

## Relationship between some immunological indexes and maximal oxygen pulse in active girls: effect of a bout of intense aerobic physical activity

Tartibian B<sup>1</sup>, Shabani M<sup>2</sup>, Ebrahimi-Torkamani B<sup>2\*</sup>

1- Department of Sport Injuries and Corrective Exercises, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Allameh Tabataba'i University, Tehran, I. R. Iran.

2- Department of Physical Education, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Urmia University, Urmia, I. R. Iran.

Received May 9, 2015; Accepted February 22, 2016

### Abstract:

**Background:** The aim of this study was to determine the relationship between T lymphocytes (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>), NK (CD56<sup>+</sup>), CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio and maximal oxygen pulse among the active girls in response to an intense aerobic physical activity.

**Materials and Methods:** This semi-experimental study was conducted on 20-25 years old active women. To estimate maximal oxygen pulse and immune response parameters, GXT treadmill test was performed. In order to evaluate the immune system response to intense physical activity, blood samples were obtained at 3 times (before, immediately after and 2 hours after the exercise).

**Results:** The T-CD4<sup>+</sup> cells and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratios were significantly decreased after an intense aerobic physical activity ( $P<0.05$ ). However, the levels of CD8<sup>+</sup> and CD56<sup>+</sup> cells were significantly increased after the same physical activity. The results also showed a significant positive relationship between maximal oxygen pulse and CD8<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup> cells level ( $r=0.699$ ,  $P<0.001$ ), ( $r=0.49$ ,  $P\leq 0.009$ ). In addition, there was a significant negative relationship between maximal oxygen pulse and CD4<sup>+</sup> ( $r=-0.645$ ,  $P\leq 0.008$ ), CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T-cell ratios ( $r= - 0.539$ ,  $P<0.002$ ).

**Conclusion:** The findings of this research showed that in active women the maximal oxygen pulse, as an indicator of the efficiency of the cardiovascular system, has strong relationship with some immune system parameters.

**Keywords:** Active girls, Exercise, T CD4<sup>+</sup>·CD8<sup>+</sup>, Natural killer cell, Maximal oxygen pulse

**\* Corresponding Author.**

**Email:** Ebrahimi.ba96@yahoo.com

**Tel:** 0098 914 913 2656

**Fax:** 0098 214 411 8632

**Conflict of Interests: No**

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2016; Vol. 20, No 1, Pages 25-32*

# بررسی رابطه بین برخی از شاخص‌های سیستم ایمنی با حداکثر نبض اکسیژن در دختران فعال: اثر یک وله فعالیت شدید هوایی

\*<sup>۱</sup> بختیار تربیان، \*\*<sup>۲</sup> مریم شعبانی، بهمن ابراهیمی ترکمانی

## خلاصه:

سابقه و هدف: هدف از تحقیق حاضر بررسی رابطه بین لنفوسيت‌های T (CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>) و سلول‌های کشندۀ طبیعی (CD56<sup>+</sup>) با حداکثر نبض اکسیژن در دختران فعال در پاسخ به فعالیت بدنه شدید بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه نیمه تجربی با طرح اندازه‌های تکراری بر روی ۱۶ دختر فعال ۲۰-۲۵ ساله انجام شد. جهت برآورده حداکثر نبض اکسیژن و پاسخ شاخص‌های ایمنی از آزمون نوارگردان (GTX) استفاده گردید. نمونه‌های خونی در شرایط پایه، بلافارسله بعد و ۲ ساعت پس فعالیت ورزشی فزاینده برای بررسی مقادیر CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> و نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> (با روش فلوسايتومتری) از ورید بازویی بدست آمد.

نتایج: مقادیر سلول‌های CD4<sup>+</sup> و نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> بلافاصله بعد از فعالیت بدنه کاهش معنی‌داری نشان دادند ( $P \leq 0.05$ ). اما مقادیر سلول‌های CD8<sup>+</sup> و CD56<sup>+</sup> بلافاصله پس از فعالیت بدنه افزایش معنی‌داری را نشان دادند ( $P \leq 0.05$ ). در بررسی ارتباط متغیرها، بین نبض اکسیژن با CD8<sup>+</sup> و CD56<sup>+</sup> ارتباط مثبت و معنی‌دار یافت شد ( $r = 0.69, P = 0.001$ ) و ( $r = 0.49, P = 0.009$ ). هم‌چنین، در بررسی ارتباط بین نبض اکسیژن با CD4<sup>+</sup> و نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ارتباط منفی و معنی‌دار بین این شاخص‌ها یافت شد ( $r = -0.53, P = 0.002$ ) و ( $r = -0.64, P = 0.001$ ).

نتیجه‌گیری: حداکثر نبض اکسیژن به عنوان شاخصی از کارایی دستگاه قلبی-عروقی رابطه قوی با برخی از شاخص‌های ایمنی بدنه بعد از فعالیت ورزشی شدید در دختران فعال دارد.

**واژگان کلیدی:** دختران فعال، تمرین، لنفوسيت‌های CD4<sup>+</sup> و CD8<sup>+</sup>, سلول کشندۀ طبیعی، حداکثر نبض اکسیژن  
دو ماهنامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۱، فوروردین و اردیبهشت ۱۳۹۵، صفحات ۲۵-۳۲

لنفوسيت‌ها گروهی از سلول‌های سفید خون هستند که نقش مهمی در اجرای پاسخ‌های ایمنی اختصاصی بر ضد عوامل بیگانه بر عهده دارند و به سه دسته لنفوسيت‌های B، T و سلول‌های کشندۀ طبیعی (NK) تقسیم می‌شوند [۱]. سلول‌های T-CD4<sup>+</sup> جزء اصلی عوامل پاسخ‌های ایمنی به آنتی‌ژن‌های برووتینی محسوب می‌شوند و برای ایجاد پاسخ‌های ایمنی و همورال لازم هستند. لنفوسيت‌های حاوی سلول‌های T-CD8<sup>+</sup> از مهم‌ترین مکانیزم‌های دفاعی بر ضد میکروب‌های درون سلولی محسوب می‌شوند. هم‌چنین، نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> یک شاخص بالینی اختلالات ایمنی می‌باشد که تحت تأثیر تغییرات T-CD8<sup>+</sup> و T-CD4<sup>+</sup> قرار می‌گیرد. سلول‌های کشندۀ طبیعی (NK) بخشی از ایمنی ذاتی می‌باشند که عملکرد سایتوتوکسیسیته طبیعی دارند و توسط آن قادر هستند بعضی از سلول‌های توموری را از بین بیرند. هم‌چنین، سلول‌های کشندۀ طبیعی لنفوسيت‌هایی با گرانول‌های بزرگ هستند که قادرند بدون برخورد قبلی با سلول‌های هدف و نیز بدون بیان آنتی‌ژن MHC بر روی این سلول‌ها فعالیت سلول‌کشی خود را اعمال کنند [۲] ورزش بر روی قدرت ایمنی در برابر عفونت‌ها، آثار دوگانه دارد؛ بدین صورت که فعالیت ورزشی باشد متوسط، عملکرد سیستم ایمنی را بهبود می‌بخشد [۳]، در حالی که فعالیت

