ایمنی و سلامت ورزشکاران شرکت‌کننده در تمرینات ورزشی قهرمانی، از بروز التهاب سیستمیک و افت احتمالی عملکردهای ورزشی جلوگیری کنند. در این راستا، نتایج برخی از مطالعات محدود حاکی است که بررسی پاسخ شاخص‌های التهاب سیستمیک در بزاق می‌تواند به عنوان یک روش غیرتهاجمی مورد استفاده قرار بگیرد. به عنوان مثال، Parra *et al.* (۲۰۰۵) با اعلام همبستگی مثبت و نسبتاً بالای میزان پروتئین واکنشگر-C سرمی و بزاقی نتیجه گرفتند که از شاخص‌های بزاقی به منظور بررسی و تشخیص التهاب سیستمیک می‌توان استفاده کرد. در حالی که برخی محققین مانند Dillon *et al.* (۲۰۱۰) در تضاد با گروه تحقیقاتی Parra (۲۰۰۵) هیچ‌گونه رابطه معنی‌دار بین مقادیر سرمی و بزاقی پروتئین

واکنشگر-C مشاهده نمودند. با این حال، تازه‌ترین یافته علمی مربوط به گروه تحقیقاتی Ouellet-Morin (۲۰۱۱) ضمن رد مطالعه Dillon *et al.* (۲۰۱۰)، به مزایای متعدد روش نمونه‌گیری بزاقی و بررسی پروتئین واکنشگر-C در بزاق اشاره داشتند. به علاوه، در برخی مطالعات بالینی مانند تحقیقات Williamson *et al.* (۲۰۱۲) و Fernandez *et al.* (۲۰۱۰) به همبستگی نسبتاً خوب بین اینترلوکین-۶ بزاقی و سرمی اشاره شده است. نتایج Usui *et al.* (۲۰۱۱) نیز حاکی است که مقادیر بزاقی اینترلوکین-۶ متعاقب فعالیت ورزشی همراستا با مقادیر سرمی افزایش می‌یابد. هرچند نتایج Minetto *et al.* (۲۰۰۵ و ۲۰۰۷) به نبود رابطه معنی‌دار بین مقادیر اینترلوکین-۶ سرمی و بزاقی اشاره دارد.

به هر حال، با توجه به نتایج محدود و متناقض و عدم دسترسی به مطالعات جامع در رابطه با مقایسه پاسخ ورزشی شاخص‌های التهابی سرم و بزاق، تحقیق حاضر با هدف مقایسه پاسخ پروتئین واکنشگر-C و اینترلوکین-۶ سرمی و بزاقی مردان سالم پس از انجام یک وهله فعالیت وامانده‌ساز انجام شد.

مواد و روش‌ها

طرح تحقیق، آزمودنی‌ها و قرارداد ورزشی

تحقیق حاضر در قالب طرح تک گروهی نیمه‌تجربی قبل و بعد روی ۲۲ مرد سالم داوطلب (۲۰-۳۰ سال و توده چربی ۱۶-۱۰ درصد) با رعایت مفاد کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد. آزمودنی‌ها در یک ماه قبل از شرکت به هیچ نوع بیماری عفونی، اعم از سرماخوردگی، عفونت لثه و آبنه ی دندان‌ی مبتلا نشده بودند. به علاوه، قبل از تکمیل فرم رضایت آگاهانه، پرسشنامه‌ی سلامتی، فرم یادآمد تغذیه‌ای ۲۴ ساعته و انجام معاینات بدنی توسط پزشک، اهداف و جزئیات مراحل اجرای طرح توسط محقق برای همه شرکت‌کنندگان توضیح داده شد و از

