

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

Tartibian B¹, Shabani M², Ebrahimi-Torkamani B^{2*}

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⁺, CD8⁺), NK (CD56⁺), CD4⁺/CD8⁺ 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⁺ cells and CD4⁺/CD8⁺ ratios were significantly decreased after an intense aerobic physical activity ($P < 0.05$). However, the levels of CD8⁺ and CD56⁺ cells were significantly increased after the same physical activity. The results also showed a significant positive relationship between maximal oxygen pulse and CD8⁺, CD56⁺ 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⁺ ($r = -0.645$, $P \leq 0.008$), CD4⁺/CD8⁺ 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⁺·CD8⁺, 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

Please cite this article as: Tartibian B, Shabani M, Ebrahimi-Torkamani B. Relationship between some immunological indexes and maximal oxygen pulse in active girls: effect of a bout of intense aerobic physical activity. *Feyz* 2016; 20(1): 25-32.

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

بختیار ترتیبیان^۱، مریم شعبانی^۲، بهمن ابراهیمی ترکمانی^{۳*}

خلاصه:

سابقه و هدف: هدف از تحقیق حاضر بررسی رابطه بین لئوسیت‌های T ($CD8^+$, $CD4^+$)، نسبت $CD4^+/CD8^+$ و سلول‌های کشته طبیعی ($CD56^+$) با حداکثر نبض اکسیژن در دختران فعال در پاسخ به فعالیت بدنی شدید بود.

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

نتایج: مقادیر سلول‌های $CD4^+$ و نسبت $CD4^+/CD8^+$ بلافاصله بعد از فعالیت بدنی فزاینده کاهش معنی‌داری نشان دادند ($P \leq 0/05$). اما مقادیر سلول‌های $CD8^+$ و $CD56^+$ بلافاصله پس از فعالیت بدنی فزاینده افزایش معنی‌داری را نشان دادند ($P \leq 0/05$). در بررسی ارتباط متغیرها، بین نبض اکسیژن با $CD8^+$ و $CD56^+$ ارتباط مثبت و معنی‌دار یافت شد ($r=0/69$, $P \leq 0/001$) و ($r=0/49$, $P \leq 0/009$). همچنین، در بررسی ارتباط بین نبض اکسیژن با $CD4^+$ و نسبت $CD4^+/CD8^+$ ارتباط منفی و معنی‌دار بین این شاخص‌ها یافت شد ($r=-0/53$, $P \leq 0/002$) و ($r=-0/64$, $P \leq 0/001$).

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

واژگان کلیدی: دختران فعال، تمرین، لئوسیت‌های $CD4^+$ و $CD8^+$ ، سلول کشته طبیعی، حداکثر نبض اکسیژن

دو ماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۵، صفحات ۳۲-۲۵

مقدمه

لئوسیت‌ها 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 لئوسیت‌های T، B و سلول‌های کشته طبیعی (NK) تقسیم می‌شوند [۱]. سلول‌های $T-CD4^+$ جزء اصلی عوامل پاسخ‌های ایمنی به آنتی‌ژن‌های پروتئینی محسوب می‌شوند و برای ایجاد پاسخ‌های ایمنی و همورال لازم هستند. لئوسیت‌های حاوی سلول‌های $T-CD8^+$ از مهم‌ترین مکانیزم‌های دفاعی بر ضد میکروب‌های درون سلولی محسوب می‌شوند. هم‌چنین، نسبت $CD4^+/CD8^+$ یک شاخص بالینی اختلالات ایمنی می‌باشد که تحت تاثیر تغییرات $T-CD8^+$ و $T-CD4^+$ قرار می‌گیرد. سلول‌های کشته طبیعی (NK) بخشی از ایمنی ذاتی می‌باشند که عملکرد سایتوتوکسیسته طبیعی دارند و توسط آن قادر هستند بعضی از سلول‌های توموری را از بین ببرند. هم‌چنین، سلول‌های کشته طبیعی لئوسیت‌هایی 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؛ بدین‌صورت که فعالیت ورزشی با شدت متوسط، عملکرد سیستم ایمنی را بهبود می‌بخشد [۳]، درحالی‌که فعالیت

رشد سریع ورزش، رقابت‌های ورزشی و حرفه‌ای شدن آن و هم‌چنین شرکت چشم‌گیر جوانان در فعالیت‌های دشوار و سنگین باعث شده است واکش 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 بدن ما پیوسته در معرض تهاجم باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها است. تمام این عوامل حتی در شرایط طبیعی نیز وجود دارند.

