Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2014; 17(91): 65-73

Protective effect of glutamine by the expression of HSP_{70} and reduction of cortisol on exercise induced stress

Karami S[1], Kashef M[2], Mehri Alvar Y[1]

1- Department of Physical Education and sport science,Teacher Training Shahid Rajaee University of Tehran
2- Department of Physical Education and sport science, Teacher Training Shahid Rajaee University of Tehran

Received: 26 Jul 2014, Accepted: 1 Oct 2014

Abstract

Background: Heat shock proteins (HSP) can act as a cellular protection by facilitating reconstruction of denatured proteins. The aim of this study is evaluation of protective effects of glutamine consumption on HSP70 and cortisol response.

Materials and Methods: In this experimental study, 28 soccer players divided into 4 groups: control (n=7), supplement (n=7), exercise (n=7) and exercise supplement (n=7). Supplements (glutamine) and placebo (Dextrin) to a 0/5 gram per kg of body weight and volume of 5 ml per kg of body weight one hour prior to the exercise protocol was used. exercise protocol include a 3-stage 20-minute run at 80% of maximum heart rate and rest 5 minutes. Blood samples of basal (after 12-14 hour overnight fasting), post exercise, and 90 minutes after exercise were gathered and HSP_{70} of serum and cortisol were measured with Elisa and RIA respectively. Data were analyzed with multivariate repeated measures (MANOVA) at $p\leq0/05$ level.

Results: There was significant difference in HSP_{70} amounts between supplement group and exercise supplement group compared to the control group ($p\leq0/09$, $p\leq0/019$) and also supplement group with exercise supplement group ($p\leq0/032$). Also there was significant difference Between post exercise and 90 min after exercise stages compared to basal stage ($p\leq0/08$, $p\leq0/06$) and between post exercise and 90 min after exercise ($p\leq0/030$). In cortisol amounts between basal and 90 min after exercise stages ($p\leq0/026$) there was significant difference.

Conclusion: glutamine sitimulate of HSP_{70} induction and combination of supplement with exercise has a great HSP_{70} response thus athletes who wish to compete or have intense exercise, glutamine consumption is recommended.

Keywords: Cortisol, Exercise, Glutamine, HSP_{70}, Stress

*Corresponding Author:
Address: Department of Physical Education and sport science,Teacher Training Shahid Rajaee University of Tehran
Email: Karami.sp@gmail.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۱۷، شماره ۱۰ (شماره پیاپی۹۱)، دی ۱۳۹۳، ۷۳-۶۵

اثر محافظتی گلوتامین به واسطه پاسخ HSP70 و کاهش کورتیزول در برابر استرس فعالیت ورزشی

سجاد کرمی[1*]، دکتر مجید کاشف[2]، یعقوب مهری الوار[1]

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزش ، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران
۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش ، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۴تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۹

چکیده

زمینه و هدف: پروتئین شوک گرمایی (HSP) می‌تواند از طریق تسهیل در بازسازی پروتئین‌های دناتوره شده به عنوان محافظ سلولی عمل کند. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر محافظتی گلوتامین در برابر استرس ناشی از فعالیت ورزشی و ارتباط آن با پاسخ HSP_{70} و کورتیزول می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۲۸ فوتبالیست در چهار گروه برابر کنترل، مکمل، مکمل– فعالیت ورزشی و فعالیت ورزشی، تقسیم شدند. مکمل و دارونما را به مقدار ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و حجم ۵ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن یک ساعت قبل از اجرای فعالیت ورزشی مصرف کردند. فعالیت ورزشی شامل ۳ مرحله دویدن ۲۰ دقیقه‌ای با شدت ۸۰ درصد ضربان قلب بیشینه و استراحت فعال ۵ دقیقه‌ای بود. نمونه خونی پایه، پس آزمون و ۹۰ دقیقه پس از آزمون گرفته و HSP_{70} سرم و کورتیزول به ترتیب با استفاده از روش الایزا و RIA سنجیده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس در اندازه‌گیری مکرر چند متغیره در سطح $p\leq ۰/۰۵$ تحلیل شد.

