

## تأثیر مکمل سازی گلوکز و گلوتامین طی چهار هفته تمرین تناوبی - استقامتی و امانده ساز بر HSP72 سرم مردان غیرورزشکار

علی قاسمی کهریزسنگی<sup>۱\*</sup>، علی کاظمی<sup>\*\*</sup>، علی اصغر رواسی<sup>\*\*\*</sup>، محمدرضا حائری<sup>\*\*\*\*</sup>، محمدرضا دهخدا<sup>\*\*\*\*\*</sup>

\*دانشجوی دوره دکتری فیزیولوژی ورزشی - دانشگاه خوارزمی

\*\*استادیار دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه خوارزمی

\*\*\*استاد دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران

\*\*\*\*استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی قم

\*\*\*\*\*دانشیار دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۱۲/۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۹/۶

### چکیده

هدف تحقیق حاضر بررسی تأثیر مکمل سازی گلوکز و گلوتامین طی چهار هفته تمرین تناوبی - استقامتی و امانده ساز، که باعث تخلیه گلیکوژنی عضلات می شود، بر HSP72 سرم مردان غیرورزشکار بود. بدین منظور ۲۰ نفر مرد سالم که فعالیت بدنی منظم نداشتند انتخاب شدند و به طور تصادفی در چهار گروه تحت مطالعه قرار گرفتند: گروه مکمل سازی گلوکز به همراه تمرین تخلیه گلیکوژنی (n=5، مکمل ۱)، گروه مکمل سازی گلوتامین به همراه تمرین تخلیه گلیکوژنی (n=5، مکمل ۲)، گروه تمرین تخلیه گلیکوژنی (n=5، دارونما) و یک گروه بدون هرگونه دستکاری (n=5، کنترل). نمونه های خونی در ابتدای دوره چهار هفته ای پروتکل تمرینی تناوبی - استقامتی و امانده ساز بر اساس آزمون RHIET و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی از سیاهرگ زند اعلی جمع آوری شد. غلظت HSP72 سرم به وسیله تکنیک ELISA اندازه گرفته شد. اثرات اصلی و متقابل با استفاده از آزمون آماری آنوای دوراهه اندازه گیری و به وسیله آزمون تعقیبی توکی کامل شد. سطح معنی داری نیز  $\alpha=0.05$  انتخاب شد. نتایج تحقیق نشان داد که متغیر مستقل تمرین باعث کاهش معنی دار HSP72 سرم شد.  $[F(1,17)=6.362 P<0.05]$  شد. متغیر مستقل مکمل نیز باعث کاهش معنی دار HSP72 سرم شد.  $[F(1,17)=15.362 P<0.01]$  شد. نتایج آزمون تعقیبی توکی حاکی از اختلاف معنی دار بین گروه های دارونما با مکمل گروه (p<0.05) و بین گروه های دارونما با گروه مکمل ۲ (p<0.01) بودند. اثر متقابل بین دو متغیر مستقل مکمل سازی و تمرینی معنی دار نبود. به طور کلی، نتایج تحقیق پیشنهاد می کند که مکمل سازی گلوکز یا گلوتامین در وضعیت تمرینی تخلیه گلیکوژنی باعث کاهش میزان HSP72 سرم در مردان غیرورزشکار پس از چهار هفته می شود. واژه های کلیدی: مکمل سازی گلوکز، مکمل سازی گلوتامین، تمرین تخلیه گلیکوژنی، HSP72 سرم، مردان غیرورزشکار.

### The effect of glucose and glutamine supplementation on serum HSP72 in non-athlete men during four weeks exhausting endurance-intermittent training

Ghasemi, A. \*, Kazemi, A. \*\*, Ravasi, A.A. \*\*\*, Haeri, M.R. \*\*\*\*, Dehkhoda, M.R. \*\*\*\*\*

\*PhD Student of Exercise Physiology, Kharazmi University, Iran.

\*\*Assistant Professor, faculty of Physical Education & Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

\*\*\*Professor, faculty of Physical Education & Sport Sciences University of Tehran.

\*\*\*\*Assistant Professor, Department of Biochemistry, University Medical Sciences of Qom, Qom, Iran.

\*\*\*\*\* Associate Professor, faculty of Physical Education & Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

### Abstract

The aim of the present study was to investigate the effect of glucose and glutamine supplementation on serum HSP72, in non-athlete men during four weeks exhaustive endurance - intermittent training that causes glycogen depletion. For this purpose 20 non-athlete healthy men were selected and randomly divided into four groups including: glucose supplementation with glycogen depletion training group (n = 5, supplement 1), glutamine supplementation with glycogen depletion training group (n = 5, supplement 2), glycogen depletion training group (n = 5, placebo) and a group without any treatment (n = 5, control). The blood samples were collected at the onset of training protocol period and 48 hours after final training session from anticubital venous. Serum HSP72 concentration were determined by ELISA technique. The main and interaction effects of variables were determined using TWO WAY ANOVA completed with Tukey post-hoc test. The significant level was chosen as  $\alpha = 0.05$ . The results showed the significant effect of training variable for serum HSP72 concentration,  $[F(1,17)=6.362 P<0.05]$ . The effect of supplementation variable was significant for serum HSP72 concentration,  $[F(1,17)=15.362 P<0.01]$ . Post-hoc test showed the significant difference between placebo with supplement 1 group (p<0.05) and placebo with supplement 2 group (p<0.01). The interaction effect between two variables was not significant. In summary, the results suggested that in glycogen depletion training condition, glucose or glutamine supplementation have significant effect on serum HSP72 concentration.