## مقدمه

رشد سریع ورزش، رقابت‌های ورزشی و حرفة‌ای شدن آن و هم‌چنین شرکت چشم‌گیر جوانان در فعالیت‌های دشوار و سنگین باعث شده است واکنش دستگاه ایمنی به ورزش در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از محققین قرار بگیرد. دستگاه ایمنی یکی از دستگاه‌های حیاتی است که عملکرد صحیح آن ضامن سلامت افراد است و در صورت عدم عملکرد صحیح آن ادامه حیات غیر ممکن خواهد بود؛ زیرا بدنه ما پیوسته در معرض تهاجم باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها است. تمام این عوامل حتی در شرایط طبیعی نیز وجود دارند.

<sup>۱</sup> دانشیار، گروه آسیب شناسی و حرکات اصلاحی، دانشکده تربیت بدنه و علوم ورزشی، دانشگاه علامه طباطبائی

<sup>۲</sup> کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنه، دانشکده تربیت بدنه و علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه

\*لشانی نویسنده مسئول؛ تهران، بلوار دهکده المپیک، تقاطع بزرگراه شهید همت، دانشکده تربیت بدنه و علوم ورزشی دانشگاه علامه طباطبائی

تلفن: ۰۲۱۴۴۱۱۸۶۳۳؛ دوام‌پیش: ۰۹۱۴۹۱۳۲۶۵۳؛

پست الکترونیک: ebrahimi.ba96@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۱۲/۳؛ تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۹

که همزمان اندازه‌گیری می‌شود، محاسبه می‌گردد. اندازه‌گیری این شاخص مهم است؛ زیرا با محصول اختلاف اکسیژن سرخرگی-سیاهرگی و حجم ضربه‌ای برابری می‌کند، به طوری که پایین بودن نبض اکسیژن نشان دهنده اختلال در یک یا هر دوی این شاخص‌ها یا کاهش اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها و بنابراین عملکرد ضعیف سیستم قلبی-عروقی است. در هنگام ورزش با افزایش شدت کار، نبض اکسیژن نیز افزایش پیدا می‌کند که به طور عمده به دلیل افزایش اختلاف اکسیژن خون سرخرگی و سیاهرگی است. بنابراین، نبض اکسیژن به عنوان یک شاخص پیش‌آگه‌ی و نشان‌گر عملکرد سیستم قلبی-عروقی معروف شده است [۱۴]. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که پاسخ‌های نبض اکسیژن در دختران متفاوت از پسران است و اغلب در پسران بیشتر دختران همتایشان است [۱۵]. Benschop و همکاران ارتباط بین عوامل قلبی-عروقی (ضربان قلب، فشار خون سیستولیک و فشار خون دیاستولیک) و سلول‌های کشنده طبیعی را مورد بررسی قرار داده‌اند [۱۶]. Huang و همکاران نیز ارتباط بین ضربان قلب با نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> را در ماموران آتش‌نشانی مورد بررسی قرار داده‌اند [۱۷]. با توجه به تفاوت‌های موجود در ویژگی‌های آنتروپومتریک و پاسخ‌های فیزیولوژیک متفاوت دختران در مقایسه با پسران، به ویژه هنگام ورزش و اطلاعات اندک در مورد نبض اکسیژن و پاسخ سیستم ایمنی به فعالیت ورزشی شدید در دختران، ضرورت بررسی این شاخص‌ها در دختران اهمیت می‌یابد. از طرفی بر اساس نظریه «پنجره باز» این احتمال وجود دارد که سیستم ایمنی بدن ورزشکاران پس از شرکت در ورزش‌های شدید سرکوب شده و بدن آنها در معرض عفونت قرار گیرد و هم‌چنین انجام فعالیت بدنهای شدید موجب افزایش احتمال عفونت راه‌های تنفسی فوقانی می‌شود. بنابراین، هدف تحقیق حاضر بررسی ارتباط بین نبض-اکسیژن با شاخص‌های ایمنی بدن در دختران فعال در پاسخ به ورزش فزاینده می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع مطالعات نیمه تجربی با اندازه‌گیری‌های مکرر بود. جامعه آماری این تحقیق دانشجویان دختران دانشگاه ارومیه با دامنه سنی ۲۰-۲۵ سال بودند که حداقل ۳ سال سابقه شرکت در فعالیت‌های منظم ورزشی را داشتند. از بین افراد واجد شرایط، تعداد ۱۶ دختر واجد شرایط پس از تکمیل پرسشنامه تدرستی و رضایت‌نامه در این تحقیق شرکت داده شدند. شرایط ورود به مطالعه عبارت بود از: عدم ابتلا به بیماری‌های عفونی، تنفسی، گرددش خون، قلبی-عروقی، کلیوی و دیابت،