یافته‌ها: در مقادیر HSP_{70} بین گروه مکمل و مکمل فعالیت ورزشی نسبت به گروه کنترل ($p\leq ۰/۰۱۹$ و $p\leq ۰/۰۹$) و گروه مکمل با مکمل فعالیت ورزشی ($p\leq ۰/۰۳۲$) و هم‌چنین بین مراحل پس آزمون و ۹۰ دقیقه پس از آزمون نسبت به مرحله پایه ($p\leq ۰/۰۶$ و $p\leq ۰/۰۸$) و بین مرحله پس آزمون و ۹۰ دقیقه پس از آزمون ($p\leq ۰/۰۳۰$) تفاوت معنی دار وجود داشت. مقادیر کورتیزول بین مراحل پایه و ۹۰ دقیقه پس از آزمون ($p\leq ۰/۰۲۶$) تفاوت معنی‌دار نشان داد.

نتیجه‌گیری: مکمل گلوتامین محرک بیان HSP_{70} بوده و ترکیب مکمل– فعالیت ورزشی پاسخ بزرگ‌تری از HSP_{70} را شامل می‌شود لذا به ورزشکارانی که قصد شرکت در تمرینات شدید را دارند مصرف گلوتامین توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: کورتیزول، فعالیت ورزشی، گلوتامین، HSP_{70}، استرس

* **نویسنده مسئول:** تهران، لویزان، خیابان شهید شعبانلو، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی
Email:Karami.sp@gmail.com

مقدمه

اختلال در همئوستاز و بروز اختلالات متابولیکی و آسیب‌های سلولی از نشانه‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک قابل توجه پس از فعالیت ورزشی می‌باشد که بلافاصله پس از آن فرآیندهای انتقال، ترمیم سلولی و سنتز پروتئینی به جهت بازیابی همئوستاز سلولی آغاز می‌شود. در سطح سلولی، مطالعات پاسخ استرس سلولی، بیان یک سری از پروتئین‌های استرسی تحت عنوان پروتئین‌های شوک گرمایی (Heat Shock Protein-HSP) را به خوبی اثبات کرده است. بیان این پروتئین‌ها به دنبال فعالیت ورزشی در انواع مختلفی از پروتکل‌های فعالیت ورزشی متفاوت است و به عوامل مختلفی نظیر شدت، مدت و یا نوع فعالیت ورزشی بستگی دارد(۱). نقش این پروتئین‌ها در بدن شامل تسهیل در یکپارچگی پروتئین‌ها، جابجایی و انتقال پروتئین‌ها، اتصال به پروتئین‌های تخریب شده و کمک به فعال سازی مجدد، ترمیم و طراحی کمپلکس‌های پروتئینی، جلوگیری از تجمع پروتئین‌های ناپایدار، موثر در تهیه و عرضه آنتی‌ژن به وسیله کمپلکس اصلی سازگاری بافتی (Major histocomphability complex -MHC1) و شاخص آسیب سلولی در اهداف تشخیصی و درمانی می‌باشد(۲). پاسخ HSP_{70} یک واکنش رایج و معمول سلول به استرس‌های خارجی همانند فعالیت ورزشی است و مشخصه ویژه این دسته از پروتئین‌ها سنتز بلافاصله آنها پس از در معرض استرس قرار گرفتن موجود زنده می‌باشد. اوگاتا و همکاران مشاهده کردند که در پاسخ به تمرینات طولانی مدت، سطوح HSP_{72} افزایش می‌یابد(۳). کایانی و همکاران نیز افزایش معنی‌دار HSP_{72} را در عضلات موش‌های تمرین کرده پس از تمرینات شدید مشاهده کردند(۴). هم‌چنین پیک و همکاران دریافتند که دویدن با شدت بالا نسبت به شدت متوسط پاسخ بزرگ‌تری از HSP_{72} را منجر می‌شود(۵). از طرف دیگر فهرناچ و همکاران بیان کردند تمرین استقامتی طولانی مدت پاسخ بزرگ‌تری از HSP_{72} را در قیاس با تمرینات شدید کوتاه مدت سبب می‌گردد(۶). پولسن و همکاران بیان کردند که میزان بالای سطوح HSP_{72} در بخش میوفیبریلی نشان دهندهٔ نقش حمایتی این پروتئین‌ها در جلوگیری از آسیب‌های درون عضلانی می‌باشد(۷). نتینگ و همکاران مشاهده کردند پاسخ Hsp_{70} در عضله اسکلتی افراد تمرین کرده کاهش می‌یابد و به فشار تمرین بر پاسخ Hsp_{70} دلالت می‌کند(۸). دبیدی روشن و همکاران مشاهده کردند که تمرینات با وزنه به صورت برون‌گرا باعث افزایش بیشتر Hsp_{70} سرم پس از یک جلسه تمرین نسبت به دوی استقامتی شد(۹). در مجموع چنین به نظر می‌رسد که پاسخ HSP_{72} به تمرینات شدیدتر و طولانی مدت افزایش یافته و با عوامل برهم زننده هومئوستاز به مقابله می‌پردازد. گلوتامین به عنوان فراوان‌ترین اسیدآمینه موجود در خون دارای 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 اسیدهای آمینه شاخه‌دار (Branched Chain Amino Acid-BCAA)، راه اندازی مسیرهای ترانس آمیناسیون و دآمیناسیون و محرک سنتز سازشی پروتئین می‌باشد(۱۰). پژوهش‌های فراوان نشان داده‌اند که عوامل گوناگونی پاسخ HSP_{72} را تحت تاثیر قرار می‌دهد(۳-۱۰). این عوامل شامل کاهش گلوکز، هورمون‌های استرسی، افزایش کلسیم درون سلولی، افزایش اسیدیته، افزایش فسفات آزاد، ایسکمی و استرس گرمایی، تغییرات شارژ انرژی، هایپوکسی، تخریب پروتئینی و استرس اکسیداتیو می‌باشند. یکی از عواملی که در محیط کشت سلولی بر پاسخ HSP_{72} اثرگذار بوده است گلوتامین می‌باشد. نیسیم و همکاران نشان دادند که اضافه کردن گلوتامین به سلول‌های کلیه نوعی پستاندار منجر به افزایش پاسخ HSP_{72} شد(۱۱). ارنفرید و همکاران مشاهده کردند مکمل‌گیری گلوتامین به مقدار ۸ میلی‌مول در لیتر در سلول‌های اپی‌تلیال روده در رت‌ها می‌تواند محرک پاسخ HSP_{72} باشد(۱۲). هم‌چنین چو و همکاران دریافتند که گلوتامین می‌تواند پاسخ HSP_{72} را در سلول‌های اپی‌تلیال روده افزایش دهد(۱۳). از سوی دیگر ویشمیر و همکاران نتیجه گرفتند هر چه غلظت گلوتامین اضافه شده به محیط