**Keywords:** Glucose supplementation, Glutamine supplementation, Glycogen depletion training, Serum HSP72, Non-athlete men

## مقدمه

پروتئین های شوک گرمایی (HSPs)<sup>۱</sup> مجموعه ای از پروتئین هایی در نظر گرفته می شوند که نظاهر آنها بر اثر شوک گرمایی و مجموعه ای از استرس های دیگر است، (۱). این پروتئین ها به منزله سیگنال خطر در پاسخ به استرس اکسیداتیو، عدم تعادل کلسیمی، تخلیه گلوکز و گلیکوژن یا کاهش فراهمی گلیکوژن، عناصر سنگین، کاهش PH خون، استرس سرمایی، هایپرترمی، ورزش و فعالیت بدنی، تعدادی از هورمون های استرسی نظیر کورتیزول و کاتکولامین ها تولید می شوند و در وهله اول نقش حفاظت از سلول را به عهده دارند (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹). اما در مواقعی که غشای سلول آسیب ببیند، پروتئین های شوک گرمایی به داخل خون ریخته می شوند و به سیستم ایمنی کمک می کنند. از دیدگاه بیماری شناسی<sup>۲</sup> HSPs با بسیاری از سرطان ها، مشکلات قلبی-عروقی و دیابت ارتباط دارد (۳، ۱۰، ۱۱). مطالعات متعددی رابطه افزایش میزان HSP70 و برخی از HSP های دیگر را با تومورزایی و تکثیر سلول های توموری در برخی سرطان ها از جمله سرطان سینه، اندومتر، دهان، پروستات و ریه نشان داده اند. (۱۰، ۱۱، ۱۲). در تحقیقی در باب موش های تمرین کرده مبتلا به سرطان پس از چند هفته تمرین استقامتی روی نوارگردان<sup>۳</sup> میزان HSP72 کمتر از گروه سرطانی غیرتمرینی بود (۱۲)، اما در بسیاری از تحقیقات میزان HSPs در آزمودنی های سرطانی در قیاس با غیرسرطانی ها بیشتر بود (۳، ۱۰، ۱۳، ۱۴). خانواده پروتئین های شوک گرمایی با وزن مولکولی ۷۰ تا ۷۳ کیلودالتون فراوان ترین آنها بوده اند و به دو شکل ساختاری<sup>۴</sup> (HSP73 و HSC73) و عملکردی<sup>۵</sup> (HSP72 و HSP70) وجود دارند (۱). این پروتئین های عملکردی از خانواده پروتئین هایی هستند که در موقعیت فشار روانی تولید می شوند (۱، ۱۵). HSP70 یکی از ژن های مسئول در مراحل اولیه بیورژن میتوکندری ها است و همان طور که قبلاً نیز ذکر شد، ایزوفرم HSP72 است (۱). به دلیل نقش HSP70 در سنتز میتوکندری در مراحل اولیه سنتز آن می توان غیرمستقیم یکی دیگر از نقش های مهم HSP72 را شاخص عملکردی مهم حین فعالیت های ورزشی در نظر گرفت و نقش های مختلف آن را مرکز توجه قرار داد (۱). با توجه به نقش های متفاوتی که پروتئین های شوک گرمایی در سطح درون و برون سلولی برعهده دارند و احتمالاً تغییرات حاد و مزمن آنها متفاوت خواهد بود، شاید بتوان افزایش آنها را شاخصی از عملکرد ورزشی ورزشکاران قلمداد کرد. یکی از استرسورهای تحریک کننده تولید HSP72، تخلیه گلیکوژنی یا کاهش محتوا و دردسترس بودن گلیکوژن درون عضلانی است که به واسطه انقباضات مکرر طی فعالیت های ورزشی به وقوع می پیوندد (۱۶، ۱۷، ۱۸). در تحقیقی که با اجرای پروتکل تمرینی خاصی روی چرخ کارسنج به مدت دوونیم ساعت به صورت موضعی و حاد باعث تخلیه گلیکوژن عضلات ساق پا شد، افزایش پروتئینی HSP72 را گزارش کرده اند (۱۶، ۱۷). اما درباره تغییرات مزمن یا سازگاری میزان و محتوای HSP72 پژوهشی که آزمودنی های انسانی را مطالعه کرده باشد نیافتیم و اکثر کارهای تحقیقی پاسخ HSPs را بررسی کرده بودند. تحقیقات نشان داده اند تمرین و فعالیت بدنی موجب افزایش حاد بیان ژنی و میزان پروتئین HSP72 در انسان و حیوانات می شود و به صورت مزمن در حیوانات

1. Heat Shock Proteins  
2. Pathologic

1. Treadmill  
2. Constitutive

3. Functional  
4. Acute

کاهش می‌یابد (۵، ۱۶، ۱۲، ۱۹-۱۷). تحقیقات بلندمدت تمرینی که اکثر آنها موش‌ها را مطالعه کرده‌اند. کاهش میزان HSPs را نشان می‌دهند (۱۲، ۲۰). در برخی تحقیقات دیگر نتایج حاکی از افزایش HSPs است (۱۳، ۱۸، ۲۱). با اجرای این پژوهش هم می‌توان نوآوری کرد و نوعی پروتکل تمرینی تخلیه گلیکوژنی میدانی ابداع کرد و در کنار آن تغییرات مزمن میزان پروتئین HSP72 در خون انسان را ارزیابی کرد. یکی دیگر از استرسورهای محرک تولید HSPs برخی مکمل‌ها مانند گلوتامین است (۶). تحقیقات قبلی نشان داده شده‌اند که گلوتامین باعث افزایش HSP72 می‌شود، اما این تحقیقات با تمرین همراه نبوده است (۲۲). گلوتامین نقش‌های آنابولیکی و تحریکی متفاوتی همچون سنتز پروتئین‌ها، افزایش تعادل نیتروژنی، تحریک سیستم ایمنی، اثرات آنابولیکی و ضد کاتابولیکی بر روی عضلات، تنظیم و تعدیل گلوکز از مسیر گلوکونئوژنز، تولید اسید آمینه شاخه‌دار به‌خصوص لیزین، راه‌اندازی مسیرهای ترانس‌آمیناسیون و دامیناسیون دارد که تأمین‌کننده نیازهای اسیدآمینه‌ای است (۲۳، ۲۴، ۲۵). اما آیا مصرف مکمل گلوتامینی که محرک تولید HSP72 است و مکمل گلوکزی، که شاید از افزایش HSP72 جلوگیری کند، طی چهار هفته تمرین شدید متناوب استقامتی می‌تواند تغییراتی در سطوح HSP72 سرم را در آزمودنی‌های انسانی ایجاد کند؟ بنابراین سؤال اصلی تحقیق این است که آیا مصرف مکمل گلوکز و گلوتامین طی چهار هفته تمرین تناوبی استقامتی و امانده ساز می‌تواند بر سازگاری پروتئین HSP72 خون انسان تأثیر بگذارد؟ لذا تحقیق حاضر به منظور بررسی نقش فعالیت بدنی و مصرف مکمل‌های گلوکزی (جهت جلوگیری از تخلیه گلیکوژنی) و گلوتامینی (با خواص آنابولیکی و پیش‌سازی) جهت ارزیابی سازگاری HSP72 سرم انسان به تمرینات منقطع تخلیه گلیکوژنی طرح‌ریزی شده است تا نیل به هدف اصلی این مطالعه را آسان کند که بررسی تأثیر مصرف مکمل‌های گلوکز و گلوتامین طی یک دوره تمرینی چهار هفته‌ای تخلیه گلیکوژنی بر میزان HSP72 سرم در انسان است.