نمونه‌گیری بزاقی و نیم‌ساعت قبل از اجرای قرارداد ورزشی از ورید پیش‌آرنجی (Antecubital vien) چپ تمامی آزمودنی‌ها سه میلی‌لیتر خون وریدی تهیه شد. آزمودنی‌ها طی پنج روز متوالی و در شرایط یکسان (ساعت ۱۶ الی ۲۰) در آزمون وامانده‌ساز بروس شرکت کردند. آزمودنی‌ها قبل از شرکت در قرارداد ورزشی بروس با استفاده از حرکات کششی و نرمشی طی مدت ۱۵ دقیقه بدن خود را گرم نمودند. نمونه‌های بزاقی و سرمی مرحله دوم به ترتیب بلافاصله پس از اجرای قرارداد ورزشی بروس در حالت درازکش تهیه شد. نمونه‌های خونی به منظور تهیه سرم به درون ویال‌های فاقد ماده ضد انعقاد ریخته و به مدت ۱۵ الی ۳۰ دقیقه در دمای اطاق نگهداری می‌شدند. پس از لخته شدن نمونه‌های خونی و سانتریفیوژ نمودن آن‌ها، به همراه نمونه‌های بزاقی تا زمان آزمایش در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند. پروتئین واکنشگر-C سرم و بزاق با استفاده از اتوانالایزر (Model Alcyon 300 Abbott, USA and Germany) و کیت پارس آزمون (2020016) به روش ایمونوتوربیدیمتری با حساسیت بالا (Immunoturbidimetric) و اینترلوکین-۶ توسط کیت ویژه ساخت شرکت اتریشی-آمریکایی بندرمد (Bender Med System) و با استفاده از روش الیزا اندازه‌گیری شد.

روش‌های تحلیل آماری

داده‌های نرمال (نتایج کلموگراف - اسمیرنف)، به صورت میانگین و انحراف استاندارد با استفاده از آزمون t همبسته بررسی شد. به‌علاوه، روابط بینایی و همزمان شاخص‌های سرمی و بزاقی با استفاده از آزمون اسپیرمن (به دلیل تعداد آزمودنی‌ها) مشخص شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS/PASW تحت ویندوز نسخه ۱۸ (Statistical Package for the Social Sciences/Predictive Analytics Software) در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد.

آن‌ها خواسته شد تا از مصرف هرگونه دارو یا مکمل ضدالتهابی وانجام فعالیت‌های بدنی سنگین و غیرمرسوم به طور سرخود و بدون اطلاع قبلی پرهیز نمایند.

اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیکی

ابتدا شاخص‌های پیکرسنجی قد، وزن و درصد توده چربی بدن شرکت‌کنندگان با استفاده از دستگاه ضخامت‌سنج پوستی (Skinfold Caliper) و فرمول سه نقطه‌ای دانشکده پزشکی ورزشی آمریکا اندازه‌گیری شد (Gordon, 2009).

آزمون ورزشی بروس (Bruce exercise test)

آزمون ورزشی وامانده‌ساز بروس روی نوارگردان، متداول‌ترین و معتبرترین آزمون برآورد اکسیژن مصرفی بیشینه یا توان هوازی است که در شش یا هفت مرحله سه دقیقه‌ای اجرا شد. نخستین مرحله این آزمون در تحقیق حاضر با سرعت ۱/۷ مایل در ساعت (۲/۷۴ کیلومتر در ساعت) و شیب ۱۰ درصد آغاز شد. سپس، در هر مرحله، ۱/۳ کیلومتر/ساعت به سرعت و دو درصد به شیب دستگاه اضافه می‌شد. زمان واماندگی، هنگامی بود که آزمودنی‌ها قادر به ادامه‌ی فعالیت دویدن نبودند. سپس، اکسیژن مصرفی بیشینه آزمودنی‌ها با استفاده از فرمول مربوطه محاسبه و برآورد شد (Gordon, 2009).

روش تهیه نمونه‌های سرمی و بزاقی

شرکت‌کنندگان قبل از نمونه‌گیری بزاقی، از خوردن غذا (یک ساعت قبل)، نوشیدن قهوه، نوشابه‌های قندی و اسیدی، مصرف دخانیات یا جویدن آدامس و مواد خوشبوکننده دهان منع شدند (نیم ساعت قبل). ابتدا، نمونه‌های بزاق تحریک نشده در حالت درازکش طی مدت پنج دقیقه بدون قورت دادن به داخل فالكون‌های ۵۰ میلی‌لیتری، ریخته شد (Robson-Ansley et al., 2007). بلافاصله پس از

نتایج

میانگین و خطای انحراف استاندارد سن، وزن، قد، شاخص توده بدن، درصد چربی و توان هوازی آزمودنی‌ها در جدول ۱ و مقادیر سرمی و بزاقی پروتئین واکنشگر-C و اینترلوکین-۶ قبل و متعاقب فعالیت وامانده‌ساز هوازی بروس در جدول ۲ نشان داده شده است.