^۱ دانشیار، گروه آسیب شناسی و حرکات اصلاحی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه علامه طباطبائی

^۲ کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه

*نشانی نویسنده مسئول:

تهران، بلوار دهکده المپیک، تقاطع بزرگراه شهید همت، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه علامه طباطبائی

دوره‌نویس: ۰۲۱۴۴۱۱۸۶۳۲

تلفن: ۰۹۱۴۹۱۳۲۶۵۶

پست الکترونیکی: 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، به‌طوری‌که پایین بودن نبض اکسیژن نشان‌دهنده 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 به‌طور عمده به‌دلیل افزایش اختلاف اکسیژن خون سرخرگی و سیاهرگی است. بنابراین، نبض اکسیژن به‌عنوان یک شاخص پیش‌آگهی و نشان‌گر عملکرد سیستم قلبی-عروقی معرفی 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 $CD4^+/CD8^+$ را در ماموران آتش‌نشانی مورد بررسی قرار داده‌اند [۱۷]. باتوجه به تفاوت‌های موجود در ویژگی‌های آنتروپومتریک و پاسخ‌های فیزیولوژیک متفاوت دختران در مقایسه با پسران، به‌ویژه 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 بدنی 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 اندازه‌گیری-های مکرر بود. جامعه آماری این تحقیق دانشجویان دختران دانشگاه ارومیه با دامنه سنی ۲۵-۲۰ 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 تندرستی و رضایت‌نامه در این تحقیق شرکت داده شدند. شرایط ورود به مطالعه عبارت بود از: عدم ابتلا به بیماری-های عفونی، تنفسی، گردش خون، قلبی-عروقی، کلیوی و دیابت،

ورزشی شدید و طولانی‌مدت بسیاری از ابعاد عملکرد سیستم ایمنی را تضعیف می‌کند [۴]. Huang و همکاران نشان دادند که تعداد لنفوسیت‌های $T-CD4^+$ بعد از فعالیت ورزشی کاهش معنی‌داری می‌یابد [۵]. در اکثر تحقیقات افزایش مقادیر لنفوسیت-های $T-CD8^+$ 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 هموستاز بدن می‌شود. سلول‌های کشنده طبیعی در ورزش شدید افزایش بیشتری را نسبت به بقیه لنفوسیت‌ها 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 پروژ-سترون عملکرد ایمنی را تغییر می‌دهد. استروژن به‌طور کلی موجب افزایش پاسخ‌های ایمنی در بدن می‌شود، درحالی‌که آندروژن‌ها، از جمله تستوسترون، بر هر دوی پاسخ ایمنی همورال و سلولی اثر سرکوب کننده دارند. بیان ژن‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی 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 به‌نظر 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، لنفوسیت‌ها و $CD16$ در دختران نسبت به پسران را بعد از ۶۰ دقیقه دوچرخه سواری با ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی نشان داده‌اند [۱۱]، درحالی‌که پژوهش‌های دیگر گزارش کرده‌اند که جنسیت تاثیری بر پاسخ ایمنی مخاطی 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 تخریب 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