## روش‌شناسی تحقیق

تحقیق حاضر از نوع تجربی با استفاده از گروه دارونما و کنترل بوده است. جامعه آماری تحقیق را دانشجویان پسری که نیمسال دوم ۸۸-۸۹ واحد تربیت بدنی عمومی (۱) داشتند، در پردیس کرج دانشگاه خوارزمی تشکیل دادند که ۲۰ نفر آزمودنی از جامعه آماری فوق به صورت داوطلبانه انتخاب شدند. نداشتن سابقه ورزشی یا فعالیت بدنی منظم آزمودنی‌ها از طریق پرسش‌نامه rPar-Q<sup>۱</sup> کنترل شد (۲۶). وضعیت سلامت، داشتن ویژگی‌های لازم برای شرکت در تحقیق و سوابق پزشکی آزمودنی‌ها از طریق پرسش‌نامه سلامتی ارزیابی شد (۲۶). وضعیت تغذیه‌ای آزمودنی‌ها نیز به وسیله پرسش‌نامه وضعیت تغذیه‌ای کنترل شد (۲۶). سپس برخی ویژگی‌های آنتروپومتریکی آزمودنی‌ها اندازه‌گیری شد و به صورت تصادفی به چهارگروه پنج‌نفره شامل گروه اول اجرای تمرین همراه با مصرف گلوکز، گروه دوم اجرای تمرین همراه با مصرف گلوتامین، گروه سوم اجرای تمرین توأم با مصرف دارونما و گروه چهارم یا کنترل که هیچ‌کدام از موارد مزبور را انجام نمی‌دادند،

1. Revised Physical Activity Readiness Questionnaire (RPar-Q)

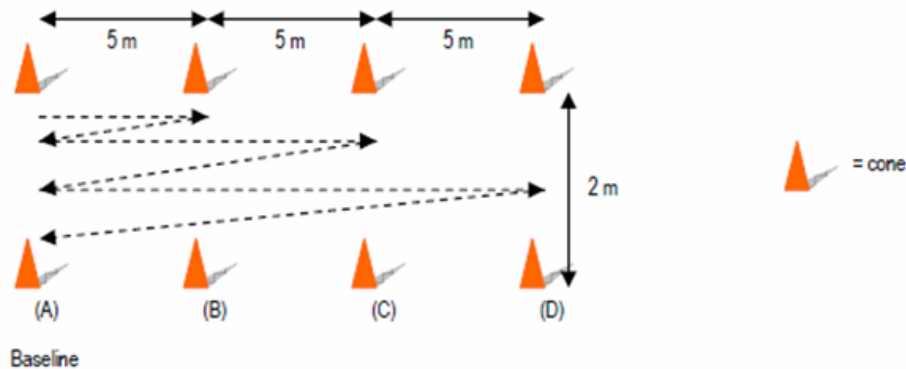
تقسیم شدند. نتایج آزمون ANOVA اختلاف معنی داری بین گروه‌های تحقیق از نظر HSP72 در مرحله پیش آزمون نشان نداد، بنابراین هر چهار گروه همگن بودند.

پس از کنترل سوابق پزشکی، وضعیت تغذیه‌ای و فعالیت بدنی و تقسیم‌بندی گروه‌ها، برخی اندازه‌گیری‌های آنروپومتریکی انجام و نمونه‌های خونی مرحله پیش آزمون از هر چهار گروه گرفته شد. سپس گروه تجربی اول تمرین تخلیه گلیکوژنی به همراه مصرف مکمل گلوکز، گروه تجربی دوم تمرین تخلیه گلیکوژنی همراه با مصرف گلوتامین و گروه سوم تمرین تخلیه گلیکوژنی توأم با مصرف دارونما را به مدت چهار هفته و هر هفته دو جلسه انجام دادند. گروه چهارم یا کنترل هیچ کدام از این تمرین‌ها را انجام نمی‌دادند. به گروه تجربی اول نوشیدنی ورزشی حاوی ۱۸٪ گلوکز به مقدار و حجم 5ml/kgBW دو و نیم ساعت قبل از اجرای پروتکل ورزشی و حاوی ۶٪ گلوکز به مقدار و حجم 2ml/kgBW حین اجرای پروتکل ورزشی تخلیه گلیکوژن داده شد (۲۷، ۲۸). گروه تجربی دوم نیز نوشیدنی ورزشی حاوی ۲۸ گرم اسیدآمینۀ گلوتامین به مقدار و حجم 0.4g/kgBW و 5ml/kgBW دو و نیم ساعت قبل از اجرای پروتکل ورزشی و به مقدار و حجم 0.4g/kgBW و 2ml/kgBW حین اجرای پروتکل ورزشی تخلیه گلیکوژن داده شد (۲۷، ۲۸). گروه سوم نیز دارونما حاوی ۲٪ گلوکز به مقدار و حجم 5ml/kgBW دو و نیم ساعت قبل از اجرای پروتکل تمرینی و حاوی نوشیدنی ۲٪ گلوکز به مقدار و حجم 2ml/kgBW حین اجرای پروتکل تمرینی تخلیه گلیکوژن مصرف می‌کردند (۲۷، ۲۸). گروه چهارم نیز هیچ‌گونه فعالیت بدنی منظم نداشتند و مکملی نیز دریافت نمی‌کردند. گروه تجربی اول و دوم به همراه گروه دارونما هر هفته دو جلسه تمرین انجام می‌دادند و مصرف مکمل‌ها و دارونما طی چهار هفته تمرین تخلیه گلیکوژنی ادامه یافت. جهت از بین رفتن اثرات حاد آخرین جلسه تمرینی، ۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرینی نمونه‌های خونی پس آزمون از هر چهار گروه گرفته شد. در ادامه، جهت ارزیابی سازگاری‌های حاصل شده در متغیر وابسته تحقیق، HSP72 سرم آزمودنی‌ها در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد.