میزان پروتئین واکنشگر-C و اینترلوکین-۶ سرمی متعاقب آزمون ورزشی بروس به‌طور معنی‌دار ($P < 0.05$) به ترتیب حدود ۶۰/۳ و ۶۰ درصد افزایش

یافت. در حالی که افزایش ناشی از ورزش مقادیر

بزاقی این دو شاخص به ترتیب حدود ۷۰/۶ و ۶۱/۱ درصد بود (جدول ۲).

با این حال، رابطه بین مقادیر سرمی و بزاقی پروتئین واکنشگر-C (قبل از فعالیت $t=0.82$ ، $P < 0.001$) و اینترلوکین-۶ (قبل از فعالیت $t=0.42$ ، $P < 0.001$) و بعد از فعالیت $t=0.88$ ، $P < 0.001$) و اینترلوکین-۶ (قبل از فعالیت $t=0.54$ ، $P < 0.031$) مثبت و معنی‌دار بود (شکل ۱).

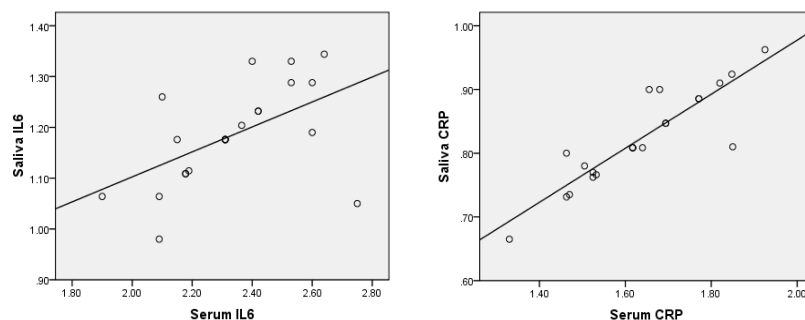
جدول ۱. ویژگی‌های فردی آزمودنی‌های مورد مطالعه (۲۲ نفر)

شاخص‌ها	میانگین	خطای انحراف استاندارد
سن (سال)	۲۴/۲	۱/۴
وزن (کیلوگرم)	۶۴/۴	۲/۵
قد (سانتی متر)	۱۷۲/۸	۲/۹
درصد چربی	۱۰/۲	۱/۱
شاخص توده بدن (کیلوگرم / مترمربع)	۲۱/۴۴	۰/۷۳
اکسیژن مصرفی بیشینه (میلی لیتر / کیلوگرم / لیتر)	۵۹/۲	۱/۸

جدول ۲. مقادیر پروتئین واکنشگر-C سرمی و بزاقی قبل و بعد از آزمون وامانده‌ساز بروس (۲۲ نفر)

شاخص	زمان اندازه‌گیری	میانگین	خطای انحراف استاندارد
پروتئین واکنش‌دهنده-C سرمی (میلی گرم / لیتر)	قبل از فعالیت	۰/۹۳	۰/۰۵
	بعد از فعالیت	۱/۶۰	۰/۰۹۷
پروتئین واکنش‌دهنده-C بزاقی (میکروگرم / لیتر)	قبل از فعالیت	۰/۵۱	۰/۰۲۲
	بعد از فعالیت	۰/۸۷	۰/۰۴۴
اینترلوکین-۶ سرمی (پیکوگرم / میلی لیتر)	قبل از فعالیت	۱/۲۶	۰/۰۸۶
	بعد از فعالیت	۲/۰۲	۰/۱۳۶
اینترلوکین-۶ بزاقی (پیکوگرم / میلی لیتر)	قبل از فعالیت	۰/۹۰	۰/۰۶۳
	بعد از فعالیت	۱/۴۵	۰/۱۰۱

* ($P < 0.05$)



شکل ۱. همبستگی مقادیر سرمی و بزاقی اینترلوکین-۶ و پروتئین واکنشگر-C متعاقب آزمون ورزشی بروس

بحث و نتیجه گیری

(۲۰۰۷) و *Dillon et al.* (۲۰۱۰) حاکی است که برخورداری از توده بدون چربی بالا و درصد چربی کم متعاقب شرکت در برنامه‌های منظم ورزشی می‌تواند باعث کاهش دامنه تغییرات پروتئین واکنشگر-C سرمی پس از انجام فعالیت ورزشی شود. از اینرو، وضعیت جسمانی آزمودنی‌های مورد مطالعه می‌تواند در بروز تفاوت‌ها و تضادهای احتمالی نقش داشته باشد. زیرا، در برخی از مطالعات گذشته از افراد مسن و نسبتاً چاق استفاده شده است *Dillon et al.* (۲۰۱۰) *Kirilmaz et al.* (۲۰۱۰) و *Cunniffe et al.* (۲۰۱۰).