کشت سلول‌های اپی‌تلیال روده بیشتر از ۲ میلی‌مول در لیتر شود، افزایش معنی‌دار تری در پاسخ HSP_{72} دیده می‌شود(۱۴). در مجموع به نظر می‌رسد تغییر فاکتورهای متابولیکی حین فعالیت ورزشی مانند گلوتامین پلاسما و برخی از فاکتورهای عصبی- هورمونی مانند کورتیزول می‌تواند پاسخ HSP_{72} را تحریک کنند. کورتیزول هورمونی استروئیدی که از قشر فوق کلیوی در پاسخ به افزایش ACTH و فعالیت ورزشی بلند مدت ترشح می‌شود. این هورمون در شرایط استرس ترشح می‌شود و در این پژوهش به عنوان شاخصی از استرس سلولی در نظر گرفته شده است. ویتهام و همکاران مشاهده کردند که افزایش پاسخ Hsp_{70} با پاسخ بیشتر اپی‌نفرین و کورتیزول همراه می‌باشد. این یافته‌ها حاکی است هورمون‌های استرسی می‌توانند واسطه مهمی در افزایش پاسخ Hsp_{70} ناشی شده به وسیله تمرین باشند(۱۵). باسو و همکارن نشان دادند که کورتیزول سطوح Hsp_{70} را در پی استرس در بافت‌های ماهی‌ها تعدیل می‌کند(۱۶). دبیدی روشن و همکاران به دنبال دویدن استقامتی تا حد واماندگی بر روی نوارگردان بدون شیب افزایش ناچیز کورتیزول را در مراحل میانی و پایانی فعالیت گزارش کردند(۹). با توجه به موارد مطرح شده، سوال اصلی این تحقیق این است که آیا مصرف مکمل گلوتامین می‌تواند بر پاسخ Hsp_{70} و کورتیزول ناشی از استرس فعالیت ورزشی تاثیری داشته باشد؟