#### **پروتکل تمرین تناوبی - استقامتی و امانده‌ساز**

جهت تخلیه گلیکوژن از آزمون RHIET که در شکل ۱ نشان داده شده است به عنوان پروتکل تمرینی استفاده شد. الگوی اجرایی آن بدین صورت بود که هشت مخروط در دو ردیف چهارتایی با فاصله دومتر از همدیگر قرار گرفتند و در ردیف‌های چهارتایی فاصله مخروط‌ها از یکدیگر پنج متر بود. هر آزمودنی با فرمان شروع اجرای تمرین را آغاز کرد، پنج متر اول را به صورت رفت و برگشت انجام داد، دوباره از مخروط اول تا مخروط سوم را که ۱۰ متر است به طور رفت و برگشت پیمود و در نهایت دوباره تا مخروط چهارم که در فاصله ۱۵ متری قرار دارد رفت و برگشت را انجام داد. در یکبار تکرار این الگوی تمرینی کل مسافت طی شده ۶۰ متر است که در ۳۰ ثانیه انجام می‌شود. هر آزمودنی باید شش بار بدون استراحت در زمان‌های ۳۰ ثانیه‌ای این آزمون را اجرا کند که در نهایت کل زمان آزمون ۱۸۰ ثانیه خواهد شد. اگر هر آزمودنی در حین اجرای یک تکرار زودتر از ۳۰ ثانیه رفت و برگشت را کامل کند، بایستی تا انتهای زمان ۳۰ ثانیه منتظر بماند و سپس مرحله بعدی را آغاز کند. این الگوی تمرینی که زمان کامل یک وهله آن سه دقیقه است به دفعات متعدد انجام می‌شود (۲۸).

زمان استراحت بین هر وهله سه دقیقه‌ای از طریق مطالعه مقدماتی که قبل از شروع پژوهش حاضر صورت گرفت ۳۰ ثانیه و زمان کل هر جلسه تمرینی دو و نیم ساعت به دست آمد تا با توجه به شاخص گلوکز خون انتهای جلسه تمرینی، تخلیه گلیکوژنی رخ دهد. در این مطالعه مقدماتی با دستکاری زمان‌های استراحت بین هر تکرار، زمان کل هر جلسه تمرینی و اندازه‌گیری گلوکز خون در ابتدا و پایان جلسه تمرینی و در فواصل زمانی مشخص حین تمرین به عنوان شاخصی برای وقوع تخلیه گلیکوژنی، به موارد فوق دست یافتیم. در یک تحقیق به میزان  $3/89$  میلی مول بر لیتر گلوکز خون پس از تخلیه گلیکوژن و در تحقیق دیگری به میزان  $3/67 \pm 0/11$  میلی مول بر لیتر گلوکز خون پس از تخلیه گلیکوژن اشاره شده است که در تحقیق حاضر مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۲۹، ۳۰). این زمان تمرینی و فواصل استراحت، همان‌طور که در بالا نیز گفته شد، ۳۰ ثانیه استراحت بین هر سه دقیقه کار و زمان کل تمرینی در هر جلسه تمرینی دو و نیم ساعت به دست آمد که این موقعیت تمرینی به عنوان تمرین مرجع برای وقوع تخلیه گلیکوژنی در نظر گرفته شد و به منزله پروتکل تمرینی تخلیه گلیکوژنی از آن استفاده شد.



شکل ۱. نمودار یک وهله از تمرین تناوبی - استقامتی ومانده‌ساز یا Repeated High-Intensity Endurance Test (RHIET)

### خونگیری و نمونه‌های خونی

در این مطالعه قبل از شروع دوره تمرینی، یعنی در مرحله پیش‌آزمون و ۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرینی تخلیه گلیکوژنی، یعنی طی مرحله پس‌آزمون، از هر آزمودنی خون‌گیری از طریق ورید زند اعلی به حجم سه میلی لیتر انجام شد. سپس سرم خون جهت اندازه‌گیری غلظت HSP72 سرم از طریق یک SST vacutainer (Systems, Plymouth.UK BD Vacutainer) از تیوب سه میلی لیتری از محتوای خون داخل لوله شیشه‌ای حاوی لخته ناشی از پلاگ به دست آمد و همه نمونه‌های خونی در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی نگهداری شدند (۷، ۹).

برای تعیین میزان HSP72 سرم خون از روش ارزیابی ایمنوسوربنت متصل شده به آنزیم-Enzyme-linked immunosorbent assay (linked) یا به طور مختصر ELISA از طریق استفاده از آنتی‌بادی طبق

دستورالعمل کارخانه سازنده [ HSP72 ELISA Kit (ADI - EKS-715, Enzo, BIOMOL, Stress ) Gen ] استفاده شد (۷، ۹، ۲۱، ۳۲).

برای تحلیل از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف توزیع طبیعی داده‌ها بررسی شد. همچنین از آزمون Leven جهت بررسی همگن بودن واریانس گروه‌ها استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و انجام کارهای آماری از تفاوت<sup>۱</sup> عددی بین مقادیر پیش و پس آزمون جهت مقایسه چهار گروه استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی معنی داری تفاوت بین گروه‌ها و درون گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس دوراهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. در تمام تجزیه و تحلیل‌های آماری سطح معنی داری برابر با  $\alpha = 0.05$  بوده است. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار کامپیوتری SPSS 16 و جهت ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده شد.

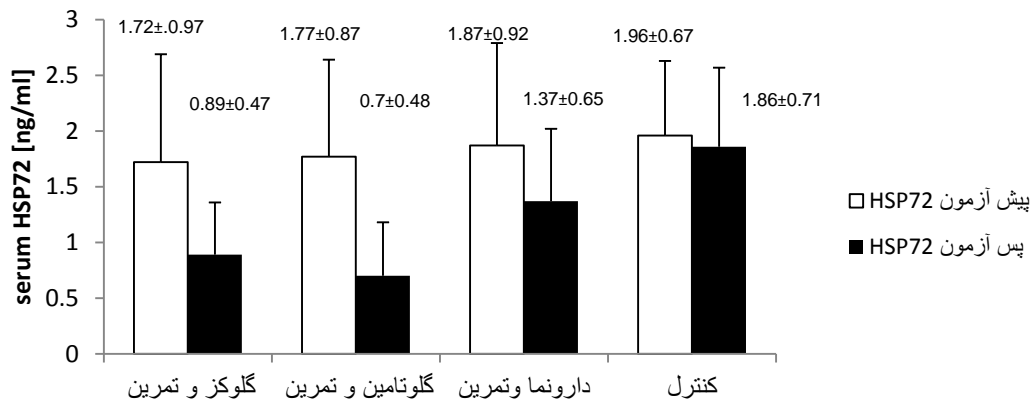
### نتایج تحقیق

خلاصه ویژگی‌های آنتروپومتریکی آزمودنی‌های تحقیق در جدول ۱ آمده است. نتایج داده‌های چهار گروه تمرینی قبل از آغاز دوره تمرینی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی ۴ هفته‌ای برای غلظت HSP72 سرم در نمودار ۱ آمده است.