با این حال، نتایج حاضر در تأیید برخی مطالعات قبلی حاکی است که فشارهای اعمال شده حین انجام فعالیت ورزشی می‌تواند باعث افزایش هر دو شاخص التهابی اینترلوکین-۶ و پروتئین واکنشگر-C در سرم و بزاق شود. در این راستا، *Fernandez et al.* (۲۰۱۰) ضمن تأیید همبستگی نسبتاً متوسط بین مقادیر اینترلوکین-۶ پلاسمایی و بزاقی زنان یائسه در معرض فشار روانی، به این نکته اشاره داشتند که فشارهای روانی نیز مانند فشارهای جسمانی ممکن است در بروز التهاب یا افزایش شاخص التهابی اینترلوکین-۶ پلازما و سرم نقش داشته باشد. هرچند، *Williamson et al.* (۲۰۱۲) با بررسی مقادیر استراحتی ۲۷ سایتوکین سرمی و بزاقی، تنها به رابطه معنی‌دار بین مقادیر سرمی و بزاقی سه سایتوکین از جمله اینترلوکین-۶ اشاره داشتند. با این حال، نتایج مطالعه *Usui et al.* (۲۰۱۱) طی بررسی پاسخ اینترلوکین-۶ بزاقی طی مراحل قبل، حین و پس از یک وهله فعالیت طولانی مدت شدید حاکی است که مقادیر بزاقی این شاخص التهابی در بزاق افزایش معنی‌داری می‌یابد. از طرفی، *Minetto et al.* (۲۰۰۵) در تضاد یافته‌های حاضر اظهار داشتند که بین پاسخ ورزشی اینترلوکین-۶ سرم و بزاق هیچ گونه رابطه‌ای وجود ندارد و احتمالاً سازوکارهای مسئول رهاش اینترلوکین-۶ سرمی و بزاقی متفاوت

یافته‌های تحقیق حاضر، همراستا با نتایج *Margeli et al.* (۲۰۰۵) *Pfaffe et al.* (۲۰۱۱) *Chiappin et al.* (۲۰۰۷) و *Yao et al.* (۲۰۰۵) حاکی است که آزمون ورزشی بروس به عنوان یک فعالیت هوازی نسبتاً شدید و سنگین موجب افزایش شاخص‌های التهابی پروتئین واکنشگر-C و اینترلوکین-۶ سرمی و بزاقی می‌شود. البته، مقادیر سرمی تا حد قابل توجهی بیشتر از سطوح بزاقی بود و افزایش مشاهده شده در محدوده طبیعی مربوط به افراد سالم *Ouellet-Scharhag et al.* (۲۰۰۵) *Morin et al.* (۲۰۱۱) و *Shojaei et al.* (۲۰۱۱) بوده است. در این راستا برخی محققین *Patel et al.* (۲۰۰۷) *Minetto et al.* (۲۰۰۷) *Cox et al.* (۲۰۰۹) و *Maekawa et al.* (۲۰۱۱) معتقدند تجمع کلسیم درون سلولی یا تخریب بافتی ناشی از انجام فعالیت‌های بدنی و امانده‌ساز ممکن است با فعال‌سازی عامل نسخه‌برداری کاپابی (NF-kB) باعث آغاز آبخار التهابی و افزایش اینترلوکین-۶ عضلانی و خارج سلولی شود. افزایش اینترلوکین-۶ خارج سلولی نیز ممکن است با تحریک سلول‌های کبدی موجبات ترشح پروتئین واکنشگر-C به درون مایعات خارج سلولی را فراهم سازد. با این حال، نتایج *Ouellet-Morin et al.* (۲۰۱۱) و *Minetto et al.* (۲۰۰۵ و ۲۰۰۷) حاکی است که انجام فعالیت‌های ورزشی نمی‌تواند بلافاصله باعث افزایش شاخص‌های التهابی سرمی یا بزاقی شود. به اعتقاد آنها افزایش شاخص التهابی پروتئین واکنشگر-C بسته به شدت، مدت و نوع فعالیت‌های ورزشی با یک تأخیر ۱۶ الی ۲۴ ساعته مشاهده می‌شود. اگرچه باید اذعان داشت که سن، جنس و وضعیت سلامت یا آمادگی بدنی آزمودنی‌ها می‌تواند در بروز پاسخ‌های مشاهده شده در مطالعات موجود نقش داشته باشد. به عنوان مثال، نتایج برخی از مطالعات از جمله *Stewart et al.* (۲۰۰۷) *Guzelmeric et al.*

