

تاثیر مصرف مکمل گلوتامین بر تغییرات HSP72، کورتیزول و گلوکز پلاسما پس از فعالیت ورزشی

سجاد کرمی^۱، دکتر مجید کاشف^۱، دکتر عباسعلی گائینی^۲، دکتر حمید رجبی^۲، مجید امانی^۱

۱) گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، ۲) گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران ۳) گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تربیت معلم تهران. نشانی مکاتبه‌ی نویسنده مسئول: تهران، لویزان، خیابان شهید شعبانلو، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، کدپستی: ۱۵۸۱۱-۱۶۷۸۸، سجاد کرمی، e-mail: Karami.sp@gmail.com

چکیده

مقدمه: گلوتامین نقشی کلیدی در محافظت از سلول به دنبال استرس بر عهده دارد که این امر همراه با افزایش HSP72 می‌باشد. به نظر می‌رسد این امر به سوخت و ساز گلوتامین و ارتباط آن با مقادیر کورتیزول و روند گلوکوتونوز وابسته باشد. مواد و روش‌ها: به منظور بررسی اثر مصرف مکمل گلوتامین بر تغییرات HSP72، کورتیزول و گلوکز پلاسما، ۲۸ فوتبالیست باشگاهی به چهار گروه برابر: کنترل، مکمل، مکمل - فعالیت ورزشی و فعالیت ورزشی تقسیم شدند. مکمل و دارونما به مقدار ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن و حجم ۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن در یک ساعت قبل از اجرای پروتکل فعالیت تناوبی مصرف شد. پروتکل فعالیت ورزشی شامل ۳ مرحله دویدن ۲۰ دقیقه‌ای با شدت ۸۰٪ بیشینه ضربان قلب و استراحت‌های ۵ دقیقه‌ای پیاده روی بود. نمونه‌های خونی پایه، پیش‌آزمون، پس‌آزمون و ۹۰ دقیقه پس از آزمون اخذ و مقادیر کورتیزول، گلوکز و HSP72 به ترتیب با استفاده از روش رادیوایمونواسی، آنزیمی و الایزا سنجیده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس در اندازه‌گیری مکرر چند متغیره و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح ۰/۰۵ P تحلیل شد. یافته‌ها: مقادیر کورتیزول و گلوکز پلاسما در هیچ یک از گروه‌ها تغییر معنی‌داری از خود نشان نداد. مقادیر HSP72 در گروه‌های مکمل و مکمل - فعالیت ورزشی افزایش یافت. نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد گلوتامین مستقل از نقشی که در ارتباط با کورتیزول و گلوکواستاتیک دارد، ممکن است محرک پاسخ HSP72 نیز باشد، هم‌چنین ترکیب مکمل - فعالیت ورزشی پاسخ بزرگ‌تری از HSP72 را منجر می‌شود، بنابراین به ورزشکارانی که قصد شرکت در مسابقات و یا فعالیت‌های شدید را دارند، مصرف مکمل گلوتامین توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: گلوتامین، کورتیزول، گلوکز پلاسما، HSP72، فعالیت ورزشی

دریافت مقاله: ۹۱/۴/۱۰ - دریافت اصلاحیه: ۹۱/۹/۱۲ - پذیرش مقاله: ۹۱/۹/۱۹

مقدمه

پاسخ پروتئین‌های شوک گرمایی^۱ (HSP) یک واکنش رایج و معمول سلول به استرس‌های خارجی مانند فعالیت ورزشی است و ویژگی این دسته از پروتئین‌ها سنتز فوری آن‌ها پس

از قرار گرفتن موجود زنده در معرض استرس می‌باشد. رهایش این پروتئین‌ها از عضله‌ی اسکلتی، عضله‌ی قلبی، بافت‌های کبدی - طحالی، روده و مغز^{۱،۲} گزارش شده است. این پروتئین‌ها با ساختمان محافظت شده‌ی خود، نقش مهمی در فرآیندهای اصلی سلول ایفا می‌نمایند.^۲ خانواده‌ی HSP72 به پروتئین‌های تازه ساخته شده که از ریبوزوم‌ها آزاد شده - اند متصل می‌شود و از تجمع و رسوب آن‌ها قبل از تا-

i- Heat Shock Protein (HSP)