عدم مصرف دارو، نداشتن سابقه بیماری‌های مزمن، عدم مصرف دخانیات، داشتن سطح قابل قبولی از آمادگی جسمانی، داشتن BMI کمتر از ۲۵ کیلوگرم بر مترمربع، داشتن رژیم غذایی متعادل مطابق با دستورالعمل‌های اعلام شده و قرار داشتن در سیکل اول قاعدگی. همچنین، ویژگی‌های فیزیولوژیکی آزمودنی‌ها شامل وزن به کیلوگرم (با استفاده از ترازوی دیجیتال بدون کفش و با لباس ورزشی یکسان)، قد (بر حسب سانتی‌متر با استفاده از متر نواری غیر قابل ارتجاع در یک روز و ساعت مشخص بدون کفش و جوراب)، درصد چربی و شاخص توده بدنی (BMI) با دستگاه Body composition دستی مارک 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 فزاینده 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 شیب حداقل (صفر درجه) روی نوار گردان شروع به راه رفتن کردند، سپس، طی ۳ دقیقه بعدی آزمودنی‌ها با انتخاب خود با سرعت بین ۷/۵-۴/۳ مایل (۹/۶ الی ۱۲ کیلومتر در ساعت) با شیب حداقل روی نوارگردان شروع به دویدن نمودند. در مراحل بعدی در هر دقیقه، شیب نوار گردان ۲/۵ درصد افزایش یافت (بدون تغییر سرعت)، این روند تا جایی که آزمودنی‌ها خسته می‌شدند 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. بلافاصله بعد از قطع فعالیت، ضربان قلب فعالیت آزمودنی‌ها و سرعت نوارگردان برای هر آزمودنی اندازه‌گیری و ثبت گردید [۱۸]. در این تحقیق آزمون GXT با استفاده از دستگاه نوارگردان با قابلیت تنظیم شیب 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

مصرف هرگونه مواد موثر بر روی متغیرهای وابسته خودداری کنند. لازم به ذکر است این اطمینان به آزمودنی‌ها داده شد تمامی اطلاعات به‌دست آمده از آنها محفوظ بوده و در هر زمان که بخواهند می‌توانند از ادامه شرکت در مطالعه کناره‌گیری کنند. به منظور بررسی مقادیر لنفوسیت‌ها و سلول‌های کشنده طبیعی قبل از انجام فعالیت بدنی فزاینده ورزشی و در حالت ناشتا (ساعت ۸ صبح)، بلافاصله پس از اجرای فعالیت بدنی فزاینده و ۲ ساعت بعد از اتمام فعالیت بدنی فزاینده از آزمودنی‌ها مقدار ۲ CC خون وریدی جمع‌آوری گردید.

اندازه‌گیری زیررده‌های لنفوسیتی $(CD4^+, CD8^+)$ T و سلول‌های NK $(CD56^+)$

آزمون آزمایشگاهی طبق هماهنگی با دانشگاه صنعتی ارومیه در پایگاه قهرمانی اجرا شد. شمارش زیررده‌های لنفوسیتی با استفاده از روش فلوسایتومتری انجام شد. در این روش سلول‌های رنگ شده با مواد فلئوئوکروم به‌صورت یک جریان خطی از مقابل منبع نوری لیزر عبور می‌کنند و خصوصیات آنها مانند اندازه و میزان گرآنولاریته سیتوپلاسم و سیگنال‌های فلئوئورسانس 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 لنفوسیت‌های $(CD4^+, CD8^+)$ و سلول‌های کشنده طبیعی استفاده شد. حدود حجم انتخابی برای آزمایش ۱۰۰ میکرولیتر بود. به ازای این مقدار ۱۰ میکرولیتر آنتی‌سرم مارکر مخصوص (کیت آزمایشگاهی ساخت شرکت DACO آلمان) اضافه شد. محلول به مدت نیم ساعت در محیط تاریک گذاشته شد. بعد از آن ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول لایز A اضافه شد و محلول دوباره تکان داده شد. سپس، ۱۰ دقیقه در محیط تاریک نگهداری شد و بعد از آن ۱۰۰ میکرولیتر محلول لایز B اضافه گردید. ۱۰ دقیقه در محیط تاریک نگهداری شد و ۱۰ دقیقه تحت تاثیر محلول PBS (بافر فسفات با $pH=7.2-7.8$) شد تا واکنش تثبیت شود. برای ردیابی آنتی‌ژن‌ها از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال دورنگه کزنوگ به مواد فلورسنتی شامل CD4/FITC و Mouse Anti-Human CD8/FITC و آنتی‌بادی‌های مونوکلونال کزنوگ CD56 استفاده شد. بعد از آنکوپاسیون سلول‌ها با آنتی‌بادی‌های کزنوگه مورد نظر ۸۰۰ میکرومتر بافر لیزکننده به آن افزوده شد و بعد از چند مرحله شستشو (برای خارج کردن آنتی‌بادی‌های 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