در تأیید این مطلب و همراستا با نتایج مطالعه حاضر، برخی از محققین مانند *Ouellet-Morin et al.* (۲۰۱۱) با بررسی پروتئین واکنشگر-C سرم و بزاق ۶۱ داوطلب زن و مرد ۲۰ الی ۵۴ ساله اظهار داشتند که مقادیر پروتئین واکنشگر-C بزاقی می‌تواند یک شاخص معتبر و جایگزین غیرتهاجمی مناسب برای ارزیابی التهاب عمومی باشد. زیرا، رابطه‌ی مثبت بین پروتئین واکنشگر-C سرمی و بزاقی پایه در تحقیق آن‌ها نسبتاً قوی و معنی‌دار بود. *Parra et al.* (۲۰۰۵) نیز با بررسی سگ‌های سالم و بیمار به همبستگی قوی بین پروتئین واکنشگر-C سرمی و بزاقی اشاره داشتند. به علاوه، نتایج حاضر تأییدی بر مطالعه *Gutierrez et al.* (۲۰۰۹) است. زیرا، آن‌ها نیز در بررسی خوک‌ها به رابطه مثبت و نسبتاً قوی (در حدود ۰/۷۳) بین سطوح پروتئین واکنشگر-C سرمی و بزاقی اشاره کردند. البته، برخلاف نتایج مطالعه حاضر و برخی از مطالعات گذشته، *Dillon et al.* (۲۰۱۰) در بررسی خود اعلام داشتند که رابطه بین سطوح سرمی و بزاقی پروتئین واکنشگر-C دانشجویان پزشکی معنی‌دار نیست.

ریشه‌های تضاد موجود بین نتایج حاضر و برخی از مطالعات قبلی با یافته‌های گروه تحقیقاتی *Dillon et al.* (۲۰۱۰) را می‌توان در مواردی مانند عدم کنترل اثرات شاخص توده بدنی، مصرف دخانیات و حتی عدم کنترل میزان سلامت حفره دهانی جستجو کرد؛ که در مطالعات ذکر شده تحت کنترل قرار نگرفته بودند. به علاوه، نباید از نقش روش‌های نمونه‌برداری‌ها بزاقی و شیوه‌های اندازه‌گیری پروتئین واکنشگر-C *Mendham et al.* (۲۰۱۱) غفلت ورزید. به عنوان مثال، در کار تحقیقاتی *Dillon et al.* (۲۰۱۰) روش الیزا برای اندازه‌گیری مقادیر پروتئین واکنشگر-C بزاقی به کار رفته بود. در حالی که در تحقیق حاضر، از روش ایمونوتوربیدیمتری استفاده شده که نسبت به روش الیزا از حساسیت بیشتری

و مجزا می‌باشد. البته، نباید از خطای ناشی از نمونه‌برداری اینترلوکین-۶ بزاقی توسط نوارهای کتانی در مطالعه *Minetto et al.* (۲۰۰۵) چشم‌پوشی کرد. زیرا، چسبندگی اینترلوکین-۶ به فیبرهای کتانی *Shirtcliff et al.* (۲۰۰۱) می‌تواند باعث برآورد کمتر از مقادیر واقعی این شاخص در نمونه‌های بزاقی شود. به علاوه، در برخی مطالعات قبلی از جمله *Sjogren et al.* (۲۰۰۶) و *Cox et al.* (۲۰۰۸) علی‌رغم استفاده از آزمودنی‌های ناهمگون و روش‌های اندازه‌گیری متفاوت برای تعیین غلظت اینترلوکین-۶ سرمی و بزاقی دوندگان نخبه استقامتی (بدون کنترل اثرات سن، جنس، وضعیت آمادگی بدنی) مقادیر پایه در مقایسه با متعاقب ورزش افزایش معنی‌داری یافت، اگرچه بین این دو گروه همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد.