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بود که به شکل میدانی با ۳ گروه تجربی و ۱ گروه کنترل به اجرا در آمده است. به منظور دستیابی به اهداف پژوهش، ۲۸ فوتبالیست باشگاهی رده امید تیم راه آهن تهران به صورت داوطلب انتخاب و به صورت تصادفی، به چهار گروه کنترل (n=۷)، مکمل (n=۷)، مکمل– فعالیت ورزشی (n=۷) و فعالیت ورزشی (n=۷) تقسیم شدند. بر اساس اطلاعات به دست آمده از پرسش‌نامه‌های سابقه پزشکی و پرسش‌نامه فعالیت بدنی r-Par-Q، آزمودنی‌ها سابقه بیماری خاص نداشته و در سه ماه گذشته هیچ‌گونه مکمل کربوهیدراتی، اسیدآمینه‌ای، کافئینی، آنتی‌اکسیدانی، مصرف الکل و تنباکو را نداشتند. شرایط شرکت در مطالعه، مشکلات احتمالی و تعداد دفعات خون‌گیری به طور کامل و واضح برای آزمودنی‌ها توضیح داده شد و از آنها برای شرکت رضایت‌نامه آگاهانه گرفته شد. پس از کسب رضایت‌نامه و هم‌چنین تاییدیه معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی تهران، متغیرهای آنتروپومتریکی (جدول ۱) اندازه‌گیری شد. قد و وزن آزمودنی‌ها با استفاده از ترازوی پزشکی مجهز به قد سنج (seca mod: ۲۲۰ ساخت کشور آلمان)، شاخص توده بدن (Body mass Index-BMI) نیز 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(Skin Fold Caliper Basline) ساخت کشور آمریکا اندازه‌گیری و محاسبه گردید. حداکثر اکسیژن مصرفی نیز با استفاده از پروتکل بروس تعیین شد. نمونه‌های خونی پس از ۱۴ - ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه در مرحله پایه به حجم ۸ سی‌سی خون سیاهرگی، از ورید پیش‌بازویی دست غیر برتر، 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 این پژوهش صبحانه حاوی تقریباً ۳۱۵ کیلوکالری (کربوهیدرات ۵۰ درصد، پروتئین ۲۰ درصد، چربی ۳۰ درصد) حدود ۴۵ گرم نان، ۱۵ گرم کره و یک لیوان آب جوش بود(۱۷) که 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 پیشینه پژوهش، دوز مصرفی مرتبط با سلامت انتخاب شد(۱۸)، پس از گذشت ۱ ساعت، نمونه خونی پیش‌آزمون به حجم ۸ میلی‌لیتر از تمامی آزمودنی‌ها گرفته و سپس گروه‌های کنترل و مکمل بدون

هیچ‌گونه فعالیتی در محل پژوهش حضور و گروه مکمل- فعالیت ورزشی و فعالیت ورزشی در ابتدا به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵ کیلومتر در ساعت مرحله گرم کردن را روی نوار گردان انجام دادند، سپس سرعت نوارگردان تا زمانی که ضربان قلب آزمودنی‌ها به ۸۰ درصد ضربان قلب بیشینه برسد به صورت تدریجی افزایش یافت و هر آزمودنی ۳ مرحله دویدن ۲۰ دقیقه‌ای با وهله‌های استراحتی ۵ دقیقه‌ای پیاده روی را به اتمام رساند، دلیل انتخاب پروتکل تمرینی حاضر این بود که محقق 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 درصد ضربان قلب بیشینه را نداشتند لذا پروتکل تمرین به ۳ مرحله ۲۰ دقیقه‌ای فعالیت و وهله‌های استراحتی ۵ دقیقه‌ای پیاده روی تعدیل شد. نمونه خونی پس آزمون به حجم ۸ میلی‌لیتر بلافاصله پس از آزمون از تمامی آزمودنی‌ها در هر ۴ گروه گرفته شد، و پس از ۹۰ دقیقه استراحت غیرفعال آخرین مرحله نمونه‌گیری از آزمودنی‌ها به به عمل آمد.