واماندگی ۱۲ درصد کاهش یافت که از لحاظ آماری این کاهش معنی‌دار 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 $T-CD8^+$ بلافاصله پس از اجرای فعالیت فزاینده تا سرحد واماندگی ۲۵ درصد افزایش یافت که از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P \leq 0/05$). این افزایش دو ساعت پس از تمرین متوقف شده و به زیر مقادیر پایه رسید. نتایج هم-چنین نشان دادند که نسبت $CD4^+/CD8^+$ بلافاصله بعد از تمرین کاهش ۲۹ درصد نسبت به مقادیر استراحتی داشت که از لحاظ آماری این کاهش معنی‌دار 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 $CD56^+$ بعد از انجام ورزش فزاینده وامانده‌ساز افزایش معنی‌دار ۹۷ درصدی داشت که این افزایش نیز از لحاظ آماری معنی‌دار 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 نبض-اکسیژن برآوردی در تحقیق حاضر $11/6 \pm 2/5$ میلی‌لیتر بر ضربه بود که نسبت به حالت پایه افزایش قابل توجهی نشان داد ($P \leq 0/05$). باتوجه به نتایج حاصل از آزمون ضریب همبستگی پیرسون (جدول شماره ۳)، بین نبض اکسیژن و $T-CD4^+$ ارتباط منفی و معنی‌داری وجود دارد ($r = -0/64$, $P \leq 0/001$). ضریب بتا بین این دو شاخص ($\beta = -4/99$) نشان می‌دهد به ازای هر میلی‌لیتر افزایش در نبض اکسیژن $T-CD4^+$ ۴/۹۹ واحد کاهش می‌یابد؛ در-حالی‌که بین نبض اکسیژن و $T-CD8^+$ ارتباط مثبت و معنی‌داری مشاهده شد ($r = 0/69$, $P \leq 0/001$). ضریب بتا $\beta = 1/06$ نیز حاکی از آن است که به ازای هر میلی‌لیتر افزایش در نبض اکسیژن، $T-CD8^+$ ۱/۰۶ واحد افزایش می‌یابد. هم‌چنین، در تحقیق حاضر ارتباط مثبت و معنی‌دار بین نبض اکسیژن و $CD56^+$ مشاهده شد ($r = -0/49$, $P \leq 0/009$). ضریب بتای بین این دو شاخص ($\beta = 9/73$) حاکی از این است که به ازای هر میلی‌لیتر افزایش در نبض اکسیژن $CD56^+$ ۹/۷۳ واحد افزایش می‌یابد. به‌علاوه، در تحقیق حاضر بررسی ارتباط بین نبض اکسیژن و نسبت $CD4^+/CD8^+$ نشان‌دهنده ارتباط منفی و معنی‌دار بین این دو شاخص است ($r = -0/537$, $P \leq 0/002$) که با افزایش نبض اکسیژن این نسبت نیز کاهش می‌یابد. هم‌چنین، ضریب بتای بین این دو شاخص $-0/013$ می‌باشد که نشان می‌دهد به ازای هر میلی‌لیتر افزایش در نبض اکسیژن نسبت $CD4^+/CD8^+$ ۰/۰۱۳ واحد کاهش می‌یابد.

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

برآورد نبض اکسیژن و حداکثر نبض اکسیژن

برای برآورد نبض 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 نبض اکسیژن استراحت قرار داده شد و نبض اکسیژن استراحت برای هر آزمودنی به‌دست آمد. جهت برآورد حداکثر نبض 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 بلافاصله 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 نبض 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 به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده و سطح معنی‌داری 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، بلافاصله بعد و ۲ ساعت پس از فعالیت ورزشی فزاینده واریانس با اندازه‌های مکرر استفاده شد و چون این شاخص‌ها در اکثر زمان‌ها تفاوت معنی‌داری داشتند، برای روشن نمودن اختلاف بین زمان‌ها آزمون تعقیبی LSD به‌کار برده شد. هم‌چنین، جهت آزمون فرضیه‌های تحقیق از تحلیل رگرسیون خطی چندگانه با ضریب بتا و ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد.