به هر حال، نتایج مطالعه حاضر حاکی است، اگرچه غلظت مقادیر شاخص‌های التهابی بزاقی نسبت به سرمی کمتر است؛ لیکن درصد تغییرات و افزایش ناشی از ورزش در هر دو بافت تقریباً مشابه می‌باشد. البته، برخی محققین مانند *Oliveira et al.* (۱۹۷۹) در رابطه با مقادیر اندک پروتئین واکنشگر-C بزاقی، به ساختار غیراستروئیدی و وزن مولکولی بالای پروتئین واکنشگر-C اشاره داشته‌اند. زیرا، این دو ویژگی ممکن است در نشت و یا اولترافیلتراسیون اندک این شاخص پروتئینی توسط روزنه‌های عروقی به درون حفره دهانی دخالت اساس داشته باشند. با این حال، این ادعا *Vining et al.* (۱۹۸۷) و *Ouellet-Morin et al.* (۲۰۱۱) وجود دارد که مولکول‌های بزرگ، پروتئین‌ها (مانند پروتئین واکنشگر-C) و استروئیدهای بارداری از طریق نشت پلاسمایی ناشی از مایع مغزی-نخاعی وارد حفره دهانی و بافت‌های اطراف می‌شوند. به عبارتی، این احتمال هست که مقادیر موجود در بزاق حاصل نشت پروتئین واکنشگر-C سرمی از طریق شکاف‌های خونی کوچک یا نشت مایع مغزی-نخاعی باشد.

افراد سالم بروز می‌کند با در نظر گرفتن احتیاط‌های لازم می‌توان گفت که اجرای آزمون ورزشی بروس برای تعیین توان هوازی مردان سالم ایمن و قابل استفاده است.

ثالثاً با توجه به رابطه مثبت و معنی‌دار شاخص‌های سرمی و بزاقی می‌توان به محققین و متخصصان ورزشی توصیه کرد تا بجای بررسی تهاجمی پاسخ ورزشی شاخص‌های التهابی در سرم از نمونه‌های بزاقی استفاده کنند. البته، با توجه به برخی تضادهای موجود و محدودیت‌های تحقیق حاضر (عدم بررسی اثرات اجرای آزمون بروس طی چند روز متوالی، عدم اندازه‌گیری پروتئین تام بزاقی و عدم ردیابی شاخص‌های سرمی در بزاق) می‌توان اذعان داشت که هنوز برای دستیابی به نتیجه‌گیری قطعی، مطالعات بیشتری ضرورت دارد. زیرا، هنوز این سوال باقی است که پاسخ ورزشی شاخص‌های التهابی در بزاق ناشی از میکروفیلتراسیون سرمی است یا ناشی از ترشحات موضعی غدد بزاقی؟

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایاننامه سرکار خانم لیلا ستارزاده کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی می‌باشد که با همکاری دانشجویان و مسئولان محترم دانشگاه تبریز انجام شده است. بنابراین، بدینوسیله از همکاری کلیه داوطلبین و مساعدت مسئولان محترم آن دانشگاه صمیمانه تقدیر و تشکر می‌گردد.

REFERENCES

Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF (2007) Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. Clin Chim Acta. [Review].383(1-2):30-40.