جدول ۱. مشخصات آزمودنی‌ها

متغیر گروه :	کنترل	مکمل	مکمل فعالیت- ورزشی	فعالیت- ورزشی
تعداد	۷	۷	۷	۷
سن (سال)	۲۰/۴±۱/۹	۱۹±۰/۸	۱۹/۶±۱/۱	۱۸/۴±۰/۷
قد (cm)	۱۷۷±۲/۹	۱۷۵±۴/۳	۱۷۷±۲/۶	۱۷۶± ۲/۹
وزن (kg)	۷۲/۷±۳	۶۹±۶/۷	۶۹±۴/۹	۶۶±۱/۳
چربی ٪	۱۲/۹±۱/۱	۱۱/۳±۱/۱	۱۲/۷±۱/۴	۱۱/۳±۱/۲
BMI(kg/m^2)	۲۳/۱±۱/۲	۲۲/۲±۲/۳	۲۱/۵±۱/۲	۲۱/۲±۱/۳
VO_2max (ml/min.kg)	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

متغیرهای آزمایشگاهی این تحقیق HSP_{70} و کورتیزول سرم بود. از هر آزمودنی در چهار مرحله پایه، پیش آزمون، پس آزمون و ۹۰ دقیقه پس از آزمون حدود ۸ میلی‌لیتر خون گیری به عمل آمد. ۶ میلی‌لیتر به صورت لخته، جهت تهیه سرم (لخته حدود ۲۰ دقیقه در دمای محیط مانده و ۱۰ دقیقه با دور rpm ۲۵۰۰ سانتریفیوژ شد) و ۲ میلی‌لیتر جهت تهیه پلاسما درون لوله محتوی EDTA ریخته و چند دقیقه آرام مخلوط شد، سپس پلاسما در دور ۳۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم در چند میکروتیوب و پلاسما در یک میکروتیوب ۱ میلی‌لیتری برای انجام آزمایشات بعدی آماده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. اندازه‌گیری Hsp_{70} سرم به روش الایزا (کیت سنجش HSP70 high sensitivity EIA kit ADI-EKS-715 - آمریکا) و براساس پروتکل کیت انجام گرفت. کورتیزول سرم نیز از روش RIA و با کیت Immunotech (ساخت کشور فرانسه) و بر حسب نانو گرم در میلی‌لیتر سنجیده شد.

به منظور تجزیه و تحلیل آماری، توزیع طبیعی داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به ترتیب با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و آزمون مخلی مورد تایید قرار گرفت، سپس از آزمون‌های پارامتریک استفاده شد. به جهت مطالعه معنی‌داری درون گروهی در گروه‌ها و مراحل مختلف تحقیق از آزمون تحلیل واریانس در اندازه‌گیری مکرر چند متغیره با آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته و کلیه داده‌ها با استفاده از SPSS نسخه ۱۸ تحلیل شد.

یافته‌ها

اطلاعات مربوط به مقادیر HSP_{72} و کورتیزول به صورت میانگین±انحراف استاندارد در جداول ۲ و ۳ ارائه شده است. هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در مقادیر سطوح HSP_{72} و کورتیزول پایه بین سه گروه پژوهش وجود نداشت که این امر حاکی از همسان بودن گروه‌ها قبل از اجرای پژوهش می‌باشد.

جدول۲. میانگین و انحراف معیار مقادیر HSP_{72} (نانوگرم در میلی لیتر) چهار گروه در مراحل سه گانه پژوهش