نتایج

در جدول شماره ۱ ویژگی‌های فیزیولوژیک آزمودنی‌ها مشخص شده است. یافته‌های جدول شماره ۲ نشان می‌دهد که سطح $T-CD4^+$ بلافاصله پس از اجرای فعالیت فزاینده تا سرحد

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

متغیر	وزن (کیلوگرم)	قد (سانتی‌متر)	سن (سال)	ضربان قلب استراحت (ضربه در دقیقه)	ضربان قلب تمرین (ضربه در دقیقه)	BMI (کیلوگرم بر متر مربع)	VO ₂ max (میلی لیتر کیلوگرم بر دقیقه)
آماره	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 زیررده‌های لنفوسیتی و سلول‌های کشنده طبیعی در مراحل سه‌گانه اندازه‌گیری (درصد) در نمونه خون اخذ شده از آزمودنی‌ها

مراحل مختلف تمرین متغیر	مرحله پایه	بلافاصله بعد از فعالیت ورزشی شدید	۲ ساعت بعد از فعالیت ورزشی شدید
CD4 ⁺	۱۳۹۵/۷±۳۷۱ (۴۴/۹۱±۰/۶)	۱۲۲۹/۲۵±۳۸۴ (۳۹/۵۶±۰/۵)	۱۱۸۶/۶۲۵±۳۰۰ (۳۸/۱۸±۱/۷)
CD8 ⁺	۹۰۴/۸۲۵±۳۸۷ (۲۶/۹۵±۴/۲)	۱۱۳۵/۸۵±۳۹۲ (۳۳/۸۳±۱/۲)	۶۸۰/۵±۲۳۵ (۲۰/۲۶±۸/۶)
CD56 ⁺	۱۶۳/۲۵±۸۳ (۵/۱۳±۰/۳)	۴۳۳/۴۳±۲۵۱ (۱۳/۶۳±۰/۱)	۱۳۳/۰۶±۵۷/۲۴ (۴/۱۸±۱/۴)
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	۱/۶۶±۰/۶۵	۱/۱۷±۰/۴۱	۱/۸۸±۰/۶۲

جدول شماره ۳- نتایج آزمون ضریب همبستگی پیرسون و بتا بر ارتباط بین نبض اکسیژن با زیررده‌های لنفوسیتی و NK بلافاصله بعد از فعالیت ورزشی شدید در آزمودنی‌ها

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

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⁺، T-CD8⁺ و کاهش نسبت CD4⁺/CD8⁺ 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⁺ و نسبت CD4⁺/CD8⁺ و افزایش معنی‌دار T-CD8⁺ در دختران فعال می‌شود. لنفوسیت‌های T-CD4⁺ در ایجاد پاسخ ایمنی سلولی و همورال نقش اساسی دارند و جز اصلی عوامل تنظیمی پاسخ‌های ایمنی محسوب می‌شوند. نتایج تحقیق حاضر ارتباط معنی‌دار منفی بین T-CD4⁺ و نسبت CD4⁺/CD8⁺ با نبض-