خوردگی کامل و یا انتقال به سایر اندامها جلوگیری می‌نمایند. وابستگی پاسخ HSP72 به شدت و مدت استرس را می‌توان به وسیله فعالیت ورزشی به عنوان یکی از عوامل موثر در پاسخ HSP72 مشخص نمود. پژوهش‌های قبلی نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی، پاسخ HSP72 در عضله اسکلتی را تحریک می‌کند که این امر به شدت و مدت فعالیت ورزشی بستگی دارد. اوگاتا و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده نمودند در پاسخ به فعالیت ورزشی طولانی‌مدت، سطح HSP72 افزایش می‌یابد.^۲ کایانی و همکاران (۲۰۰۸) نیز افزایش معنی‌دار HSP72 را در عضلات موش‌های تمرین کرده پس از فعالیت شدید مشاهده کردند.^۴ همچنین، پیک و همکاران (۲۰۰۵) دریافتند دوییدن با شدت بالا نسبت به شدت متوسط پاسخ بزرگ‌تری از HSP72 را منجر می‌شود.^۵ از سوی دیگر فهرانچاق و همکاران (۲۰۰۵) بیان نمودند فعالیت استقامتی طولانی‌مدت پاسخ بزرگ‌تری از HSP72 را در قیاس با فعالیت شدید کوتاه مدت سبب می‌گردد.^۶ پولسن و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند میزان بالای سطح HSP72 در بخش میوفیبریلی نشان‌دهنده‌ی نقش حمایتی این پروتئین‌ها در جلوگیری از آسیب‌های درون عضلانی می‌باشد.^۷ در کل چنین به نظر می‌رسد که پاسخ HSP72 به فعالیت‌های شدیدتر و طولانی‌مدت افزایش یافته و با عوامل برهم زنده‌ی هومئوستاز به مقابله می‌پردازد. پژوهش‌های فراوان نشان داده‌اند عوامل گوناگونی پاسخ HSP72 را تحت تاثیر قرار می‌دهد.^{۸،۹} این عوامل عبارتند از: کاهش گلوکز، هورمون‌های استرسی، افزایش کلسیم درون سلولی، افزایش اسیدیته، افزایش فسفات آزاد، ایسکمی و استرس گرمایی، تغییرات شارژ انرژي، هیپوکسی، تخریب پروتئینی و استرس اکسیداتیو. یکی از عواملی که در محیط کشت سلولی بر پاسخ HSP72 اثرگذار بوده گلوتامین می‌باشد. نیسیم و همکاران (۱۹۹۳) نشان دادند که اضافه نمودن گلوتامین به سلول‌های کلیه نوعی پستاندار منجر به افزایش پاسخ HSP72 شد.^{۱۰} ارنفرید و همکاران (۱۹۹۵) مشاهده کردند مکمل‌گیری گلوتامین به مقدار ۸ میلی مول در لیتر در سلول‌های اپی‌تلیال روده در موش‌های صحرایی می‌تواند محرک پاسخ HSP72 باشد.^{۱۱} همچنین چو و همکاران (۱۹۹۸) دریافتند گلوتامین می‌تواند پاسخ HSP72 را در سلول‌های اپی‌تلیال روده افزایش دهد.^{۱۲} از سوی دیگر، ویشمیر و همکاران (۲۰۰۱) نتیجه گرفتند هرچه غلظت گلوتامین اضافه شده به محیط کشت سلول‌های اپی‌تلیال روده بیشتر از ۲

میلی‌مول در لیتر شود، افزایش معنی‌دارتری در پاسخ HSP72 دیده می‌شود.^{۱۳} در کل به نظر می‌رسد تغییر فاکتورهای متابولیکی حین فعالیت ورزشی مانند گلوتامین پلازما و برخی از فاکتورهای عصبی - هورمونی مانند کورتیزول می‌تواند پاسخ HSP72 را تحریک کنند. بنابراین ممکن است استرس ناشی از فعالیت ورزشی به واسطه‌ی افزایش کورتیزول نمود پیدا کند و منجر به پاسخ HSP72 شود. در همین ارتباط باسو و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند کورتیزول سطح HSP72 را به دنبال استرس در بافت ماهی تعدیل می‌کند.^{۱۴،۱۵} ویتهاام و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده کردند که افزایش پاسخ HSP72 با پاسخ بیشتر کورتیزول همراه می‌باشد. این یافته‌ها حاکی از آن است که کورتیزول واسطه‌ی مهمی در پاسخ HSP72 می‌باشد.^{۱۶} این امکان وجود دارد که گلوتامین در نقش ضد کاتابولیکی خود بر روند تغییرات کورتیزول سهمیم باشد. گلوتامین نقش مهمی در تنظیم و تعدیل گلوکز از راه گلوکونئوژنز دارد که می‌تواند محرک تغییر در الگوی پاسخ HSP72 باشد.^{۱۷،۱۸} در حقیقت گلوتامین به عنوان انتقال دهنده‌ی کربن مشتق از پروتئین و نیتروژن عضلات به جایگاه‌های گلوکونئوژنز عمل می‌نماید. فبرائیو و همکاران (۲۰۰۰ و ۲۰۰۲) بیان کردند با کاهش گلیکوژن پاسخ HSP72 در عضلات فعال افزایش می‌یابد.^{۱۷،۱۸} همچنین، فبرائیو و همکاران (۲۰۰۴) با هدف بررسی تاثیر مصرف گلوکز بر پاسخ HSP72 گردش خون، نشان دادند بافت‌هایی غیر از کبد و طحال در افزایش پاسخ HSP72 موثر هستند.^{۱۹} در کل به نظر می‌رسد چالش‌های مرتبط با سوخت و ساز انرژي مانند تخلیه‌ی گلیکوژن عضله و کبد، کاهش گلوکز خون می‌تواند پاسخ HSP72 را تحریک نماید.^{۱۷-۱۹} از این رو، استینکر و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی اثر پاسخ HSP72 بر مسیرهای متابولیکی دریافتند در سلول‌هایی که پاسخ HSP72 افزایش یافته بود، مصرف گلوکز به طور مشخصی افزایش داشت.^{۲۰} با توجه به موارد مطرح شده، هدف پژوهش حاضر بررسی این مورد بود که مصرف مکمل گلوتامین به واسطه‌ی نقشی که در گلوکونئوژنز و تغییرات هورمون کورتیزول بر عهده دارد، می‌تواند بر پاسخ HSP72 پلازما پس از فعالیت ورزشی تاثیر داشته باشد. بنابراین سوال اصلی این پژوهش این است که آیا مصرف مکمل گلوتامین می‌تواند بر پاسخ HSP72 به واسطه‌ی تغییرات کورتیزول و گلوکز پلازما پس از فعالیت ورزشی اثر گذار باشد؟

مواد و روش‌ها

با توجه به هدف‌ها و استفاده از نمونه‌های انسانی و عدم امکان کنترل تمام متغیرهای مزاحم، پژوهش حاضر از نوع نیمه تجربی بود که به شکل میدانی با ۳ گروه تجربی و ۱ گروه کنترل به اجرا در آمد. به منظور دستیابی به اهداف پژوهش، ۲۸ فوتبالیست باشگاهی رده‌ی امید تیم راه آهن تهران به صورت داوطلب انتخاب و به صورت تصادفی به چهار گروه کنترل (۷=تعداد)، مکمل (۷=تعداد)، مکمل - فعالیت ورزشی (۷=تعداد) و فعالیت ورزشی (۷=تعداد) تقسیم شدند.