ورزشی شدید و طولانی مدت بسیاری از ابعاد عملکرد سیستم ایمنی را تضعیف می‌کند [۴]. Huang و همکاران نشان دادند که تعداد لنفوцит‌های T-CD4<sup>+</sup> بعد از فعالیت ورزشی کاهش معنی‌داری می‌یابد [۵]. در اکثر تحقیقات افزایش مقادیر لنفوцит‌های T-CD8<sup>+</sup> بعد از تمرینات شدید گزارش شده است [۶]. در واقع فعالیت ورزشی شدید با ایجاد تغییرات قابل توجه در تعداد و توزیع لوکوسیت‌های خون و زیر رده‌های آن باعث برهم خوردن وضعیت هموستان بدن می‌شود. سلول‌های کشنده طبیعی در ورزش شدید افزایش بیشتری را نسبت به بقیه لنفوцит‌ها نشان می‌دهند [۷]. افزایش تجمع سلول‌های کشنده طبیعی به شدت ورزش مربوط می‌شود؛ چنانچه با افزایش شدت ورزش واکنش سلول‌های کشنده طبیعی نیز افزایش می‌یابد [۸]. در زنان ترشح استروژن و پروژسترون عملکرد ایمنی را تغییر می‌دهد. استروژن به طور کلی موجب افزایش پاسخ‌های ایمنی در بدن می‌شود، در حالی که آنдрوجن‌ها، از جمله تستوسترون، بر هر دوی پاسخ ایمنی همورال و سلولی اثر سرکوب کشنده دارند. بیان ژن‌های پیش‌التهابی و ضدالالتهابی در پاسخ به ورزش در زنان تحت تاثیر چرخه قاعدگی قرار می‌گیرد [۹]. در حالت کلی در برخی از جنبه‌های عملکرد سیستم ایمنی میان زنان و مردان تفاوت‌هایی وجود دارد که به نظر می‌رسد زنان کمتر از مردان دچار عفونت‌های ویروسی می‌شوند. ایمنی زنان تحت تاثیر دوره ماهانه و بارداری قرار می‌گیرد؛ بنابراین، زنان در برابر آلودگی‌های ویروسی مقاوم‌تر از مردان هستند [۱۰]. Timmons و همکاران افزایش بیشتر تعداد لوکوسیت‌ها، لنفوцит‌ها و CD16 در دختران نسبت به پسران را بعد از ۶۰ دقیقه دوچرخه سواری با ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی نشان داده‌اند [۱۱]. در حالی که پژوهش‌های دیگر گزارش کرده‌اند که جنسیت تاثیری بر پاسخ ایمنی مخاطبی به ورزش ندارد [۱۲]. براساس الگوی J شکل (رابطه بین خطر عفونت مجاری تنفسی فوقانی و حجم تمرین)، یک وهله ورزش شدید بلندمدت یا یک دوره تمرین سنگین بلندمدت با خطر عفونت مجاری تنفسی اندام فوقانی (URTI) نسبت به افراد بی‌تحرک و تحریب عوامل ایمنی همراه است [۱۳]. از طرفی دستگاه قلبی-تنفسی دستگاه حیاتی بدن در تنظیم عملکرد سایر دستگاه‌های بیولوژیکی است. عملکرد دستگاه قلبی-تنفسی به هنگام فعالیت‌های ورزشی توسط شاخص‌های زیادی مانند حداکثر اکسیژن مصرفی، ضربان قلب، فشار خون، کسر جهشی، هزینه اکسیژن میوکارد و حجم ضربه‌ای ارزیابی می‌شود. نبض اکسیژن، حجم اکسیژن منتقل شده به‌وسیله خون و استخراج شده به‌وسیله بافت‌های محیطی در هر ضربان قلب هست و از طریق تقسیم مقدار اکسیژن مصرفی بر ضربان قلب

صرف هرگونه مواد موثر بر روی متغیرهای وابسته خودداری کنند. لازم به ذکر است این اطمینان به آزمودنی‌ها داده شد تمامی اطلاعات به دست آمده از آنها محفوظ بوده و در هر زمان که بخواهند می‌توانند از آدامه شرکت در مطالعه کتابه‌گیری کنند. به منظور بررسی مقادیر لنفوسيت‌ها و سلول‌های کشته طبیعی قبل از انجام فعالیت بدنه فرازینده ورزشی و در حالت ناشتا (ساعت ۸ صبح)، بلافضله پس از اجرای فعالیت بدنه فرازینده و ۲ ساعت بعد از اتمام فعالیت بدنه فرازینده از آزمودنی‌ها مقدار CC ۲ خون وریدی جمع‌آوری گردید.

اندازه‌گیری زیردههای لنفوسيتی ( $CD4^+, CD8^+$ ) T و سلول‌های NK ( $CD56^+$ )

آزمون آزمایشگاهی طبق هماهنگی با دانشگاه صنعتی ارومیه در پایگاه قهرمانی اجرا شد. شمارش زیردههای لنفوسيتی با استفاده از روش فلوراسیومتری انجام شد. در این روش سلول‌های رنگ شده با مواد فللونکروم به صورت یک جریان خطی از مقابل منبع نوری لیزر عبور می‌کنند و خصوصیات آنها مانند اندازه و میزان گرانولاریته سیتوپلاسم و سیگناال‌های فلورسانس بررسی می‌شود. خون وریدی اخذ شده از آزمودنی‌ها در شیشه‌های حاوی EDTA ریخته شده و چندین بار تکان داده شدند. برای هریک از آزمودنی‌ها از دو لوله جداگانه جهت شمارش لنفوسيت‌های T ( $CD8^+, CD4^+$ ) و سلول‌های کشته طبیعی استفاده شد. حدود حجم انتخابی برای آزمایش ۱۰۰ میکرولیتر بود. به ازای این مقدار شرکت DAKO (آلمان) اضافه شد. محلول به مدت نیم ساعت در محیط تاریک گذاشته شد. بعد از آن ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول لیزر اضافه شد و محلول دوباره تکان داده شد. سپس، ۱۰ دقیقه در محیط تاریک نگهداری شد و بعد از آن ۱۰۰ میکرولیتر محلول لیزر A اضافه شد و محلول دوباره تکان داده شد. سپس، ۱۰ دقیقه در B اضافه گردید. ۱۰ دقیقه در محیط تاریک نگهداری شد و ۱۰ دقیقه تحت تاثیر محلول PBS (پافر فسفات با pH=۷/۲) شد تا واکنش ثبت شود. برای ردیابی آنتی‌ژن‌ها از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال دورنگه کنژوگه به مواد فلورستی شامل CD4/FITC و Mouse Anti-Human CD8/FITC و آنتی‌بادی‌های مونو-کلونال کونژوگه CD56 استفاده شد. بعد از انکوباسیون سلول‌ها با آنتی‌بادی‌های کونژوگه مورد نظر ۸۰۰ میکرومتر با فلزیکنند به آن افزوده شد و بعد از چند مرحله شستشو (برای خارج کردن آنتی-بادی‌های متصل نشده) به آرامی تکان داده شد و جهت کنترل به دستگاه داده شد. بعد از این مراحل منحنی‌های کوامورانت و نقطه‌ای برای دستگاه تعریف گردید. سپس، نمونه‌ها به دستگاه