اکسیژن را بلافاصله بعد از تمرین شدید در دختران فعال نشان داد. پارسایی‌فر و همکاران کاهش معنی‌دار سلول‌های T-CD4⁺ را بلافاصله 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⁺ احتمالاً می‌تواند به دلیل کاهش غلظت گلوتامین [۲۲] و گلوکز پلاسما [۲۳] بعد از تمرینات شدید باشد. کاهش سطح گلوکز پلاسما به دنبال تمرینات شدید، باعث افزایش سطوح هورمون‌های استرس از جمله اپی‌نفرین می‌شود و باعث تغییر زیررده‌های لنفوسیتی به ویژه لنفوسیت‌های T-CD4⁺، T-CD8⁺ و کاهش نسبت CD4⁺/CD8⁺ می‌شود [۲۱]. همچنین، کاهش سلول‌های T-CD4⁺ می‌تواند به خاطر اثر کورتیزول، بتا-اندروژن‌ها و تستوسترون بر این سلول‌ها باشد [۲۳]. کاهش نسبت CD4⁺/CD8⁺ می‌تواند بر اثر افزایش یا کاهش T-CD4⁺ و یا T-CD8⁺ باشد که در این میان افزایش لنفوسیت‌های T-CD8⁺ بر اثر تمرین تاثیر بیشتری می‌گذارد؛ از سوی دیگر بازآرایی زیر-رده‌های لنفوسیتی پس از اتمام تمرین، از مکانیسم‌های مهار دستگاه ایمنی عنوان شده است. هورمون‌های تنظیم‌گر ایمنی مانند کور-تیزول، اپی‌نفرین، پروستاگلاندین E2 و سایتوکین‌ها در طول تمرینات شدید، سلول‌های لنفوسیتی و زیررده‌های لنفوسیتی را با تغییرات زیادی مواجه می‌سازد [۵]. سازوکار اپی‌نفرین وجود گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک در سطح زیر رده‌های لنفوسیتی است. سلول‌های T-CD4⁺ دارای تعداد کمی گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک هستند، در صورتی‌که تراکم این گیرنده‌ها در سلول‌های T-CD8⁺ زیاد است. این گیرنده‌ها تحت تاثیر هورمون‌های مذکور قرار می-

گیرند. باتوجه به عمل گیرنده‌های بتاآدرنژیک، افزایش $T-CD8^+$ ، کاهش نسبت $CD4^+/CD8^+$ و کاهش پاسخ تکثیری لنفوسیت‌ها به میتوز، تحت کنترل و تاثیر هیپوفیز قدامی و دستگاه اعصاب سمپاتیک قرار می‌گیرد. در فعالیت‌های بدنی شدید این کنترل مرکزی تحریک شده و ظرفیت سمپاتیک آدرنال و محور قشری هیپوتالاموس-هیپوفیز را در پاسخ به شدت تمرین تغییر می‌دهد. اسید آمینه‌های شاخه‌دار (BCAA) به‌ویژه گلوتامین و آلانین در فراهم‌سازی انرژی زیررده‌های لنفوسیتی نقش اصلی را ایفا می‌کنند. مقدار این اسید آمینه‌ها به‌علت مصرف در ورزش‌های شدید هوازی و بی‌هوازی کاهش یافته و در صورت جایگزین نشدن باعث کاهش نسبت $CD4^+/CD8^+$ و تعداد لنفوسیت‌های $T-CD4^+$ و سایر زیررده‌های لنفوسیتی شده و در نهایت باعث تضعیف دستگاه ایمنی ورزشکاران می‌گردد [۲۳]. تمرین شدید با تضعیف یا مهار سیستم ایمنی منجر به تغییر در $T-CD4^+$ ، $T-CD8^+$ و کاهش نسبت $CD4^+/CD8^+$ می‌شود؛ از طرفی تمرین شدید با افزایش برون‌ده قلبی، جریان خون ریوی و تهویه ریوی باعث افزایش فزاینده نبض اکسیژن می‌شود. فشار کار منجر به کاهش حجم پلاسما می‌شود که با افزایش پیوسته ضربان قلب، حجم ضربه‌ای، فشار سیستولیک، درجه حرارت مرکزی بدن تا ۴۰ درجه سانتیگراد، تهویه ریوی تا ۲۰ برابر، کاتکولامین‌های پلاسما و در نتیجه کاهش یا افزایش در برخی شاخص‌های ایمنی و افزایش در نبض اکسیژن همراه است [۳۰].