جدول ۱ - ویژگی‌های فردی آزمودنی‌ها*

| متغیر | گروه | کنترل | مکمل | مکمل - فعالیت ورزشی | فعالیت ورزشی |
|---|-------------------------|------------|------------|---------------------|--------------|
| سن (سال) | ۲۰/۴ ± ۱/۹ [†] | ۱۹ ± ۰/۸ | ۱۹/۶ ± ۱/۱ | ۱۸/۴ ± ۰/۷ | |
| قد (سانتی متر) | ۱۷۷ ± ۲/۹ | ۱۷۵ ± ۴/۳ | ۱۷۷ ± ۲/۶ | ۱۷۶ ± ۲/۹ | |
| وزن (کیلوگرم) | ۷۲/۷ ± ۳ | ۶۹ ± ۶/۷ | ۶۹ ± ۴/۹ | ۶۶ ± ۱/۳ | |
| درصد چربی (درصد) | ۱۲/۹ ± ۱/۱ | ۱۱/۳ ± ۱/۱ | ۱۲/۷ ± ۱/۴ | ۱۱/۳ ± ۱/۲ | |
| نمایه‌ی توده‌ی بدن (کیلوگرم بر متر مربع) | ۲۳/۱ ± ۱/۲ | ۲۲/۲ ± ۲/۳ | ۲۱/۵ ± ۱/۲ | ۲۱/۲ ± ۱/۳ | |
| VO ₂ max (میلی لیتر بر کیلوگرم در دقیقه) | ۵۲/۱ ± ۳/۳ | ۵۳/۹ ± ۴/۸ | ۵۲/۲ ± ۳/۴ | ۵۵/۳ ± ۳/۶ | |

* اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. [†] تعداد برای هر گروه ۷ نفر بوده است.

۲۰٪، چربی ۳۰٪) ۴۵ گرم نان، ۱۵ گرم کره و یک لیوان آب جوش بود.^{۲۱} دو گروه مکمل و مکمل - فعالیت ورزشی به همراه صبحانه، مقدار ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و حجم ۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن گلوتامین مصرف کردند، گروه کنترل و فعالیت ورزشی نیز به همان مقدار و حجم، دارونما استفاده کرد، مقدار مکمل مصرفی با توجه به پیشینه‌ی پژوهش و دوز مصرفی مرتبط با سلامت انتخاب گردید.^{۲۲} پس از گذشت ۱ ساعت، نمونه‌ی خونی پیش‌آزمون به حجم ۸ سی‌سی از تمام آزمودنی‌ها گرفته شد، سپس گروه‌های کنترل و مکمل بدون هیچ‌گونه فعالیتی در محل پژوهش حضور یافتند. گروه مکمل - فعالیت ورزشی و فعالیت ورزشی در ابتدا به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵ کیلومتر در ساعت مرحله‌ی گرم کردن را روی نوار گردان انجام دادند، سپس سرعت نوار گردان تا زمانی که ضربان قلب آزمودنی‌ها به ۸۰٪ ضربان قلب پیشینه برسد به صورت تدریجی افزایش یافت و هر آزمودنی ۲ مرحله دویدن ۲۰ دقیقه‌ای با وهله‌های استراحتی ۵ دقیقه‌ای پیاده روی را به

قد و وزن آزمودنی‌ها با استفاده از ترازوی پزشکی مجهز به قد سنج (مدل سکا ۲۲۰ - آلمان)، نمایه‌ی توده‌ی بدن^۱ نیز با استفاده از مقدار وزن به کیلوگرم بر قد به مترمربع محاسبه و درصد چربی آزمودنی‌ها با استفاده از فرمول هفت نقطه‌ای (مجموع چین پوستی هفت نقطه: سه سر بازو، تحت کتفی، دوسر بازو، فوق خاصره، فوق خاری، شکم، ران) با استفاده از کالیپر (بیس لاین - آمریکا) اندازه‌گیری و محاسبه گردید. پیشینه اکسیژن مصرفی (VO₂max) نیز با استفاده از پروتکل بروس تعیین شد، نمونه‌های خونی پس از ۱۴-۱۲ ساعت ناشتایی شبانه در مرحله‌ی پایه به حجم ۸ سی‌سی خون سیاهرگی، از ورید پیش‌بازویی دست غیربرتر، گرفته شد. پس از اولین خونگیری آزمودنی‌ها در چهار گروه به صرف صبحانه استاندارد دعوت شدند، صبحانه‌ای استاندارد تلقی می‌شود که دست کم حاوی ۳۰۰ کیلوکالری انرژی باشد. در پژوهش حاضر صبحانه حاوی به طور تقریبی ۳۱۵ کیلوکالری (کربوهیدرات ۵۰٪، پروتئین

i- Body mass index

شد. HSP72 سرم به روش الیزا و با استفاده از کیت سنجش HSP72 (HSP72 high sensitivity EIA kit ADI- EKS-715 - آمریکا)، دستگاه الیزا (ریدر مدل استاتفی ۲۱۰۰ اوارنس - آمریکا) و دستگاه اتوآنالایزر (مدل هیتاچی ۹۱۲ روشه - آلمان) اندازه‌گیری گردید. حساسیت کیت سنجش HSP72، ۹۰ پیکوگرم در میلی‌گرم (۱۲/۵ - ۰/۲۰ نانوگرم در میلی‌لیتر)، و ضریب تغییرات درون سنجش و برون سنجش به ترتیب ۵٪ و ۱۳٪ بود، سپس با استفاده از منحنی استاندارد در طیف ۰/۷۸ - ۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر غلظت HSP72 را در سرم بر حسب نانوگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید.