عدم مصرف دارو، نداشتن سابقه بیماری‌های مزمن، عدم مصرف دخانیات، نداشتن سطح قابل قبولی از آمادگی جسمانی، نداشتن BMI کمتر از ۲۵ کیلوگرم بر مترمربع، نداشتن رژیم غذایی متعادل مطابق با دستور العمل‌های اعلام شده و قرار نداشتن در سیکل اول قاعدگی. هم‌چنین، ویژگی‌های فیزیولوژیکی آزمودنی‌ها شامل وزن به کیلوگرم (با استفاده از ترازوی دیجیتالی بدون کفش و با لباس ورزشی یکسان)، قد (بر حسب سانتی‌متر با استفاده از متر نواری غیر قابل ارجاع در یک روز و ساعت مشخص بدون کفش و جوراب)، درصد چربی و شاخص توده بدنه Body composition (BMI) با دستگاه HBF-306BL OMRON مدل HBF-306BL ساخت کشور فنلاند محاسبه شد. هم‌چنین، ضربان قلب استراحت و فعالیت با استفاده از ضربان شمار الکتریکی POLAR ساخت کشور سوئد و فشار خون با استفاده از دستگاه فشارسنج OMRON مدل M1 Classic اندازه‌گیری شد.

#### پروتکل تمرینی (آزمون GXT)

آزمون ورزشی GXT یک تست ورزشی فرازینده است که توسط George و همکاران تهیه شد. این تست یک آزمون آزمایشگاهی است که بهترین نشان‌دهنده آمادگی قلبی-ریوی (CRF) است. آزمودنی‌ها حدود ۳ دقیقه با سرعت ۱/۲ مایل بر ساعت و با شبی حداقل (صفر درجه) روی نوار گردان شروع به راه رفتن کردند، سپس، طی ۳ دقیقه بعدی آزمودنی‌ها با انتخاب خود با سرعت بین ۴/۳-۷/۵ مایل (۶/۹ الی ۱۲ کیلومتر در ساعت) با شبی حداقل روی نوار گردان شروع به دویدن نمودند. در مراحل بعدی در هر دقیقه، شبی نوار گردان ۲/۵ درصد افزایش یافت (بدون تغییر سرعت)، این روند تا جایی که آزمودنی‌ها خسته می‌شوند و علی‌رغم تشویق کلامی دیگر قادر به دویدن نبودند و نمی‌توانستند ریتم گام‌های خود را مطابق با فرایند پروتکل ورزشی هماهنگ و یا حفظ کنند ادامه داشت. بلافضله بعد از قطع فعالیت، ضربان قلب فعالیت آزمودنی‌ها و سرعت نوار گردان برای هر آزمودنی اندازه‌گیری و ثبت گردید [۱۸]. در این تحقیق آزمون GXT با استفاده از دستگاه نوار گردان با قابلیت تنظیم شبی و سرعت ساخت کشور ایتالیا مدل Techno Gym انجام شد.

#### خونگیری

یک هفته قبل از انجام خونگیری از آزمودنی‌ها خواسته شد تا از انجام تمرینات ورزشی شدید خودداری کنند. هم‌چنین، از کلیه آزمودنی‌ها خواسته شد که یک هفته قبل از اجرای تست از

واماندگی ۱۲ درصد کاهش یافت که از لحظه آماری این کاهش معنی دار بود ( $P \leq 0.05$ ). همچنین، دو ساعت پس از تمرین و در دوره ریکاوری کاهش ۱۵ درصدی را نسبت به مقادیر پایه نشان داد. در تحقیق حاضر مقادیر سلول‌های T-CD8<sup>+</sup> بلافارسله پس از اجرای فعالیت فزاینده تا سرحد واماندگی ۲۵ درصد افزایش یافت که از لحظه آماری معنی دار بود ( $P \leq 0.05$ ). این افزایش دو ساعت پس از تمرین متوقف شده و به زیر مقادیر پایه رسید. نتایج هم‌چنین نشان دادند که نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> بلافارسله بعد از تمرین کاهش ۲۹ درصد نسبت به مقادیر استراحتی داشت که از لحظه آماری این کاهش معنی دار می‌باشد ( $P \leq 0.05$ ). دو ساعت بعد از تمرین این نسبت در مقایسه با مقادیر پایه افزایش ۱۲ درصدی نشان داد و نسبت به بعد از تمرین افزایش ۵۹ درصدی نشان داد. مقادیر سلول‌های CD56<sup>+</sup> بعد از انجام ورزش فزاینده وامانده‌ساز افزایش معنی دار ۹۷ درصدی داشت که این افزایش نیز از لحظه آماری معنی دار بود ( $P \leq 0.05$ ). این میزان دو ساعت پس از تمرین و در دوره ریکاوری کاهش ۶۹ درصدی نسبت به بعد از تمرین داشت و تقریباً به مقادیر پایه نزدیک شد. همچنین، میانگین نسبت اکسیژن برآورده در تحقیق حاضر افزایش ۱۱/۶±۲/۵ میلی‌لیتر بر ضربه بود که نسبت به حالت پایه افزایش قابل توجهی نشان داد ( $P \leq 0.05$ ). با توجه به نتایج حاصل از آزمون ضربی همبستگی پیرسون (جدول شماره ۳)، بین نسبت اکسیژن و T-CD4<sup>+</sup> ارتباط منفی و معنی داری وجود دارد ( $P \leq 0.001$ ،  $r = -0.64$ ). ضربی بتا بین این دو شاخص ( $\beta = -0.499$ ) نشان می‌دهد به ازای هر میلی‌لیتر افزایش در نسبت اکسیژن در نسبت اکسیژن T-CD4<sup>+</sup> واحد کاهش می‌یابد؛ در حالی که بین نسبت اکسیژن و T-CD8<sup>+</sup> ارتباط مثبت و معنی داری مشاهده شد ( $P \leq 0.001$ ،  $r = 0.69$ ). ضربی بتا ( $\beta = 0.06$ ) نیز حاکی از آن است که به ازای هر میلی‌لیتر افزایش در نسبت اکسیژن، T-CD8<sup>+</sup> واحد افزایش می‌یابد. همچنین، در تحقیق حاضر ارتباط مثبت و معنی دار بین نسبت اکسیژن و CD56<sup>+</sup> مشاهده شد ( $P \leq 0.009$ ،  $r = -0.49$ ). ضربی بتای بین این دو شاخص ( $\beta = 0.73$ ) حاکی از آن است که به ازای هر میلی‌لیتر افزایش در نسبت اکسیژن CD56<sup>+</sup> واحد افزایش می‌یابد. بعلاوه، در تحقیق حاضر بررسی ارتباط بین نسبت اکسیژن و نسبت CD4<sup>+/CD8<sup>+</sup> نشان‌دهنده ارتباط منفی و معنی دار بین این دو شاخص است ( $P \leq 0.002$ ،  $r = -0.537$ ) که با افزایش نسبت اکسیژن این نسبت نیز کاهش می‌یابد. همچنین، ضربی بتای بین این دو شاخص ( $\beta = -0.13$ ) می‌باشد که نشان می‌دهد به ازای هر میلی‌لیتر افزایش در نسبت اکسیژن نسبت CD4<sup>+/CD8<sup>+</sup> واحد کاهش می‌یابد.</sup></sup>