Christodoulides N, Mohanty S, Miller CS, Langub MC, Floriano PN, Dharshan P, et al. (2005) Application of microchip assay system for the measurement of C-reactive protein in

برخوردار است. با این حال، براساس یافته‌های تحقیق حاضر و با توجه به جمع‌بندی *Ouellet-Morin et al.* (۲۰۱۱) باید اظهار داشت که شاخص پروتئین واکنشگر-C بزاقی می‌تواند تسهیل‌کننده مطالعات همه‌گیرشناختی مرتبط با التهاب سیستمیک ناشی از انجام فعالیت‌های ورزشی مختلف باشد. زیرا، این گروه تحقیقاتی نشان دادند که پروتئین واکنشگر-C بزاقی می‌تواند تا هشت ساعت بعد از جمع‌آوری در دمای اتاق پایدار بماند. هرچند، نگهداری در یخچال یا منجمد نمودن نمونه‌ها برای دستیابی به نتایج درست و دقیق توصیه شده است. به عبارتی، نتایج آن‌ها تأییدکننده این نکته است که بررسی‌های پروتئین واکنشگر-C و اینترلوکین-۶ بزاقی در محیط‌های طبیعی و در دمای اتاق، این امکان را برای مطالعات همه‌گیرشناختی با جمعیت‌های زیاد فراهم می‌سازد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاضر می‌توان گفت که اولاً اجرای یک وهله فعالیت وامانده‌ساز هوازی به شکل آزمون ورزشی بروس ممکن است باعث بروز پاسخ التهاب مرحله حاد و افزایش شاخص‌های اینترلوکین-۶ و پروتئین واکنشگر-C در سرم و بزاق مردان سالم شود.

ثانیاً، از آنجایی که این تغییرات تنها به شکل یک پاسخ التهابی سطح پایین و در دامنه طبیعی مربوط به

human saliva. Lab Chip. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 5(3): 261-9.

Cox AJ, Pyne DB, Gleeson M, Callister R (2009) Relationship between C-reactive protein concentration and cytokine responses to exercise in healthy and illness-prone runners. Eur J Appl Physiol. [Randomized

- Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2009;107(5):611-4.
- Cox J, Pyne B, Gleson M (2008) Resting plasma and salivary IL-6 concentrations are not correlated in distance runners. *Eur J Appl Physiol.* 103: 477-479.
- Cunniffe B, Hore AJ, Whitcombe DM, Jones KP, Baker JS, Davies B (2010) Time course of changes in immuneoendocrine markers following an international rugby game. *Eur J Appl Physiol.* 108(1): 113-22.
- Dillon MC, Opris DC, Kopanczyk R, Lickliter J, Cornwell HN, Bridges EG, et al. (2010) Detection of homocysteine and C-reactive protein in the saliva of healthy adults: comparison with blood levels. *Biomark Insights.* 5: 57-61.
- Fernandez-Botran R, Miller J, Burns V (2010) Correlations among inflammatory markers in plasma, saliva and oral mucosal transudate in post-menopausal women with past intimate partner violence. *Brain, Behavior, and Immunity.*
- Gomez-Laguna J, Gutierrez A, Pallares FJ, Salguero FJ, Ceron JJ, Carrasco L (2010) Haptoglobin and C-reactive protein as biomarkers in the serum, saliva and meat juice of pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet J.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 185(1):83-7.
- Gordon NF (2009) ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. Lippincott Williams & Wilkins.
- Gutierrez AM, Martinez-Subiela S, Eckersall PD, Ceron JJ (2009) C-reactive protein quantification in porcine saliva: a minimally invasive test for pig health monitoring. *Vet J.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 181(3): 261-5
- Guzelmeric K, Alkan N, Pirimoglu M, Unal O, Turan C (2007) Chronic inflammation and elevated homocysteine levels are associated with increased body mass index in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol.* 23(9): 505-10.
- Kirilmaz B, Asgun F, Alioglu E, Ercan E, Tengiz I, Turk U, et al. (2010) High inflammatory activity related to the number of metabolic syndrome components. *J Clin Hypertens (Greenwich).* [Comparative Study]. 12(2): 136-44.
- Maekawa T, Tabeta K, Kajita-Okui K, Nakajima T, Yamazaki K (2011) Increased expression of C-reactive protein gene in inflamed gingival tissues could be derived from endothelial cells stimulated with interleukin-6. *Arch Oral Biol.* 6.
- Margeli A, Skenderi K, Tsironi M, Hantzi E, Matalas AL, Vrettou C, et al. (2005) Dramatic elevations of interleukin-6 and acute-phase reactants in athletes participating in the ultradistance foot race spartathlon: severe systemic inflammation and lipid and lipoprotein changes in protracted exercise. *J Clin Endocrinol Metab.* 90(7): 3914-8.
- Mendham AE, Donges CE, Liberts EA, Duffield R (2011) Effects of mode and intensity on the acute exercise-induced IL-6 and CRP responses in a sedentary, overweight population. *Eur J Appl Physiol.* 111(6): 1035-45.
- Miles MP, Clarkson PM (1994) Exercise-induced muscle pain, soreness, and cramps. *J Sports Med Phys Fitness.* [Review]. 34(3): 203-16.
- Minetto M, Gazzoni M, Lanfranco F (2007) Influence of the sample collection method on salivary interleukin-6 levels in resting and post-exercise conditions. *Eur J Appl Physiol.* 101: 249-256.
- Minetto M, Rainoldi A, Gazzoni M (2005) Differential responses of serum and salivary interleukin-6 to acute strenuous exercise. *Eur J Appl*