تمام یافته‌ها به صورت میانگین±انحراف استاندارد گزارش شدند. توزیع نرمال داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به ترتیب با آزمون کولموگروف - اسمیرنوف و آزمون مخلی مورد تایید قرار گرفت، سپس از آزمون‌های پارامتری استفاده شد. برای مطالعه‌ی معنی‌داری درون‌گروهی در گروه‌ها و در مراحل مختلف پژوهش از آزمون تحلیل واریانس در اندازه‌گیری مکرر چند متغیره با آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معنی‌داری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته و تمام داده‌ها با استفاده از SPSS نسخه‌ی ۱۸ تحلیل گردید.

یافته‌ها

داده‌های مربوط به مقادیر HSP72، کورتیزول و گلوکز به صورت میانگین±انحراف استاندارد در جدول ۲، ۳ و ۴ ارائه شده است. هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در مقادیر سطح HSP72، کورتیزول و گلوکز پایه بین سه گروه پژوهش وجود نداشت که این امر حاکی از همسان بودن گروه‌ها قبل از اجرای پژوهش می‌باشد.

یافته‌های آزمون تحلیل واریانس در اندازه‌گیری مکرر چند متغیره، ویژه HSP72 حاکی از افزایش معنی‌دار مقادیر HSP72 به میزان ۲۱٪ ($P=0/019$) در مرحله‌ی پس‌آزمون در گروه مکمل و ۱۶٪ ($P=0/09$) در مرحله‌ی پس‌آزمون در گروه مکمل- فعالیت ورزشی نسبت به مرحله‌ی پایه و همچنین ۴۱٪ ($P=0/032$) در مرحله‌ی ۹۰ دقیقه پس از آزمون در گروه مکمل- فعالیت ورزشی نسبت به مرحله‌ی پایه بود. در گروه فعالیت ورزشی مقادیر HSP72 در مراحل مختلف پژوهش هیچ‌گونه افزایش معنی‌داری را نشان نداد.

اتمام رساند، در طول اجرای پروتکل فعالیت تناوبی، شدت فعالیت بر اساس ضربان قلب بیشینه آزمودنی‌ها تعدیل و سرعت نوار گردان در ۸۰٪ ضربان قلب بیشینه آزمودنی‌ها حفظ شد. دلیل انتخاب پروتکل فعالیت ورزشی حاضر این بود که پژوهش‌گر تاکید بر وارد نمودن استرس کافی بر آزمودنی‌ها از نظر شدت و مدت را داشت ولی با توجه به این امر که آزمودنی‌ها توانایی تحمل ۱ ساعت دویدن با شدت ۸۰٪ ضربان قلب بیشینه را نداشتند، بنابراین پروتکل فعالیت ورزشی به ۳ مرحله ۲۰ دقیقه‌ای فعالیت و وهله‌های استراحتی ۵ دقیقه‌ای پیاده روی تعدیل شد. از سوی دیگر، با توجه به پیشینه‌ی پژوهش که از فعالیت‌هایی با شدت معادل ۷۰٪ - ۶۰٪ بیشینه ضربان قلب استفاده کرده بودند، بنابراین چنین به نظر می‌رسد این شدت از فعالیت به منظور وارد کردن استرس کافی از فعالیت ورزشی کافی بوده است. بلافاصله پس از اتمام پروتکل فعالیت ورزشی، نمونه‌ی خونی پس‌آزمون به حجم ۸ سی‌سی از تمام آزمودنی‌ها در هر ۴ گروه گرفته شد، و پس از ۹۰ دقیقه استراحت غیرفعال آخرین مرحله‌ی نمونه‌گیری از آزمودنی‌ها به عمل آمد.

متغیرهای آزمایشگاهی پژوهش حاضر HSP72، کورتیزول و گلوکز پلاسما بود. از هر آزمودنی در چهار مرحله‌ی پایه، پیش‌آزمون، پس‌آزمون و ۹۰ دقیقه پس از آزمون حدود ۸ سی‌سی خون گیری به عمل آمد. ۶ سی‌سی به صورت لخته، برای تهیه‌ی سرم (لخته حدود ۲۰ دقیقه در دمای محیط مانده و ۱۰ دقیقه با دور ۲۵۰۰ سانتریفیوژ شد) و ۲ سی‌سی برای تهیه‌ی پلاسما درون لوله محتوی EDTA^۱ ریخته و چند دقیقه آرام مخلوط شد، سپس پلاسما در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم در چند میکروتیوب و پلاسما در یک میکروتیوب ۱ میلی‌لیتری برای انجام آزمایش‌های بعدی آماده و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. کورتیزول سرم از روش رادیوایمنواسی (با کیت Immunotech - فرانسه) و با درجه‌ی حساسیت ۰/۳۶ میکروگرم در میلی‌لیتر و درصد ضریب تغییرات درون سنجش ۹/۲٪ سنجیده شد. مقادیر گلوکز خون با روش کلرومتری آنزیمی (گلوکز اکسیداز) با استفاده از کیت پارس آزمون (ایران) و دستگاه سلکترا ۲ اندازه‌گیری شد که حساسیت این روش ۱ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود، همچنین درصد ضریب تغییرات درون سنجش ۱/۲٪ تعیین