جدول شماره ۱. میانگین و انحراف استاندارد ویژگی‌های آنتروپومتریکی آزمودنی‌ها

گروه‌ها متغیر	گلوکز و تمرین	گلوتامین و تمرین	دارونما و تمرین	کنترل
سن (سال)	۲۰/۶±۲/۶	۱۹/۸±۳/۱	۲۰/۵±۲/۷	۲۰/۸±۲/۲
قد (سانتی‌متر)	۱۷۲/۲±۵/۳۱	۱۶۴/۲±۷/۱۲	۱۷۵/۲±۶/۴۲	۱۷۰/۲±۵/۸۵
وزن (کیلوگرم)	۶۹/۱۳±۱۰/۴	۶۷/۱۳±۱۱/۸	۷۱/۱۳±۹/۶	۷۴/۱۳±۸/۶
BMI (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۳/۶۶±۳/۲	۲۴/۴۶±۳/۷	۲۲/۲۳±۴/۲	۲۵/۴۳±۴/۱
چربی بدن (درصد)	۱۷/۶۸±۶/۲	۱۶/۷۵±۷/۱	۱۵/۷۵±۸/۳	۱۸/۷۵±۵/۷

1. Different



شکل ۲. مقادیر HSP72 سرمی گروه‌های تحقیق

جدول ۲ اثر معنی‌داری برای متغیر مستقل تمرین بین گروه‌های تحقیق برای متغیر وابسته HSP72 سرم را نشان می‌دهد.  $[F(1,17)= 6.362 P<0.05]$ .

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس دوره‌ها در مورد میزان HSP72 سرم

منبع تغییرات	معنی‌داری	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات
مکمل‌سازی	۰/۰۰۱	۱۵/۶۶۲	۱۳/۳۷۳	۱	۱۳/۳۷۳
تمرین	۰/۰۲۲	۶/۳۶۲	۵/۴۳۲	۱	۵/۴۳۲
اثر متقابل	۰/۱۳۹	۳/۸۸۴	۹/۳۲۵	۲	۱۸/۶۵۰
خطا			۰/۸۵۴	۱۷	۱۴/۵۱۸
کل				۲۰	۲۹/۳۷۴

نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس دوره‌ها اثر معنی‌داری برای متغیر مستقل تمرین بین گروه‌های تحقیق برای متغیر وابسته HSP72 سرم را نشان داد  $[F(1,17)= 6.362 P<0.05]$ . همچنین نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس دو راهه اثر معنی‌داری برای متغیر مستقل مکمل بین گروه‌های تحقیق برای متغیر وابسته HSP72 سرم را نشان داد  $[F(1,17)= 15.362 P<0.01]$ . نتایج آزمون تعقیبی توکی حاکی از اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های دارونما با گروه مکمل ۱ ( $p<0.05$ ) و بین گروه‌های دارونما با گروه مکمل ۲ ( $p<0.01$ ) بود. تمام اختلاف‌های معنی‌دار به‌دست‌آمده با کاهش همراه بوده است. نتایج تحقیق به کاهش معنی‌دار HSP72 سرم پس از چهار هفته تمرین تخلیه گلیکوژنی بین گروه دارونما با دو گروه مکمل‌سازی دیگر تحقیق اشاره دارد.

## بحث و نتیجه گیری

هدف از اجرای این تحقیق بررسی تأثیر مصرف گلوکز و گلوتامین طی چهار هفته تمرین تخلیه کننده گلیکوژن عضلات بر سازگاری های احتمالی HSP72 سرم خون مردان غیر ورزشکار بود. نتایج تحقیق حاکی از کاهش معنی دار HSP72 سرم پس از چهار هفته تمرین برای هر دو متغیر مستقل مکمل سازی و تمرین تخلیه گلیکوژنی و کاهش معنی دار HSP72 سرم بین گروه دارونما با سه گروه دیگر تحقیق یعنی گروه های دریافت کننده گلوکزی، گروه دریافت کننده گلوتامینی و گروه کنترل بود. طبق پیشینه تحقیق، یک جلسه تمرین باعث افزایش HSP72 می شود (۸، ۱۳، ۲۱، ۳۲، ۳۳) اما اگر تمرین به مدت طولانی تر و طی چندین هفته انجام شود، سازگاری HSP72 با کاهش همراه است (۱۲). نتایج تحقیق حاضر نیز حاکی از سازگاری HSP72 همراه با کاهش بوده است. اما در دسته ای دیگر از تحقیقات سازگاری HSP72 با افزایش همراه بوده است (۲۰، ۳۴) که با نتایج تحقیق حاضر متفاوت است البته در این دسته از تحقیقات نوع تمرین و الگوی اجرای تمرین و نوع آزمودنی ها با تحقیق ما متفاوت است و شاید این عوامل در سازگاری HSP72 مؤثر بوده است. از طرفی در تحقیقی نشان داده شده است که پاسخ HSP72 در هنگام ورزش به شدت تمرین وابسته است (۳۳)؛ از این رو شاید بتوان نتایج متفاوت را به دلیل شدت و نوع تمرین نیز دانست. یکی از عواملی که باعث تحریک افزایش پاسخ HSP72 می شود، کاهش دسترسی به منابع کربوهیدراتی و به عبارت دیگر تخلیه گلیکوژنی در حین تمرین و فعالیت بدنی است (۱۷). در این تحقیق سعی شده است با استفاده از مکمل سازی و دادن مکمل گلوکزی در حین تمرین به آزمودنی ها، از تخلیه منابع گلیکوژنی جلوگیری شود تا جلوگیری از استرسورهای HSP72 یعنی تخلیه محتوای گلیکوژنی گرفته شود تا با این پیش فرض، اثر آنرا پس از چهار هفته بر میزان HSP72 بسنجیم و سازگاری آنرا با دادن گلوکز به آزمودنی های تحقیق مشخص کنیم. نتایج تحقیق حاکی از کاهش معنی دار گروه دریافت کننده گلوکزی به همراه تمرین تخلیه گلیکوژنی نسبت به گروه دارونما بود که صرفاً تمرین تخلیه گلیکوژنی را داشتند. این بدین معنی است که مصرف مکمل گلوکزی طی چهار هفته باعث کاهش میزان HSP72 سرم شده است؛ البته این کاهش بین دو گروه گلوکزی و دارونما بوده است و دریافت گلوکز نتوانسته باعث کاهش HSP72 سرم نسبت به دریافت مکمل گلوتامینی یا گروه کنترل شود. بدین معنی که مصرف مکمل گلوکزی نسبت به مکمل گلوتامینی مزیتی ندارد. می توان گفت دریافت گلوکز در حین تمرین باعث کاهش HSP72 می شود و این مزیت است، زیرا کاهش HSP72 استراحتی به معنی استرس و فشار کمتر است؛ از این رو کاهش HSP72 پس از چند هفته تمرین، شاخص مناسب و مفیدی برای فرد تلقی می شود؛ یعنی چنین شخصی در قیاس با فردی با همان ویژگی ها با کاهش استرس و در نتیجه افزایش عملکرد روبه رو است. افزایش بیشتر HSP72 در حین تمرین، اگرچه شاخص محافظتی قلمداد می شود، به منزله افزایش استرس و فشار بر فرد است؛ بنابراین کاهش HSP72 در حین تمرین و پس از تمرین شاخص مفیدی در افراد سالم به شمار می آید. در بسیاری از تحقیقات میزان HSP72 در افراد دارای مشکلات و بیماری هایی از قبیل سرطان، مشکلات قلبی، چاقی ناشی از مقاومت انسولینی و ایدز بیشتر از افراد سالم است؛ بنابراین از جنبه پاتولوژیکی