فلوسایتمتر Partec مدل PASIII-PAS شرکت DACO داده شد و دستگاه سلول‌ها را بر اساس سایز، گرانولاریتی و شدت نور فلورسانس ایجاد شده تفکیک و شمارش کرد (سرعت شمارش  $1^*10^5$  سلول در دقیقه).

برآورد نسبت اکسیژن و حداکثر نسبت اکسیژن برای برآورد نسبت اکسیژن استراحت از معادله Wasserman و همکاران استفاده گردید [۱۹]. ابتدا اکسیژن مصرفی آزمودنی‌ها مورد محاسبه قرار گرفت و ضربان قلب استراحت نیز توسط محقق اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس، این دو عامل در معادله برآورد نسبت اکسیژن استراحت قرار داده شد و نسبت اکسیژن استراحت برای هر آزمودنی بدست آمد. جهت برآورد حداکثر نسبت اکسیژن از پروتکل ورزشی GXT و معادله Wasserman و همکاران استفاده گردید. ابتدا با استفاده از روابط مربوط به  $VO_2$  peak اوج اکسیژن مصرفی پروتکل GXT مورد محاسبه قرار گرفت. همچنین، اوج ضربان قلب بلافارسله بعد از اتمام آزمون GXT اندازه‌گیری شد و نسبت مقدار اوج اکسیژن مصرفی به اوج ضربان قلب فعالیت مورد محاسبه قرار گرفت. گزارش شده است که پروتکل نوارگردان GXT از روایی و اعتبار بالایی جهت اندازه‌گیری نسبت اکسیژن برخوردار می‌باشد [۲۰، ۱۹].

#### تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات حاصل پس از پردازش با نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ مورد آنالیز آماری قرار گرفت. کلیه نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده و سطح معنی داری نتایج  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. پس از تشخیص نرمال بودن داده‌ها، جهت بررسی تفاوت شاخص‌های ایمنی بدن در سه زمان قبل، بلافارسله بعد و ۲ ساعت پس از فعالیت ورزشی فزاینده واریانس با اندازه‌های مکرر استفاده شد و چون این شاخص‌ها در اکثر زمان‌ها تفاوت معنی داری داشتند، برای روشن نمودن اختلاف بین زمان‌ها آزمون تعقیبی LSD به کار برده شد. همچنین، جهت آزمون فرضیه‌های تحقیق از تحلیل رگرسیون خطی چندگانه با ضربی بتا و ضربی همبستگی پیرسون استفاده شد.

#### نتایج

در جدول شماره ۱ ویژگی‌های فیزیولوژیک آزمودنی‌ها مشخص شده است. یافته‌های جدول شماره ۲ نشان می‌دهد که سطح T-CD4<sup>+</sup> بلافارسله پس از اجرای فعالیت فزاینده تا سرحد

جدول شماره ۱- میانگین و انحراف معیار مشخصات عمومی آزمودنی‌های مورد مطالعه

آماره	وزن (کیلوگرم)	قد (سانتی‌متر)	سن (سال)	ضربان قلب استراحت (ضربه در دقیقه)	ضربان قلب تمرین (ضربه در دقیقه)	BMI (متر مریع)	VO <sub>2</sub> max (ملی لیتر کیلوگرم بر دقیقه)
۵۷/۶۹±۶/۳۸	۱۶۱/۱۹±۶/۸۱	۲۱/۵±۰/۷۳	۸۴±۶/۳۹	۱۹۲/۷۵±۱۵/۴۱	۲۴/۲۵±۲/۲۶	۳۷/۸۷±۳/۷۳	

جدول شماره ۲- میانگین و انحراف معیار تغییرات سطوح زیرده‌های لنفویتی و سلول‌های کشنده طبیعی در مراحل سه‌گانه اندازه‌گیری (درصد) در نمونه خون اخذ شده از آزمودنی‌ها

متغیر	مرحله پایه	مراحل مختلف تمرین
(۳۸/۱۸±۱/۷)	بالافصله بعد از فعالیت ورزشی شدید	۲ ساعت بعد از فعالیت ورزشی شدید
	۱۱۸۶/۶۲۵±۳۰۰	۱۲۲۹/۲۵۰±۳۸۴
(۲۰/۲۶±۸/۶)	(۳۹/۵۶±۰/۵)	(۴۴/۹۱±۰/۶)
	۶۸۰/۵±۲۳۵	۱۱۳۵/۸۵۰±۳۹۲
(۴/۱۸±۱/۴)	(۳۳/۸۳±۱/۲)	(۲۶/۹۵±۴/۲)
	۱۳۳۰/۶±۵۷/۲۴	۴۳۳/۴۳۰±۲۵۱
۱/۸۸±۰/۶۲	(۱۳/۶۳±۰/۱)	(۵/۱۳±۰/۳)
	۱/۱۷±۰/۴۱	۱/۶۶±۰/۶۵
		CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>