مراحل گروه	پایه	پس آزمون	۹۰دقیقه پس از آزمون
کنترل	۰/۱۶۸۰±۰/۰۶۶۵۴	۰/۲۷۵۱±۰/۱۶۰۸۷	۰/۳۱۰۰±۰/۱۱۶۰۵
ǂǂ مکمل	۰/۲۵۰۰±۰/۱۱۱۷۹۰	*۰/۵۸۲۹±۰/۱۹۱۹۰	۰/۲۸۸۳±۰/۲۱۴۴۵
ǂǂ مکمل- فعالیت ورزشی	۰/۲۶۷۰±۰/۲۶۴۸۵	*۰/۶۹۰۰±۰/۳۹۸۵۰	*۱/۳۴۷۵±۰/۳۳۳۰۷
فعالیت‌ورزشی	۰/۳۱۲۶±۰/۳۰۳۴۷	۰/۵۲۵۷±۰/۲۳۸۰۴	۰/۷۰۸۶±۰/۱۷۶۴۹

* مقادیر HSP_{72} در مراحل چهارگانه پژوهش در سطح $p\leq ۰/۰۵$ معنی‌دار است. ǂǂ مقادیر HSP_{72} در گروه‌های مختلف در سطح $p\leq ۰/۰۵$ معنی‌دار است.
اطلاعات به صورت میانگین ± انحراف استاندارد ارائه شده است.

جدول۳. میانگین و انحراف معیار مقادیر کورتیزول (نانوگرم در میلی لیتر) چهار گروه در مراحل سه گانه پژوهش

مراحل:گروه	پایه	پس آزمون	۹۰دقیقه پس از آزمون
کنترل	۱۴/۴۲±۴/۲۷	۹/۳۸±۵/۴۸	۱۲/۰۴±۲/۵۹
مکمل	۱۵/۰۷±۶/۲۱	*۱۰/۶۸±۲/۹۲	*۹/۴۲±۲/۰۵
مکمل- فعالیت ورزشی	۱۶/۲۸±۲/۵۴	۱۶/۲۵±۷/۸	۱۳/۸۵±۶/۶۶
فعالیت-ورزشی	۱۴/۳۶±۶/۴۴	۱۴/۳۲±۵/۹	۱۵/۷۸±۴/۴۴

* مقادیر کورتیزول در مراحل چهارگانه پژوهش در سطح $p\leq ۰/۰۵$ معنی‌دار است.
اطلاعات به صورت میانگین ± انحراف استاندارد ارائه شده است.

نتایج آزمون تحلیل واریانس در اندازه‌گیری مکرر چند متغیره، ویژه HSP_{72} حاکی از افزایش معنی‌دار مقادیر HSP_{72} به میزان ۲۱ درصد ($p=۰/۰۱۹$) در مرحله پس آزمون در گروه مکمل و ۱۶ درصد ($p=۰/۰۹$) در مرحله پس آزمون در گروه مکمل- فعالیت ورزشی نسبت به مرحله پایه و هم‌چنین ۴۱ درصد ($p=۰/۰۳۲$) در مرحله ۹۰ دقیقه پس از آزمون در گروه مکمل- فعالیت ورزشی نسبت به مرحله پایه بود. در گروه فعالیت ورزشی مقادیر HSP_{72} در مراحل مختلف پژوهش هیچ‌گونه افزایش معنی‌داری از خود نشان نداد. تحلیل نتایج نشان داد که مقادیر HSP_{72} بین مرحله پس آزمون در گروه مکمل نسبت به مرحله پس آزمون در گروه کنترل، ۱۵ درصد ($p=۰/۰۶$) افزایش داشت. هم‌چنین مقادیر HSP_{72} بین مرحله پس آزمون در گروه مکمل- فعالیت ورزشی نسبت به مرحله پس آزمون در گروه کنترل ۲۰ درصد ($p=۰/۰۸$) افزایش داشت و مقادیر HSP_{72} بین مرحله ۹۰ دقیقه پس از آزمون در گروه مکمل- فعالیت ورزشی نسبت به مرحله ۹۰ دقیقه پس از آزمون در گروه کنترل، ۴۰ درصد ($p\leq ۰/۰۳۰$) افزایش داشت. در گروه فعالیت ورزشی مقادیر این شاخص در تمام مراحل مختلف پژوهش افزایش داشت ولی این افزایش تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد. نتایج آزمون تحلیل واریانس در اندازه‌گیری مکرر چند متغیره ویژه کورتیزول حاکی از تفاوت معنی‌دار در گروه مکمل پژوهش می‌باشد. در مراحل مختلف پژوهش بین مراحل پس آزمون ۲۹ درصد ($p\leq ۰/۰۳۲$) و ۹۰ دقیقه پس از آزمون ۴۸ درصد ($p\leq ۰/۰۲۶$) نسبت به مرحله پایه تفاوت معنی‌دار مشاهده شد.