جدول ۲- مقادیر HSP72 (نانوگرم در میلی‌لیتر) * چهار گروه در مراحل چهارگانه‌ی پژوهش[†]

| مراحل گروه | پایه | پیش آزمون | پس آزمون | ۹۰ دقیقه پس از آزمون |
|--------------------|----------|-----------|----------------------|----------------------|
| کنترل | ۰/۱±۰/۰۶ | ۰/۲±۰/۱ | ۰/۲±۰/۱ | ۰/۳±۰/۱ |
| مکمل | ۰/۲±۰/۱۱ | ۰/۴±۰/۱ | ۰/۵±۰/۱ [‡] | ۰/۲±۰/۲ |
| مکمل- فعالیت ورزشی | ۰/۲±۰/۲۶ | ۰/۳±۰/۲ | ۰/۶±۰/۳ [‡] | ۱/۳±۰/۳ [‡] |
| فعالیت ورزشی | ۰/۳±۰/۳ | ۰/۵±۰/۳ | ۰/۵±۰/۲ | ۰/۷±۰/۱ |

* نانوگرم در میلی‌لیتر، [†] مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند، [‡] مقادیر HSP72 در مراحل چهارگانه پژوهش در سطح $P \leq 0.05$ معنی‌دار است.

جدول ۳- مقادیر کورتیزول (میکروگرم در میلی‌لیتر) * چهار گروه در مراحل چهارگانه‌ی پژوهش[†]

| مراحل گروه | پایه | پیش آزمون | پس آزمون | ۹۰ دقیقه پس از آزمون |
|--------------------|----------|-----------|----------|----------------------|
| کنترل | ۱۴/۴±۴/۲ | ۱۳/۴±۳/۲ | ۹/۳±۵/۴ | ۱۲±۲/۵ |
| مکمل | ۱۵±۶/۲ | ۱۴±۷/۲ | ۱۰/۶±۲/۹ | ۹/۴±۲ |
| مکمل- فعالیت ورزشی | ۱۶/۲±۲/۵ | ۱۵/۲±۴/۴ | ۱۶/۲±۷/۸ | ۱۳/۸±۶/۶ |
| فعالیت ورزشی | ۱۴/۳±۶/۴ | ۱۵/۱±۳/۲ | ۱۴/۳±۵/۹ | ۱۵/۷±۴/۴ |

* میکروگرم در میلی‌لیتر، [†] مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

جدول ۴- مقادیر گلوکز خون (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر) * چهار گروه در مراحل چهارگانه‌ی پژوهش[†]

| مراحل گروه | پایه | پیش آزمون | پس آزمون | ۹۰ دقیقه پس از آزمون |
|--------------------|----------|-----------|-----------|----------------------|
| کنترل | ۷۸/۲±۷/۴ | ۶۰/۱±۱۱/۲ | ۶۷/۲±۱۱/۲ | ۶۷/۱±۷/۱ |
| مکمل | ۷۸/۱±۶/۳ | ۶۸/۷±۱۳/۸ | ۶۴/۷±۹/۱ | ۷۴±۸/۶ |
| مکمل- فعالیت ورزشی | ۷۷/۱±۶/۳ | ۶۷/۵±۱۸/۷ | ۸۶±۱۱/۵ | ۷۶/۸±۵/۳ |
| فعالیت ورزشی | ۸۰/۱±۵/۸ | ۵۷/۷±۱۵/۳ | ۸۱/۸±۱۰/۴ | ۷۳/۲±۷/۷ |

* میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر، [†] مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

کنترل، ۴۰٪ ($P \leq 0.030$) افزایش داشت. یافته‌ها حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار مقادیر کورتیزول بین گروه‌های مختلف در مراحل چهارگانه پژوهش بود. سطح گلوکز پلاسما در گروه فعالیت ورزشی بدون تغییر و در گروه‌های مکمل و مکمل- فعالیت ورزشی نسبت به گروه کنترل افزایش غیر معنی‌داری از خود نشان داد.

یافته‌های به دست آمده نشان داد مقادیر HSP72 بین مرحله‌ی پس‌آزمون در گروه مکمل نسبت به مرحله‌ی پس-آزمون در گروه کنترل، ۱۵٪ ($P=0.06$) افزایش داشت. همچنین، مقادیر HSP72 بین مرحله‌ی پس‌آزمون در گروه مکمل - فعالیت ورزشی نسبت به مرحله پس‌آزمون در گروه کنترل ۲۰٪ ($P=0.08$) افزایش و نیز مقادیر HSP72 بین مرحله‌ی ۹۰ دقیقه پس از آزمون در گروه مکمل - فعالیت ورزشی نسبت به مرحله‌ی ۹۰ دقیقه پس از آزمون در گروه