اکسیژن را بالافصله بعد از تمرین شدید در دختران فعال نشان داد. پارساپیفر و همکاران کاهش معنی‌دار سلول‌های T-CD4<sup>+</sup> را بالافصله بعد از ورزش شدید نشان داده‌اند، از طرفی این کاهش ۲ ساعت بعد از فعالیت ورزشی به مقدار طبیعی برگشت [۲۱]. کاهش تعداد سلول‌های T-CD4<sup>+</sup> احتمالاً می‌تواند به دلیل کاهش غلظت گلوتامین [۲۲] و گلوکز پلاسمما [۲۳] بعد از تمرینات شدید باشد. کاهش سطح گلوکز پلاسمما به دنبال تمرینات شدید، باعث افزایش سطوح هورمون‌های استرس از جمله اپی‌نفرین می‌شود و باعث تغییر زیرده‌های لنفویتی بهویژه لنفویتی‌های T-T-CD4<sup>+</sup> و کاهش نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> می‌شود [۲۱]. هم‌چنین، کاهش سلول‌های T-CD4<sup>+</sup> می‌تواند به خاطر اثر کورتیزول، بتا-اندروفین‌ها و تستوسترون بر این سلول‌ها باشد [۲۳]. کاهش نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> می‌تواند بر اثر افزایش یا کاهش T-CD4<sup>+</sup> T-CD8<sup>+</sup> باشد که در این میان افزایش لنفویتی‌های T-CD8<sup>+</sup> بر اثر تمرین تاثیر بیشتری می‌گذارد؛ از سوی دیگر بازآرایی زیرده‌های لنفویتی پس از تمام تمرین، از مکانیسم‌های مهار دستگاه ایمنی عنوان شده است. هورمون‌های تنظیم‌گر ایمنی مانند کورتیزول، اپی‌نفرین، پروستاگلاندین E2 و سایتوکین‌ها در طول تمرینات شدید، سلول‌های لنفوئیدی و زیرده‌های لنفویتی را با تغییرات زیادی مواجه می‌سازد [۵]. سازوکار اپی‌نفرین وجود گیرنده‌های بتا‌ادرنرژیک در سطح زیرده‌های لنفویتی است. سلول‌های T-CD4<sup>+</sup> دارای تعداد کمی گیرنده‌های بتا‌ادرنرژیک هستند، درصورتی که تراکم این گیرنده‌ها در سلول‌های T-CD8<sup>+</sup> زیاد است. این گیرنده‌ها تحت تاثیر هورمون‌های مذکور قرار می‌-

جدول شماره ۳- نتایج آزمون ضربی همبستگی پیرسون و بتا بر ارتباط بین نبض اکسیژن با زیرده‌های لنفویتی و NK بالافصله بعد از فعالیت ورزشی شدید در آزمودنی‌ها

ارتباط متغیرها	P*	r	Beta	سطح معنی‌داری
نبض اکسیژن CD4 <sup>+</sup>	۰/۰۰۱**	-۰/۶۴۴	-۴/۹۹	
نبض اکسیژن CD8 <sup>+</sup>	۰/۰۰۱**	۰/۶۹۷	۱/۰۶	
نبض اکسیژن CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	۰/۰۰۲**	-۰/۵۳۷	-۰/۰۱۳	
نبض اکسیژن CD56 <sup>+</sup>	۰/۰۰۹**	۰/۴۹۴	۹/۷۳	

## بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ایمنی سلولی در دختران جوان تحت تاثیر شدت تمرین قرار می‌گیرد. فعالیت بدنی شدید باعث تضعیف یا مهار سیستم ایمنی به صورت تغییرات T-CD4<sup>+</sup> T-CD8<sup>+</sup> و کاهش نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> می‌شود. هم‌چنین، فعالیت بدنی شدید باعث افزایش نبض اکسیژن می‌شود که سازوکارهای مشترک می‌تواند ارتباط این شاخص‌ها را باهم توجیه کند. فعالیت بدنی شدید موجب کاهش معنی‌دار T-CD4<sup>+</sup> و نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> افزایش معنی‌دار T-CD8<sup>+</sup> در دختران فعال می‌شود. لنفویتی‌های T-CD4<sup>+</sup> در ایجاد پاسخ ایمنی سلولی و همووال نقش اساسی دارند و جز اصلی عوامل تنظیمی پاسخ‌های ایمنی محسوب می‌شوند. نتایج تحقیق حاضر ارتباط معنی‌دار منفی بین T-CD4<sup>+</sup> و نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> با نبض -

CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> در هر دو گروه کاهش می‌یابد [۲۸]. شدت فعالیت باعث افزایش فشار خون شده و از طریق گیرنده‌ها آلفا آدرنرژیک منجر به انقباض عروق می‌شود. هم‌چنین، احتمال دارد مکانیسم‌های بتا‌آدرنرژیک مسئول افزایش فشار خون از طریق افزایش در بروندۀ قلبی باشد که منجر به افزایش سلول‌های کشنده طبیعی و از طرف دیگر افزایش در ضربان قلب و در نتیجه افزایش نبض اکسیژن می‌شود و رابطه مثبت بین نبض اکسیژن و سلول‌های کشنده طبیعی را توجیه می‌کند. Iftikhar و همکاران ارتباط بین برخی از شاخص‌های التهابی و سیستم ایمنی را با کارابی دستگاه قلبی-عروقی مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که در مردان سالم بین WBC و عوامل التهابی چون CRP، فیبرینوژن، IL-6 و VO<sub>2max</sub> رابطه معکوس وجود دارد [۲۹]. با توجه به عوامل مختلف درگیر در ارزیابی عوامل ایمنی، از قبیل شدت و مدت فعالیت، نوع فعالیت، جنسیت آزمودنی‌ها، سطح آمادگی جسمانی، زمان نمونه‌گیری و نوع انقباض، پاسخ دستگاه ایمنی می‌تواند متفاوت باشد. ارتباط نبض اکسیژن با شاخص‌های منتخب ایمنی در این تحقیق نشان می‌دهد که فشار کار منجر به کاهش حجم پلاسمای می‌شود که با افزایش پیوسته ضربان قلب، حجم ضربه‌ای، فنار سیستولیک، درجه حرارت مرکزی بدن تا ۴۰ درجه سانتگی گراد، تهویه ریوی تا ۲۰ برابر، کاتکولامین‌های پلاسمای و در نتیجه کاهش یا افزایش در برخی شاخص‌های ایمنی و افزایش در نبض اکسیژن همراه است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان سلول‌های CD56<sup>+</sup> بعد از انجام ورزش فراینده و امانده‌ساز افزایش معنی‌داری داشت. از دلایل افزایش سلول‌ها CD56<sup>+</sup> می‌توان به اثر هورمون اپی‌نفرین بر گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک موجود در سطح این سلول‌ها اشاره کرد [۲۴]. هم‌چنین، سایتوکاین‌های ترشح شده توسط سلول‌های T نوع یک، مثل ایترافرون گاما (INF-γ) و ایترلوکین دو (IL-2) [۲۵]، افزایش جریان خون و دهیدراسيون [۲۶] و نیز افزایش بتا‌آندروفین‌ها [۲۴] و دمای مرکزی بدن [۲۷] می‌تواند باعث این افزایش شوند. نتایج مطالعه هم‌چنین ارتباط معنی‌دار مثبتی را بین CD56<sup>+</sup> و نبض اکسیژن بلاعده بعد از تمرین شدید در دختران فعال نشان داد. Moyna و همکاران افزایش سلول‌های NK را هم در آزمودنی‌های زن در خلال ۳ دوره ۶ دقیقه‌ای تمرین ورزشی فرآینده بر روی دوچرخه کارسنج گزارش کردند [۲۶]. مطالعات اندکی تاثیر جنسیت بر روی پاسخ ایمنی به ورزش را بررسی کرده‌اند. Morgado و همکاران گزارش کردند یک جلسه فعالیت شدید شنا باعث افزایش لوکوسیت‌ها، مجموع لنفوسيت‌ها، T-CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> و نسبت CD16<sup>+/56<sup>+</sup> در پسران می‌شود. هم‌چنین، در زنان لوکوسیت‌ها و CD19<sup>+</sup> افزایش یافته و نسبت</sup>