- Physiol. 93: 679-686.
- Nehlsen-Cannarella SL, Nieman DC, Fagoaga OR, Kelln WJ, Henson DA, Shannon M, et al. (2000) Saliva immunoglobulins in elite women rowers. *Eur J Appl Physiol*. [Clinical Trial Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 81(3):222-8.
- Oliveira EB, Gotschlich C, Liu TY (1979) Primary structure of human C-reactive protein. *J Biol Chem*. 25; 254(2): 489-502.
- Ouellet-Morin I, Danese A, Williams B, Arseneault L (2011) Validation of a high-sensitivity assay for C-reactive protein in human saliva. *Brain Behav Immun*. 25(4): 640-6.
- Parra MD, Tecles F, Martinez-Subiela S, Ceron JJ (2005) C-reactive protein measurement in canine saliva. *J Vet Diagn Invest*. [Evaluation Studies Validation Studies]. 17(2): 139-44.
- Patel DN, King CA, Bailey SR, Holt JW, Venkatachalam K, Agrawal A, et al. (2007) Interleukin-17 stimulates C-reactive protein expression in hepatocytes and smooth muscle cells via p38 MAPK and ERK1/2-dependent NF-kappaB and C/EBPbeta activation. *J Biol Chem*. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. 14; 282(37): 27229-38.
- Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C (2011) Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clin Chem*. 57(5): 675-87.
- Robson-Ansley PJ, Blannin A, Gleeson M (2007) Elevated plasma interleukin-6 levels in trained male triathletes following an acute period of intense interval training. *Eur J Appl Physiol*. 99(4): 353-60.
- Scharhag J, Meyer T, Gabriel HH, Schlick B, Faude O, Kindermann W (2005) Does prolonged cycling of moderate intensity affect immune cell function? *British journal of sports medicine*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 39(3):171-7; discussion -7.
- Shirtcliff EA, Granger DA, Schwartz E, Curran MJ (2001) Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. *Psychoneuroendocrinology*. 26: 165-173.
- Shojaei EA, Farajov A, Jafari A (2011) Effect of moderate aerobic cycling on some systemic inflammatory markers in healthy active collegiate men. *Int J Gen Med*. 4: 79-84.
- Sjogren E, Leanderson P, Kristenson M (2006) Interleukin-6 levels in relation to psychosocial factors: studies on serum, saliva, and in vitro production by blood mononuclear cells. *Brain, Behavior, and Immunity*. 20: 270-278.
- Stewart LK, Flynn MG, Campbell WW, Craig BA, Robinson JP, Timmerman KL, et al. (2007) The influence of exercise training on inflammatory cytokines and C-reactive protein. *Med Sci Sports Exerc*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 39(10): 1714-9.
- Usui T, Yoshikawa T, Ueda SH, et al. (2011) Effects of Acute Prolonged Strenuous Exercise on the Salivary Stress Markers and Inflammatory Cytokines. *Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med*. 60(3): 295-304.
- Vining RF, McGinley RA (1987) The measurement of hormones in saliva: possibilities and pitfalls. *J Steroid Biochem*. [Review]. 27(1-3): 81-94.
- Williamson S, Munro C, Pickler R, Grap MJ, et al. (2012) Comparison of Biomarkers in Blood and Saliva in Healthy Adults. *Nursing Research and Practice*. 4 pages.
- Yao C, Wei W, Li X, Hosoi K (2005) Acute phase protein induction by experimental inflammation in the salivary gland. *J Oral Pathol Med*. 34(6): 364-7.