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد مصرف مکمل اسید آمینه‌ی گلوتامین به مقدار ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و حجم ۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن در نمونه‌های انسانی توانست به واسطه‌ی افزایش پاسخ HSP72 با استرس ناشی از فعالیت ورزشی به مقابله بپردازد. مقادیر HSP72 در گروه مکمل و مکمل - فعالیت - ورزشی در مرحله‌ی پس‌آزمون نسبت به مرحله‌ی پایه به ترتیب ۲۱٪ و ۱۶٪ ($P \leq 0/019$ و $P \leq 0/009$) افزایش داشت، همچنین، پاسخ HSP72 در گروه مکمل - فعالیت ورزشی در مرحله ۹۰ دقیقه پس از آزمون نسبت به مرحله‌ی پایه ۴۱٪ ($P \leq 0/032$) افزایش نشان داد که این میزان در مقایسه با مرحله‌ی پس‌آزمون، پاسخ بزرگ‌تری از HSP72 بود. مقادیر این شاخص در مرحله‌ی پس‌آزمون در گروه مکمل نسبت به مرحله پس‌آزمون در گروه کنترل، ۱۵٪ ($P = 0/06$) افزایش و در مرحله‌ی پس‌آزمون در گروه مکمل - فعالیت ورزشی نسبت به مرحله‌ی پس‌آزمون در گروه کنترل ۲۰٪ ($P = 0/08$) افزایش داشت، همچنین مقادیر HSP72 بین مرحله‌ی ۹۰ دقیقه پس از آزمون در گروه مکمل - فعالیت ورزشی نسبت به مرحله‌ی ۹۰ دقیقه پس از آزمون در گروه کنترل، ۴۰٪ ($P \leq 0/030$) افزایش نشان داد. هم راستا با یافته‌های دیگر پژوهش‌ها^{۱۳-۱۱} و در نمونه‌های انسانی گلوتامین توانست محرک پاسخ HSP72 در گروه‌های مکمل و مکمل - فعالیت - ورزشی باشد، و ترکیب مکمل - فعالیت ورزشی منجر به پاسخ بزرگ‌تری در HSP72 شد، که این امر نقش تحریکی گلوتامین و فعالیت ورزشی را در پاسخ HSP72 پیشنهاد می‌نماید. یافته‌های پژوهش‌های اخیر حاکی از آن است که HSP72 در محافظت از سلول در برابر استرس سلولی، ایسکمی، هیپوکسی، آتروفی، آسیب سلولی، مرگ سلولی، افزایش دمای بدن، کاهش دمای بدن، کاهش گلوکز خون و گلیکوژن عضله، اسیدیته و سایر مواردی که می‌تواند همراه و یا به دنبال فعالیت ورزشی رخ دهد نقش گسترده‌ای داشته باشد. بنابراین، به احتمال زیاد افزایش پاسخ HSP72 می‌تواند بر توانایی تحمل استرس ورزشی از سوی ورزشکاران اثر مثبتی داشته باشد. به علاوه، پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند افزایش پاسخ HSP72 می‌تواند به واسطه‌ی گلوتامین تحریک شود. هر چند این بررسی‌ها همگی در آزمایشگاه و در محیط کشت سلولی بوده، اما این میزان افزایش در پاسخ

HSP72 توانست از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو و همچنین نوسانات دما محافظت نماید و حیات سلول‌ها را افزایش دهد. به عنوان یک اصل کلی گلوتامین اسید آمینه‌ای غیرضروری محسوب می‌شود، با این حال در بسیاری از شرایط حاد از قبیل آسیب، جراحی و بیماری‌ها به طور کامل لازم و ضروری می‌باشد. در شرایط طبیعی این اسید آمینه فراوان‌ترین اسید آمینه موجود در پلاسما، عضله‌ی اسکلتی، گردش خون و سایر بافت‌ها می‌باشد که مقادیر آن در شرایط آسیب، جراحی و عفونت به سرعت کاهش می‌یابد.^{۱۰} گلوتامین یک نقش کلیدی در محافظت از سلول پس از جراحی بر عهده دارد که این امر همراه با افزایش HSP72 می‌باشد. به هر حال سازوکاری که به واسطه‌ی آن گلوتامین موجب افزایش بیان HSP72 می‌شود هنوز به روشنی مشخص نیست، اما به نظر می‌رسد این امر به احتمال خیلی زیاد به سوخت و ساز گلوتامین وابسته باشد.^{۱۱} توضیحات احتمالی برای این تاثیر تحریکی گلوتامین بر پاسخ HSP72 شامل ۱- گلوتامین منجر به افزایش فعالیت ناحیه‌ی پرئوموتور ژن HSP72 می‌گردد که این امر به وسیله‌ی افزایش در تولید HSP72 mRNA مشخص شده، ۲- گلوتامین سبب افزایش ثبات HSP72 mRNA می‌گردد که منجر به افزایش میزان ترجمه‌ی ژن HSP72 می‌شود، و ۳- اثرات ضد کاتابولیک گلوتامین سبب کاهش در نوسازی پروتئین‌های استرسی می‌شود.^{۱۱، ۱۲} در کل تغییراتی که به واسطه‌ی فعالیت ورزشی و مصرف مکمل گلوتامین در هموستاز سلول ایجاد می‌گردد منجر به پاسخ HSP72 می‌شود که این امر به خودی خود حیات سلول را در مقابله با هر گونه استرس افزایش می‌دهد.

در ارتباط با هورمون کورتیزول یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد مصرف مکمل اسید آمینه‌ای گلوتامین به مقدار ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و حجم ۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن در نمونه‌های انسانی نتوانست تاثیر معنی‌داری بر مقادیر این هورمون داشته باشد. تحلیل برآمده از داده‌های پژوهش حاضر نشان داد مصرف مکمل گلوتامین تاثیری بر سطح کورتیزول در هیچ‌یک از گروه‌ها نداشته، و مقادیر این هورمون بین مراحل مختلف پژوهش افزایش معنی‌داری از خود نشان نداد. کورتیزول هورمونی استروئیدی است که در شرایط استرس از بخش قشری غده‌ی فوق کلیوی ترشح می‌شود و بیانگر افزایش حالات کاتابولیکی و استرسی می‌باشد. ورزش