گیرند. با توجه به عمل گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک، افزایش T-CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> و کاهش نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> تحت کنترل و تاثیر هپیوفیز قدامی و دستگاه اعصاب سمباتیک قرار می‌گیرد. در فعالیت‌های بدنی شدید این کنترل مرکزی تحریک شده و ظرفیت سمباتیک آدرنال و محور قشری هپیوتالاموس-هپیوفیز را در پاسخ به شدت تمرین تغییر می‌دهد. اسید آمینه‌های شاخه‌دار (BCAA) به ویژه گلوتامین و آلانین در فراهم‌سازی انرژی زیرده‌های لنفوسيتی نقش اصلی را ایفا می‌کنند. مقدار این اسید آمینه‌ها به علت مصرف در ورزش‌های شدید هوایی و بی‌هوایی کاهش یافته و در صورت جایگزین نشدن باعث کاهش نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> و تعداد لنفوسيت‌های T-CD4<sup>+</sup> و سایر زیرده‌های لنفوسيتی شده و در نهایت باعث تضعیف دستگاه ایمنی ورزشکاران می‌گردد [۲۳]. تمرین شدید با T-T-CD4<sup>+</sup> و کاهش نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> می‌شود؛ از طرفی تمرین شدید با افزایش بروندۀ قلبی، جریان خون ریوی و تهویه ریوی باعث افزایش فراینده نبض اکسیژن می‌شود. فشار کار منجر به کاهش حجم پلاسمای می‌شود که با افزایش پیوسته ضربان قلب، حجم ضربه‌ای، فشار سیستولیک و کاتکولامین‌های پلاسمای و در نتیجه کاهش یا افزایش در برخی مارکرهای ایمنی و افزایش در نبض اکسیژن همراه است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان سلول‌های CD56<sup>+</sup> بعد از انجام ورزش فراینده و امانده‌ساز افزایش معنی‌داری داشت. از دلایل افزایش سلول‌ها CD56<sup>+</sup> می‌توان به اثر هورمون اپی‌نفرین بر گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک موجود در سطح این سلول‌ها اشاره کرد [۲۴]. هم‌چنین، سایتوکاین‌های ترشح شده توسط سلول‌های T نوع یک، مثل ایترافرون گاما (INF-γ) و ایترلوکین دو (IL-2) [۲۵]، افزایش جریان خون و دهیدراسيون [۲۶] و نیز افزایش بتا‌آندروفین‌ها [۲۴] و دمای مرکزی بدن [۲۷] می‌تواند باعث این افزایش شوند. نتایج مطالعه هم‌چنین ارتباط معنی‌دار مثبتی را بین CD56<sup>+</sup> و نبض اکسیژن بلاعده بعد از تمرین شدید در دختران فعال نشان داد. Moyna و همکاران افزایش سلول‌های NK را هم در آزمودنی‌های مرد و هم در آزمودنی‌های زن در خلال ۳ دوره ۶ دقیقه‌ای تمرین ورزشی فرآینده بر روی دوچرخه کارسنج گزارش کردند [۲۶]. مطالعات اندکی تاثیر جنسیت بر روی پاسخ ایمنی به ورزش را بررسی کرده‌اند. Morgado و همکاران گزارش کردند یک جلسه فعالیت شدید شنا باعث افزایش لوکوسیت‌ها، مجموع لنفوسيت‌ها، T-CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> و نسبت CD16<sup>+/56<sup>+</sup> در پسران می‌شود. هم‌چنین، در زنان لوکوسیت‌ها و CD19<sup>+</sup> افزایش یافته و نسبت</sup>

### نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد یک جلسه فعالیت بدنی شدید، افزایش سلول‌های NK و T-CD8<sup>+</sup> را در دختران فعال به همراه دارد. هم‌چنین، یک جلسه فعالیت بدنی شدید موجب کاهش T-CD4<sup>+</sup> و نسبت CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> در دختران فعال می‌شود. حداقل نبض اکسیژن به عنوان شاخصی از کارابی دستگاه قلبی-عروقی رابطه قوی با برخی شاخص‌های ایمنی بدن در دختران فعال دارد. بر اساس تئوری "پنجه باز" و یافته‌های حاصل از این پژوهش توصیه می‌شود زنان از انجام ورزش‌های شدید خودداری کنند.

### تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر بخشی از نتایج پایان‌نامه دانشجویی می‌باشد. از دانشجویان دختر رشته تربیت بدنی دانشگاه ارومیه که به عنوان آزمودنی همکاری صمیمانه‌ای با محققین داشتند، تشکر می‌گردد.