هم کاهش HSP72 شاخص مفیدی تلقی می‌شود (۱۰، ۱۴، ۳۵). HSP72 یک سیگنال خطر و عامل ایمنی در دستگاه ایمنی بدن است و طبق پیشینه تحقیقات عملکردهای ایمنی دارد (۱، ۶). بنابراین می‌توان به افرادی که در فعالیت‌های بلندمدت شرکت می‌کنند، جدا از اثرات جانبی و مفید مصرف گلوکز از جنبه کاهش استرس وارد شده به بدن و از جنبه ایمونولوژیکی، توصیه کرد که درحین چنین فعالیت‌هایی گلوکز مصرف کنند. درحین تمرینات فوق استقامتی که منجر به افزایش HSP72 می‌شود، می‌توان با مصرف گلوکز اثر مداخله‌ای ایجاد کرد و مانع افزایش HSP72 شد و درواقع از استرسورهایی که موجب تحریک HSP72 می‌شوند جلوگیری کرد؛ زیرا طبق نتایج تحقیق مصرف مکمل گلوکزی از افزایش HSP72 جلوگیری می‌کند. این مسئله شاید به دلیل تأخیر در اتمام ذخایر گلیکوژنی در حین تمرین باشد، چون دریافت گلوکز درحین تمرین به صورت بلندمدت باعث کاهش HSP72 نسبت به تمرین بدون گلوکز شد. نتایج این تحقیق حاکی از کاهش معنی‌دار HSP72 سرم پس از چهار هفته در گروه گلوتامینی نسبت به گروه دارونما نیز بود. اگرچه محقق درباره ورزش، چه به صورت حاد، چه به صورت مزمن و مصرف گلوتامین تحقیقی نیافت، درباره نقش گلوتامین و اثر آن بر HSP72، پیشینه تحقیق نشان داده است که گلوتامین باعث افزایش بیان و محتوای پروتئینی HSP72 می‌شود (۲۲). از طرفی، گلوتامین نقش‌های دیگری نیز دارد که از آن جمله در هنگام اتمام منابع کربوهیدراتی می‌تواند تحریک‌کننده سنتز و تجمع گلیکوژن باشد و همانند گلوکز از تخلیه گلیکوژن جلوگیری کند و اثرات آن مشابه با مصرف گلوکز باشد (۲۵). گلوتامین به سیستم ایمنی که HSP72 نیز جزئی از عملکرد این سیستم است کمک می‌کند و باعث ارتقای عملکرد سیستم ایمنی می‌شود (۱۱، ۲۵). اما همان‌طور که در بالا نیز گفته شد، هر عاملی که بتواند در بلندمدت باعث کاهش HSP72 شود، شاخص مفیدی قلمداد می‌شود. چون کاهش HSP72 نشان‌دهنده استرس کمتر وارد شده به بدن است، بنابراین از این منظر مصرف گلوتامین می‌تواند علاوه بر اثرات مفید دیگر برای بدن (۲۳، ۲۴، ۲۵) از نظر شاخص HSP72 هم مؤثر واقع شود. اما در زمینه نقش گلوتامین و HSP72 نوعی تناقض وجود دارد، زیرا از جهتی مصرف مکمل گلوتامین باعث افزایش پاسخ HSP72 البته پس از یک جلسه می‌شود (۲۲) اما در تحقیق حاضر به صورت بلندمدت مصرف مکمل گلوتامین باعث کاهش HSP72 شد. در پاسخ به یک وعده مصرف گلوتامین افزایش HSP72، مطابق با پیشینه تحقیق صورت می‌گیرد و شاید گلوتامین بدن را درحین یک جلسه تمرین برای مقابله با استرس بهتر آماده می‌کند و افزایش HSP72 دارای مزیت است، اما در بلندمدت بدن سازگارتر می‌شود و خود را با مصرف گلوتامین سازگار می‌کند و پس از مدتی با کاهش HSP72 روبه‌رو می‌شود که این کاهش در سطوح استراحتی شاخص مفیدی تلقی می‌شود و این پارادوکس نیز توجیه می‌گردد. افزایش یک فاکتور یا ماده در بدن حین فعالیت ورزشی پاسخ محسوب می‌شود که با توجه به مدت و شدت فعالیت می‌تواند متغیر باشد و باعث می‌شود بدن در موقعیت فشارزای جدید آماده باشد (۳۶) لذا افزایش بسیاری از مواد و فاکتورها از جمله HSP72 که به‌عنوان فاکتور ضد استرس و ایمونولوژیکی محسوب می‌شود (۶)، نشان‌دهنده تطابق بیشتر و بهتر بدن با موقعیت فشارزا است که این موقعیت در تحقیق حاضر فعالیت بدنی فوق استقامتی است. از طرف دیگر،