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مصرف مکمل اسید آمینه‌ای گلوتامین به مقدار ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و حجم ۵ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در نمونه‌های انسانی توانست به واسطه افزایش

پاسخ HSP_{72} با استرس ناشی از فعالیت ورزشی به مقابله بپردازد. مقادیر HSP_{72} به میزان ۲۱ درصد ($p=۰/۰۱۹$) در مرحله پس آزمون در گروه مکمل و ۱۶ درصد ($p=۰/۰۹$) در مرحله پس آزمون در گروه مکمل- فعالیت ورزشی نسبت به مرحله پایه و هم چنین ۴۱ درصد ($p=۰/۰۳۲$) در مرحله ۹۰ دقیقه پس از آزمون در گروه مکمل- فعالیت ورزشی نسبت به مرحله پایه افزایش داشت. در گروه فعالیت ورزشی مقادیر HSP_{72} در مراحل مختلف پژوهش هیچ‌گونه افزایش معنی‌داری از خود نشان نداد. تحلیل نتایج نشان داد که مقادیر HSP_{72} بین مرحله پس آزمون در گروه مکمل نسبت به مرحله پس آزمون در گروه کنترل، ۱۵ درصد ($p=۰/۰۶$) افزایش داشت. هم‌چنین مقادیر HSP_{72} بین مرحله پس آزمون در گروه مکمل- فعالیت ورزشی نسبت به مرحله پس آزمون در گروه کنترل ۲۰ درصد ($p=۰/۰۸$) افزایش داشت و مقادیر HSP_{72} بین مرحله ۹۰ دقیقه پس از آزمون در گروه مکمل- فعالیت ورزشی نسبت به مرحله ۹۰ دقیقه پس از آزمون در گروه کنترل، ۴۰ درصد ($p\leq۰/۰۳۰$) افزایش داشت. در گروه فعالیت ورزشی مقادیر این شاخص در تمام مراحل مختلف پژوهش افزایش داشت ولی این افزایش تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد. در ارتباط با هورمون کورتیزول نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مصرف مکمل اسید آمینه‌ای گلوتامین به مقدار ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و حجم ۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به تنهایی در نمونه‌های انسانی توانست تاثیر معنی‌داری بر مقادیر این هورمون داشته باشد. تحلیل برآمده از داده‌های پژوهش نشان داد که مصرف مکمل گلوتامین توانست سطوح کورتیزول را در گروه مکمل در مراحل پس آزمون ۲۹ درصد ($p\leq۰/۰۳۲$) و ۹۰ دقیقه پس از آزمون ۴۸ درصد ($p\leq۰/۰۲۶$) نسبت به مرحله پایه کاهش دهد.