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد یک جلسه فعالیت بدنی شدید، افزایش سلول‌های NK و $T-CD8^+$ را در دختران فعال به همراه دارد. همچنین، یک جلسه فعالیت بدنی شدید موجب کاهش $T-CD4^+$ و نسبت $CD4^+/CD8^+$ در دختران فعال می‌شود. حداکثر نبض اکسیژن به‌عنوان شاخصی از کارایی دستگاه قلبی-عروقی رابطه قوی با برخی شاخص‌های ایمنی بدن در دختران فعال دارد. بر اساس تئوری "پنجره 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 به‌عنوان آزمودنی همکاری صمیمانه‌ای با محققین داشتند، تشکر می‌گردد.

گیرند. باتوجه به عمل گیرنده‌های بتاآدرنژیک، افزایش $T-CD8^+$ ، کاهش نسبت $CD4^+/CD8^+$ و کاهش پاسخ تکثیری لنفوسیت‌ها به میتوز، تحت کنترل و تاثیر هیپوفیز قدامی و دستگاه اعصاب سمپاتیک قرار می‌گیرد. در فعالیت‌های بدنی شدید این کنترل مرکزی تحریک شده و ظرفیت سمپاتیک آدرنال و محور قشری هیپوتالاموس-هیپوفیز را در پاسخ به شدت تمرین تغییر می‌دهد. اسید آمینه‌های شاخه‌دار (BCAA) به‌ویژه گلوتامین و آلانین در فراهم‌سازی انرژی زیررده‌های لنفوسیتی نقش اصلی را ایفا می‌کنند. مقدار این اسید آمینه‌ها به‌علت مصرف در ورزش‌های شدید هوازی و بی‌هوازی کاهش یافته و در صورت جایگزین نشدن باعث کاهش نسبت $CD4^+/CD8^+$ و تعداد لنفوسیت‌های $T-CD4^+$ و سایر زیررده‌های لنفوسیتی شده و در نهایت باعث تضعیف دستگاه ایمنی ورزشکاران می‌گردد [۲۳]. تمرین شدید با تضعیف یا مهار سیستم ایمنی منجر به تغییر در $T-CD4^+$ ، $T-CD8^+$ و کاهش نسبت $CD4^+/CD8^+$ می‌شود؛ از طرفی تمرین شدید با افزایش برون‌ده قلبی، جریان خون ریوی و تهویه ریوی باعث افزایش فزاینده نبض اکسیژن می‌شود. فشار کار منجر به کاهش حجم پلاسما می‌شود که با افزایش پیوسته ضربان قلب، حجم ضربه‌ای، فشار سیستولیک و کاتکولامین‌های پلاسما 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 $CD56^+$ بعد از انجام ورزش فزاینده و امانده‌ساز افزایش معنی‌داری داشت. از دلایل افزایش سلول‌ها $CD56^+$ می‌توان به اثر هورمون اپی‌نفرین بر گیرنده‌های بتاآدرنژیک موجود در سطح این سلول‌ها اشاره کرد [۲۴]. همچنین، سایتوکاین‌های ترشح شده توسط سلول‌های T نوع یک، مثل اینترفرون گاما ($INF-\gamma$) و اینترلوکین دو ($IL-2$) [۲۵]، افزایش جریان خون و دهیدراسیون [۲۶] و نیز افزایش بتاآندروفین‌ها [۲۴] و دمای مرکزی بدن [۲۷] می‌تواند باعث این افزایش شوند. نتایج مطالعه هم‌چنین ارتباط معنی‌دار مثبتی را بین $CD56^+$ و نبض اکسیژن بلافاصله 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 فزاینده بر روی دوچرخه کارسنج گزارش کرده‌اند [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 لنفوسیت‌ها، $T-CD4^+$ ، $T-CD8^+$ و نسبت $CD16^+/56^+$ در پسران می‌شود. هم‌چنین، در زنان لوکوسیت‌ها و $CD19^+$ افزایش یافته و نسبت

References:

- [1] Abbas A, Lichtman A, Pober J. Cellular and molecular immunology. 8th ed. Philadelphia: Bsaunders; 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 S, Latif S, Gleeson M. Influence of a 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 Perspective? *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. 5nd ed. Hardcover Publishers; 2011. p. 315.
- [20] Bieger WP, Weiss M, Michel G, Weicher H. Exercise induce monocytosis 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.