سازگاری‌های ایجاد شده در بدن در هر موقعیت استرس‌زای جدید می‌تواند متغیر باشد، اما درباره HSP72، که فاکتوری ضد استرس است، کاهش سطوح استراحتی مبین موقعیت استرسی نازل و شاخصی مفید است (۱)، (۱۲). بنابراین، هم مصرف گلوکز و هم مصرف گلوتامین در حین تمرین و فعالیت بدنی به خصوص فعالیت‌های فوق استقامتی بلندمدت، می‌تواند مؤثر باشد و میزان استراحتی HSP72 سرم را کاهش دهد. اما یکی دیگر از نتایج این تحقیق معنی‌دار نبودن HSP72 در گروه دارونما نسبت به گروه کنترل بود. اگرچه در برخی تحقیقات پس از چند هفته افزایش و در برخی دیگر از تحقیقات کاهش HSP72 گزارش شده است، مطابق با نتایج تحقیق معنی‌دار نبودن HSP72 به منزله بی‌تأثیر بودن تمرین تخلیه گلیکوژنی در جهت افزایش یا کاهش HSP72 نسبت به گروه کنترل است. اما در اینجا بحث این است که چرا تمرین تخلیه گلیکوژنی نتوانسته است باعث تغییر معنی‌دار به خصوص کاهش در گروه دارونما شود که فقط تمرین داشتند، چراکه مطابق پیشینه تحقیق پس از چند هفته تمرین با الگوهای متفاوت، برخی تحقیقات با افزایش و برخی دیگر با کاهش HSP72 همراه بوده‌اند. اما در تحقیق حاضر تفاوتی را مشاهده نکردیم بدین معنی که تمرین تخلیه گلیکوژنی نتوانسته است باعث تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه شود؛ برخلاف دو گروه دیگر که مکمل دریافت می‌کردند. به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر این مسئله به دلیل تفاوت نوع تمرین‌های تحقیق حاضر باشد. البته شاید یکی دیگر از دلایل این مسئله استفاده از نوع آزمون‌های تعقیبی بود، چراکه با استفاده از آزمون تعقیبی LSD معنی‌داری بین گروه دارونما با کنترل به دست آمد، که نشان‌دهنده تأثیر تمرین تخلیه گلیکوژنی نسبت به گروه کنترل بر HSP72 بود. آزمون به کار رفته در تحقیق حاضر از نوع آنوای دوراهه بود؛ این نوع آزمون آماری اثر متقابل دو متغیر مستقل را نیز اندازه‌گیری می‌کند اما در این تحقیق اثر متقابل مکمل و تمرین معنی‌دار نشد، پس استفاده از مکمل و تمرین تخلیه گلیکوژنی اثر مشترکی بر HSP72 ندارند و هر کدام از این متغیرها اثرات خاص خودشان بر HSP72 هستند و بنابراین اثر تعاملی مشترکی ندارند. به دلیل معنی‌داری بیشتر مکمل  $P < 0.01$  نسبت به تمرین  $P < 0.05$  تأثیر و سازگاری مکمل بر میزان HSP72 بیشتر از تمرین است.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که مکمل سازی گلوکز یا گلوتامین در حین تمرین تخلیه گلیکوژنی می‌تواند در طولانی مدت باعث کاهش HSP72 سرم شود و مصرف مکمل‌های فوق می‌تواند، علاوه بر اثرات مفید در بدن، از حیث HSP72 نیز مؤثر باشد و باعث افزایش HSP72 سرم پس از چهار هفته شود. از کاهش HSP72 که شاخصی مفید در زمان استراحتی محسوب می‌شود و توسط گلوکز و گلوتامین پس از چند هفته همراه با تمرین ایجاد می‌شود، می‌توان به افرادی که در فعالیت‌های ورزشی شرکت می‌کنند توصیه کرد که همراه با تمرین و فعالیت بدنی به خصوص فعالیت‌های بلندمدت استقامتی گلوکز یا گلوتامین مصرف کنند، زیرا HSP72 سرم در گروه دارونما افزایش یافت، ولی در دو گروه مکملی که تمرین نیز داشتند HSP72 سرم کاهش نشان داد.