بلندمدت سبب بالا رفتن غلظت کورتیزول پلازما می‌گردد، افزایش کورتیزول نه تنها سوخت و ساز پروتئین، بلکه گلوکونئوز در کبد، مجرای معده - روده‌ای و کلیه را نیز افزایش می‌دهد، همچنین کورتیزول به عنوان شاخصی از استرس منجر به افزایش و تعدیل مقادیر HSP72 می‌شود. به هر حال، سطح کورتیزول پلازما پس از فعالیت ورزشی، ارتباط مستقیمی با شدت فعالیت و سازگاری‌های فردی با استرس فعالیت ورزشی دارد و با توجه به این‌که آزمودنی‌های پژوهش حاضر ورزشکاران فوتبالیست باشگاهی که سازگاری‌های بالایی داشتند تشکیل داده‌اند، این عدم افزایش مقادیر کورتیزول توجیه می‌گردد.^{۱۴،۲۱} حساسیت بافت‌های مختلف به گلوکوکورتیکوئیدها نیز می‌تواند متفاوت باشد و در زمان استرس تغییر نماید. در پاسخ این هورمون تفاوت‌های فردی عمده‌ای وجود دارد که می‌تواند الگوی واکنش این هورمون را که از سن و وضعیت هورمون‌های جنسی فرد تاثیر می‌پذیرد، متاثر سازد.^{۱۴،۲۱} از سوی دیگر، گلوتامین در سنتز پروتئین نقشی برجسته و جز مهارکننده‌ی آنزیم‌های فرآیند پروتئولیز به شمار می‌رود، همچنین احتمال دارد اثر گلوتامین به عنوان یک ماده آنتی کاتابولیک موجب تعدیل مقادیر بالای کورتیزول می‌شود.

مصرف مکمل گلوتامین به مقدار ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و حجم ۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن در آزمودنی‌های ورزشکار نتوانست تغییراتی در سطح گلوکز ایجاد کند و به واسطه‌ی آن بر پاسخ HSP72 اثر گذار باشد. پاسخ HSP72 در گروه مکمل و مکمل-فعالیت ورزشی افزایش معنی‌دار و در گروه فعالیت ورزشی بدون تغییر بود، که این امر بیانگر نقش تحریکی گلوتامین در بیان پاسخ HSP72 در گروه‌های مصرف‌کننده‌ی مکمل گلوتامین می‌باشد. چالش‌هایی که برای سوخت و ساز انرژی معروف هستند قادرند پاسخ HSP72 را تحریک کنند. یکی از این چالش‌ها ممکن است کاهش گلوکز و تخلیه گلیکوژن باشد که می‌توانند پاسخ HSP72 را تحریک نماید. پژوهش‌ها نشان داده گلوتامین نقش سازنده‌ای در تنظیم گلوکز دارد. بعد از فعالیت ورزشی ذخایر گلیکوژن عضله و کبد تخلیه می‌شوند،

گلوتامین به عنوان سوبسترا برای تشکیل گلوکز و تنظیم مقادیر آن از راه روند گلوکونئوز نقش اساسی در گلوکواستاتیک ایفا می‌کند که شاید در این روند، تاثیر شگرفی بر پاسخ HSP72 داشته باشد. حفظ ذخایر و تولید گلوکز و گلیکوژن بدن می‌تواند افزایش HSP72 ناشی از فعالیت ورزشی در جریان خون انسان را کاهش دهد،^{۱۶-۱۸} از سوی دیگر بسیاری از پژوهش‌ها افزایش پاسخ HSP72 را همسو با کاهش مقادیر گلوکز و گلیکوژن بیان کردند و نتیجه گرفتند با کاهش ذخایر گلیکوژن هنگام فعالیت ورزشی، مقادیر HSP72 در عضلات فعال افزایش می‌یابد.^{۱۶،۱۷} به هر حال در پژوهش حاضر روند تغییرات سطح گلوکز پلازما نمی‌تواند دلیل افزایش پاسخ HSP72 در گروه‌های مورد بررسی باشد. علاوه بر موارد یاد شده در ارتباط با گلوتامین، کورتیزول و گلوکز پلازما سایر نقش‌های گلوتامین مانند نقش‌های آنابولیکی و تحریکی متفاوتی مانند سنتز پروتئین‌ها، افزایش تعادل نیترژنی، تحریک سیستم ایمنی، اثرات آنابولیکی و ضد کاتابولیکی روی عضلات، تولید اسیدهای آمینه‌ی شاخه-دار به ویژه لوسین، راه اندازی مسیرهای ترانس‌آمیناسیون و دامیناسیون می‌تواند محرک‌های گوناگونی را به منظور افزایش پاسخ HSP72 در نمونه‌های انسانی ورزشکار ارایه دهد.^{۱۲،۱۳}

در نهایت با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر این امکان وجود دارد که مصرف مکمل اسیدآمینه‌ای گلوتامین بتواند مستقل از تغییرات سطح کورتیزول و گلوکز پلازما پاسخ HSP72 را در نمونه‌های انسانی ورزشکار تحریک نماید، بنابراین به ورزشکارانی که قصد شرکت در فعالیت‌های شدید را دارند توصیه می‌شود ممکن است استفاده از مکمل گلوتامین بتواند با عوامل استرس‌زای ناشی از فعالیت - ورزشی به مقابله پردازد و منجر به افزایش عملکرد ورزشی گردد.

سپاسگزاری: از اساتید محترم دکتر مجید کاشف، دکتر عباسعلی گائینی و دکتر حمید رجبی برای ارایه نظرات مفید و ارزنده در به انجام رساندن این پژوهش کمال تشکر و قدردانی داریم.

References

1. Wu T, Tanguay RM. Antibodies against heat shock protein in environment stresses and diseases. *Cell Stress Chaperones* 2006; 11: 1-12.
2. Kodihla M, Chu A, Lazrak O, Stochaj U. Stress inhibits nucleo cytoplasmic shuttling of heat shock protein hsp70. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 289: C1034-41.
3. Ogata T, Oishi Y, Higashida K, Higuchi M, Muraoka I. Prolonged exercise training induces long-term enhancement of HSP70 expression in rat plantaris muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009; 296: 1557-63.