## References:

- [1] Abbas A, Lichtman A, Pober J. Cellular and molecular immunology. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Bsauders; 2012. p. 25-75.
- [2] Gaal K, Sun N, Hernandez A, Arber D. Sinonasal NK/T cell lymphomas in the united states. *Am J Surg Pathol* 2000; 24(11): 1511-17.
- [3] Lower T, Padgett DA, Woods JA. Moderate exercise early after influenza virus infection reduces the th1 inflammatory response in lungs of mice. *Exerc Immunol Rev* 2006; 12(4): 97-111.
- [4] Kapasi ZF, Mcrae ML, Ahmed R. Suppression of viral specific primary T cell response following intense physical exercise in young but not old mice. *J Appl Physiol* 2005; 98(2): 663-71.
- [5] Huang CJ, Webb HE, Garten RS, Kamimori GH, Acevedo EO. Psychological stress during exercise: Lymphocyte subset redistribution in firefighters. *Physiol Behav* 2010; 101(3): 320-6.
- [6] Kakanis MW, Peake J, Brenu EW, Simmonds M, Gray B, Hooper SL, et al. The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. *Exerc Immunol Rev* 2010; 16: 119-37.
- [7] Bell E, Spartshott S, Bunce C. CD4+ T cell memory, CD45R subsets and the persistence of antigen: a unifying concept. *Immunol Today* 1998; 19(2): 60-4.
- [8] Timmons B, Cieslak T. Human natural killer cell subsets and acute exercise: a brief review. *Exerc Immunol Rev* 2008; 14: 8-23.
- [9] Northoff H, Symons S, Zieker D, Schaible EV, Schafer K, Thoma S, et al. Gender- and menstrual phasedependent regulation of inflammatory gene expression in response to aerobic exercise. *Exerc Immunol Rev* 2008; 14: 86-103.
- [10] Haus E, Smolensky MH. Biologi rythms in the immune system. *Chronobiol Int* 1999; 16(5): 581-622.
- [11] Timmons B, Tarnopolsky, M, Snider D, Bar-O. Immunological changes in response to exercise: influence of age, puberty, and gender. *Med Sci Sport Exerc* 2006; 38(2): 293-304.
- [12] Allgrove JE, Geneen L, Latif S, Gleeson M. Influence ofa fed or fasted state on the s-IgA response to prolonged cycling in active men and women. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2009; 19(3): 209-21.
- [13] Michael G. Immune Function in Sport and Exercise. *J Appl Physiol* 2007; 103: 693-9.
- [14] Lavie CJ, Milani RV, Mehra MR. Peak exercise oxygen pulse and prognosis in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2004; 93(5): 588-93.
- [15] McCann DJ. Body Size and Vo2 Peak: A New Prespective? *Int J Sport Med* 2004; 25(1): 50-5.
- [16] Benschop RJ, Geenen R, Mills PJ, Naliboff BD, Kiecolt-Glaser JK, Herbert TB, et al. Cardiovascular and Immune Response to Acute Psychological Stress in Young and Old Women: A Meta-Analysis. *Psychosom Med* 1998; 60(3): 290-6.
- [17] Huang CJ, Webb HE, Garten RS, Kamimori GH, Acevedo EO. Psychological stress during exercise: Lymphocyte subset redistribution in firefighters. *Physiol Behav* 2010; 101(3): 320-6.
- [18] George JD, Vehrs PR, Allsen PE, Fellingham GW, Fisher AG. Development of a submaximal treadmill jogging test for fit collegeaged individuals. *Med Sci Sport Exerc* 1993; 25(5): 643-7.
- [19] Wasserman K, Hansen J, Sue M, William W, Kathy E, Xing G. Principles of Exercise Testing and Interpretation: Including Pathophysiology and Clinical Applications. 5<sup>nd</sup> ed. Hardcovor Publishers; 2011. p. 315.
- [20] Bieger WP, Weiss M, Michel G, Weicher H. Exercise induce moncytosis and modulation of monocyte function. *Int J Sports Med* 1980; 10(1): 30-6.
- [21] Ghafourian BM, Habibi A, Zadkarami M, Nikbakht M, Parsaei-Far A. Effect of one session incremental exhaustive pedaling with hand on T and NK cells response of immune system of athlete students. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci* 2010; 18(5): 436-43. [in Persian]
- [22] Hiscock N, Pedersen BK. Exercise-induced immunodepression- plasma glutamine is not the link. *J Appl Physiol (1985)* 2002; 93(3): 813-22.
- [23] Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. Exercise and immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev* 2000; 80(3): 1055-81.
- [24] McFarlin BK, Flynn MG, Stewart LK, Timmerman KL. Carbohydrate intake during endurance exercise increases natural killer cellresponsiveness to IL-2. *J Appl Physiol* 2004; 96(1): 271-5.
- [25] Peake J, Peiffer JJ, Abbiss CR, Nosaka K, Okutsu M, Laursen PB, et al. Body temperature and its effect on leukocyte mobilization, cytokines and markers of neutrophil activation during and after exercise. *Eur J Appl Physiol* 2008; 102(4): 391-401.
- [26] Moyna NM, Acker GR, Fulton JR, Weber K, Goss FL, Robertson RJ, et al. Lymphocyte function and cytokine production during incremental exercise in active and sedentary males and females. *Int J Sports Med* 1996; 17(8): 585-91.
- [27] Gleeson M, Nieman DC, Pedersen BK. Exercise, nutrition and immune function. *J Sports Sci* 2004; 22(4): 115-25.
- [28] Morgado JP, Monteiro CP, Matias CN, Alves F, Pessoa P, Reis J, et al. Sex-Based Effects on Immune Changes Induced by a Maximal Incremental Exercise Test in Well-Trained Swimmers. *J Sports Sci Med* 2014; 13(3): 708-14.
- [29] Kullo IJ, Khaleghi M, Hensrud DD. Markers of inflammation are inversely associated with VO2 max in asymptomatic men. *J Appl Physiol* 2007; 102(4): 1374-9.
- [30] Benschop RJ, Geenen R, Mills PJ, Naliboff BD, Kiecolt-Glaser JK, Herbert TB, et al. Cardiovascular and Immune Response to Acute Psychological Stress in Young and Old Women: A Meta-Analysis. *Psychosom Med* 1998; 60(3): 290-6.