## منابع

- Marius, L., and Noble, E.G. (2002) Exercise and stress response the role of stress proteins. CRC Press LLC.
  - Asea, A. (2007) Mechanisms of HSP72 release. *J Biosci.* 32: 579-584.
  - Belter, J.G., Hannah, V.C. and Theodore, G.J.R. (2004) Effects of voluntary exercise and genetic selection for high activity levels on HSP72 expression in house mice, *Appl Physiol*, 96:1270-1276.
  - Chung, L., Ng, Y.C. (2006) Age-related alterations in expression of apoptosis regulatory proteins and heat shock proteins in rat skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta.* 1762:103-109.
  - Febbraio, M.A. and Koukoulas, I. (2000) HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. *J Appl Physiol.* 89: 1055-1060.
  - Lancaster, G. and Febbraio, M. (2007) Heat shock proteins: potent mediators of inflammation and immunity Heat shock proteins. *AMREP.* 1, part1:31-37.
  - Marshall, H.C., Richard, A.F. and Myra, A.N. (2006) Human resting extracellular heat shock protein 72 concentration decreases dur. *Cell Stress & Chaperones*, 11(2):129-134.
  - Smolka, M., Claudio, C.Z., Armindo, A.A., Leonardo, R.S., Marangoni, S., Pereira, L., Novello, J.C., and Macedo, D.V. (2000) HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, 279: R1539-R1545.
  - Whitham, M., Fortes, M.B. (2006) Effect of blood handling on extracellular Hsp72 concentration after high-inte... *Cell Stress & Chaperones*, 11(4): 304-308.
  - Barnes, J.A., et al. (2001) Expression of inducible Hsp70 enhances the proliferation of MCF-7 breast cancer cells and protects against the cytotoxic Effects of hyperthermia. *Cell Stress Chaperones.* 6: 316-325.
  - Liang, M. et al. (2009) Different effect of glutamine on macrophage tumor necrosis factor-alpha release and heat shock protein72 expression in vitro and in vivo. *Acta Biochim. Biophys. Sin* 171-177.
۱۲. آقا علی نژاد، حمید، توفیقی، اصغر، زهیر، محمدحسن، مهدوی، مهدی و شاهرخی، سمیه. (۱۳۸۷) اثر تمرین استقامتی پیوسته بر میزان HSP70 و طول عمر موش های مبتلا به تومور سرطان سینه، نشریه علمی- پژوهشی المییک، شماره ۴۲، صفحات ۸۶-۷۵.
- Noble, E.G., Ho, R. and Dzialoszynski, T. (2006) Exercise is the primary factor associated with HSP70 induction in muscle of treadmill running rats, *Acta Physiol Scand.*, 187: 495-501.
  - Yaglom, J.A., Gabai, V.L & Sherman, M.Y. (2007) High Levels of Heat Shock Protein Hsp72 in Cancer Cells Suppress Default Senescence. *Cancer Res.* 67: 2373-2381.
  - Morton, J.P., MacLaren, D.P.M., Cable, N.T., Campbell, I.T., Evans, L., Kayani, A.C., McArdle, A., Drust, B. (2008) Trained men display increased basal heat shock protein content of skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc.* 40:1255-1262.
  - Febbraio, M.A., Mesa, J.L., Chung, J., Steensberg, A., Keller, C., Nielsen, H.B., Krstrup, P., Ott, P., Secher, N.H., Pedersen, B.K. (2004) Glucose ingestion attenuates the exercise-induced increase in circulating heat shock protein72 and heat shock protein60 in humans. *Cell Stress Chaperones* 9: 390- 396.
  - Febbraio, M.A., Steensberg, A., Walsh, R., Koukoulas, I., van, H.G., Saltin, B., Pedersen, B.K. (2002) Reduced glycogen availability is associated with an elevation in HSP72 in contracting human skeletal muscle. *Physiol*, 583.3, pp.911-917.
  - Morton, J.P. et al. (2009) Reduced carbohydrate availability does not modulate training-induced heat shock protein adaptations but does upregulate oxidative enzyme activity in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 106: 1513-1521.
۱۹. دبیدی روشن، ولی الله، عبدی حمزه کلائی، هدی، موسوی، سید غلامرضا. (۱۳۸۷) تاثیر یک جلسه دوی استقامتی فزاینده و تمرین با وزنه بر پاسخ پروتئین شوک گرمایی زنان جوان فعال. نشریه علوم حرکتی و ورزش. شماره ۱۲ (جلد دوم)، صفحات: ۸۶-۷۷.
- Kayani, A.C., Graeme, L.C., Malcolm, J.J. and Anne, M. (2008) Prolonged treadmill training increases HSP70 in skeletal muscle but does not affect age- related functional deficits *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294: R568- R576.
  - McClung, J.P., Hasday, J.D., Juren, H., Scott, J.M., Samuel, N.C., Michael, N.S. and Ishwar, S.S. (2007) Exercise-heat acclimation in humans alters baseline levels and ex vivo heat indelibility of HSP72 and HSP90 in peripheral blood mononuclear cells. *Am J Physiol. Regul. Inter. Comp. Physiol.*, 294:R185=R191.
  - Wischmeyer, P.E. (2002) Glutamine and heat shock protein expression. *Nutrition.* 18(3):225-8.
  - Antonio, J., Street, C. (1999) Glutamine: a potentially useful supplement for athletes. *Can J Appl Physiol* 24(1): 1-14.
  - Gleeson, M. (2008) Dosing and Efficacy of Glutamine Supplementation in Human Exercise and Sport Training. *Am Society for Nutrition.* 138: 2045S-2049S.
  - Rowbottom, et al. (1996) The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. *Spors Med.* 21: 80-97.
  - Mackenzie, B. (2005) 101 Performance Evaluation Tests. Electric World PLC. pp: 44-47.
  - Antonio, J., and Stout, J. (2001) Sports supplements, Lippincott Williams and Wilkins, pp: 116-117.
  - Baily, C., Burke, V. and Shanks, A. (2006) Basketball New Zealand In B. Bishop & P. Hume (Eds), Guidelines for athlete assessment in New Zealand sport. *Sport A Exerc Sci New Zealand.*
  - Ivy, L., et al. (2002) Early postexercise muscle glycogen recovery is enhanced with a carbohydrate-protein supplement. *J Appl Physio.* 93:1337-1344.
  - Zawadzki, K.M., Yaspelkis, B.B., Ivy, J.L. (1992) Carbohydrate-protein complex increases the rate of muscle glycogen storage after exercise. *J Appl Physiol.* 72(5):1854-1859.
  - Whitham, M., Stewart, J.L., Anna, J., Norbert, M. and Neil, P.W. (2007) Effect of exercise with and without a thermal clamp on the plasma HSP72 response. *J Appl Physiol.* 103: 1251-1256.
  - Desplanches, D., Ecochard, L., Sempore, B., Mayet, S.M.H. and Favier, R. (2004) Skeletal muscle HSP72 response to mechanical unloading: influence of endurance training. *Acta Physiol Scand.* 180: 387-394.
  - Liu, Y., Lomas, W., Baur, C., Optiz-Gress, A., Altinburg, D., Lehmann, M., Steinacker, J.M. (2000) Human skeletal muscle HSP70 response to physical training depends on exercise intensity. *Int J Sports Med* 21: 351-355.

34. Melling, C.W., James, T.B., David, Kevin J.M., Matthew, P.Krause, and Earl G. Noble. (2007) Exercise- mediated regulation of Hsp70 expression following aerobic exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293: H3692–H3698.
35. Chung, J., Nguyen, A.K., Henstridge, D.C., Holmes, A.G., Chan, M.H., Mesa, J.L., Lancaster, G.I., Southgate, R.J., Bruce, C.R., Duffy, S.J., Horvath, I., Meistril, R., Watt, M.J., Hooper, P.L., Kingswell, B.A., Vigh, L., Hevener, A., Febbraio, M.A. (2008) HSP72 protects against obesity- induced insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 1739– 1744.
36. Garrett, W.E., Kirkendall, D.T. (2000) *Exercise and sport science*. Lippincott Williams and Wilkins, pp: 260-262