4. Kayani AC, Close GL, Jackson MJ, McArdle A. Prolonged treadmill training increases HSP70 in skeletal muscle but does not affect age-related functional deficits. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294: R568-76.
5. Peake M, Suzuki K, Hordern M, Wilson G, Nosaka K, Coombes J. Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. *Eur J Appl Physiol* 2005; 95: 514-21.
6. Fehrenbach E, Niess AM, Voelke K, Northoff H, Mooren FC. Exercise intensity and duration affect blood soluble HSP72. *Int J Sports Med* 2005; 26: 552-7.
7. Paulsen G, Lauritzen F, Bayer ML, Kalhovde JM, Ugelstad I, Owe SG, et al. Subcellular movement and expression of HSP27, β -crystallin, and HSP70 after two bouts of eccentric exercise in humans. *J Appl Physiol* 2009; 107: 570-82.
8. Nething KL, Wang Y, Liu W, Lormes JM, Steinacker. Blunted HSP70 response to acute exercise in welltrained skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36: S318.
9. Arnaud C, Joyeux M, Garrel C, Godin-Ribuot D, Demenge P, Ribuot C. Free-radical production triggered by hyperthermia contributes to heat stress-induced cardio protection in isolated rat hearts. *Br J Pharmacol* 2002; 135: 1776-82.
10. Nissim I, States B, Hardy M, Pleasure J, Nissim I. Effect of glutamine on heat-shock-induced mRNA and stress proteins. *J Cell Physiol* 1993; 157: 313-8.
11. Ehrenfried JA, Chen J, Li J, Evers BM. Glutamine-mediated regulation of heat shock protein expression in intestinal cells. *Surgery* 1995; 118: 352-6.
12. Chow A, Zhang R. Glutamine reduces heat shock-induced cell death on rat intestinal epithelial cells. *J Nutr* 1998; 128: 1296-301.
13. Wischmeyer PE, Kahana M, Wolfson R, Ren H, Musch MM, Chang EB. Glutamine induces heat shock protein and protects against endotoxin shock in the rat. *J Appl Physiol* 2001; 90: 2403-10.
14. Basu N, Nakano T, Grau EG, Iwama GK. The effects of cortisol on heat shock protein 70 levels in two fish species. *Gen Comp Endocrinol* 2001; 124: 97-105.
15. Rohleder N, Wolf JM, Kirschbaum C. Glucocorticoid Sensitivity in humans-inter individual differences and acute stress effects. *The International Journal on the Biology of Stress* 2003; 6: 207-2.
16. Whitham M, Walker GJ, Bishop NC. Effect of caffeine supplementation on the extracellular heat shock protein72 response to exercise. *J Appl Physiol* 2006; 101: 1222-7.
17. Febbraio MA, Ott P, Nielsen HB, Steensberg A, Keller C, Krstrup P, et al. Exercise induces hepatosplanchnic release of heat shock protein 72 in humans. *Journal of Physiology* 2002; 544: 957-62.
18. Febbraio MA, Steensberg A, Walsh R, Koukoulas I, van Hall G, Saltin B, et al. Reduced glycogen availability is associated with an elevation in HSP72 in contracting human skeletal muscle. *Journal of Physiology* 2002; 538: 911-7.
19. Febbraio MA, Mesa JL, Chung J, Steensberg A, Keller C, Nielsen HB, et al. Glucose ingestion attenuates the exercise-induced increase in circulating heat shock protein 72 and heat shock protein 60 in humans. *Cell Stress and Chaperones* 2004; 9: 390-6.
20. Steinacker JM, Wang L, Gampert L, Liu Y, Nething K, Prokopchuk O. Effects of overexpression of heat shock protein 70 on energy metabolism. *Med Sci Sports Exerc* 2005; 37: S455.
21. Sancho Adriana Carvajal. The acute effect of an energy drink on physical and cognitive performance of male athletes. *Kinesiologia Slovenica* 2005; 11: 5-16.
22. Gleeson M. Dosing and Efficacy of Glutamine Supplementation in Human Exercise and Sport Training. *J Nutr* 2008; 138: S2045-49.

Original Article

The Effect of Glutamine Supplement on Changes in hsp72, Cortisol and Plasma Glucose after Exercise

Karami S¹, Kashef M¹, Gaeini A², Rajabi H³, Amani M¹

¹Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Rajaee Teacher Training University, ²Department of Exercise Physiology Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, ³Department of Exercise Physiology Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Tarbiat Moalem University of Tehran. Tehran, I.R. Iran

e-mail: Karami.sp@gmail.com

Received: 30/06/2012 Accepted: 09/12/2012

Abstract

Introduction: Glutamine plays a key role in cell protection following stress, by causing a simultaneous increase in hsp72 expression, which is dependent on glutamine metabolism and its relation with cortisol levels and gluconeogenesis. **Materials and Methods:** To assess the effect of glutamine supplement ingestion on hsp72, cortisol and glucose plasma changes after exercise, 28 soccer players were divided in four groups; the control, supplement, supplement-exercise and the exercise groups. 0.5 g/kgBw supplement and placebo consumed 5ml/kgBw volume of water one hour prior to the exercise protocol, which included 3 stages of 20 minutes running (80% HRmax intensity) with 5 minute rest periods between each stage. Baseline, and pre, post and 90 minutes after exercise, blood sampling was done and cortisol, glucose and hsp72 levels were measured using RIA, Enzymatic, and Elisa tests respectively. Data was analyzed with MANOVA and Bonferoni post hoc tests, $P \leq 0.05$ values being considered significant. **Results:** Plasma cortisol and plasma glucose levels showed no significant changes in the groups, hsp72 while expression in the supplement and the supplement exercise groups was increased. **Conclusion:** Role of glutamine, independent of its relation with cortisol and glucostatic is a stimulator of hsp72 expression which is further increased by combining the supplement with exercise, suggesting that athletes may want to use glutamine prior to taking part in matches or intense exercises.

Keywords: Glutamine, Cortisol, Plasma glucose, Hsp72, Exercise