انواع گوناگونی از استرس‌ها می‌توانند منجر به بر هم زدن همئوستاز در سطح سلول، بافت، اندام و یا کل ساختار فیزیولوژیکی شوند که وسعت این بر هم خوردن همئوستاز به عواملی از قبیل: شدت و مدت استرس وابسته می‌باشد. انواع گوناگونی از استرس‌های فیزیولوژیکی حالاتی از بیماری را ایجاد می‌کنند که منجر به آسیب و از هم گسیختگی ساختارهای پروتئینی می‌شود(۱). افزایش میزان پروتئین‌های استرسی پس از استرس‌های فیزیولوژیکی مختلف به منظور بازیابی همئوستاز سلولی، ترمیم آسیب سلولی و هم‌چنین حفاظت از سلول جهت جلوگیری از آسیب‌های بیشتر صورت می‌گیرد(۲). عضلات اسکلتی به گروه‌های مختلفی از استرس‌ها از قبیل : انقباض عضلانی مرتبط با انرژی، استرس‌های محیطی، ایسکمی و فعالیت ورزشی، به وسیله تولید HSP_{72} پاسخ می‌دهند. هم‌چنین عوامل متعددی دیگری که پاسخ این پروتئین‌ها را تحریک می‌کند شامل: درجه حرارت زیاد، استرس مکانیکی، گونه‌های اکسیژن واکنشی، تخریب و تجزیه پروتئین‌ها، تغییر در مقادیر ATP، عوامل بیماری‌زا نظیر عفونت‌های میکروبی و ویروسی، تب و التهاب و ایسکمی می‌باشند(۳). مقادیر قابل شناسایی HSP_{72} در سیستم گردش خون به عنوان یک مولکول علامت دهنده بین سلولی عمل می‌کند و می‌تواند طیف وسیعی از واکنش‌های تنظیم کننده سیستم ایمنی را از طریق تعامل با گیرنده‌های سطح سلولی برای تعدیل نمودن فرآیندهای پیش التهابی میانجی‌گری کند(۱-۵). رهایش این پروتئین‌ها از عضلات اسکلتی، قلبی، سلول‌های خونی نظیر لکوسیت‌ها و مونوسیت‌ها، بافت‌های کبدی و طحالی، روده، غدد لنفاوی و نیز سلول‌های اختصاصی در مغز در پاسخ به بسیاری از استرس‌ها گزارش شده است(۶، ۷). نتایج تحقیقات اخیر حاکی از آن است که HSP_{72} در محافظت از سلول در برابر استرس سلولی، ایسکمی، هایپوکسی، آتروفی، آسیب سلولی، آپوپتوزیس، هایپرترمیا، هیپوترمیا، 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(۳-۸). بنابراین افزایش پاسخ HSP_{72} می‌تواند بر توانایی تحمل استرس ورزشی از سوی ورزشکاران اثر مثبتی داشته باشد. به علاوه مطالعات اخیر نشان می‌دهند که افزایش پاسخ HSP_{72} می‌تواند به واسطه گلوتامین تحریک شود(۱۱-۱۴).

هر چند این مطالعات همگی در آزمایشگاه و در محیط کشت سلولی بوده است اما، این میزان افزایش در پاسخ HSP_{72} توانست از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو و هم‌چنین نوسانات دما محافظت و حیات آنها افزایش دهد. به عنوان یک اصل کلی گلوتامین اسیدآمینه‌ای غیر ضروری محسوب می‌شود، با این حال در بسیاری از شرایط حاد از قبیل آسیب، جراحی و بیماری کاملاً لازم و ضروری می‌باشد(۱۱، ۱۲). در شرایط طبیعی این اسیدآمینه فراوان‌ترین اسیدآمینه موجود در پلاسما، عضله اسکلتی، گردش‌خون و سایر بافت‌ها می‌باشد که مقادیر آن در شرایط آسیب، جراحی و عفونت به سرعت کاهش می‌یابد(۱۳، ۱۴). گلوتامین یک نقش کلیدی در محافظت از سلول پس از جراحت بر عهده دارد که این امر همراه با افزایش HSP_{72} می‌باشد. مکانیسمی که به واسطه آن گلوتامین موجب افزایش بیان HSP می‌شود هنوز به روشنی مشخص نیست، اما به نظر می‌رسد این امر به احتمال خیلی زیاد به متابولیسم گلوتامین وابسته باشد(۱۴). توضیحات احتمالی برای این تاثیر تحریکی گلوتامین بر پاسخ HSP_{72} شامل: ۱- گلوتامین منجر به افزایش فعالیت ناحیه پروموتور ژن HSP_{72} می‌شود که این امر به وسیله افزایش در تولید mRNA HSP_{72} مشخص شده است، ۲- گلوتامین باعث افزایش ثبات mRNA HSP_{72} می‌شود که این منجر به افزایش میزان ترجمه ژن HSP_{72} می‌شود و ۳- اثرات آنتی کاتابولیک گلوتامین سبب کاهش در نوسازی پروتئین‌های استرسی می‌شود(۱۴). بنابرای چنین به نظر می‌رسد که در این پژوهش گلوتامین از طریق مسیرهای پیشنهادی اشاره شده منجر به افزایش مقادیر HSP_{72} گردیده است.

در ارتباط با بررسی تغییرات مقادیر هورمون کورتیزول در این پژوهش باید به این نکته اشاره داشت که کورتیزول هورمونی استروئیدی است که در شرایط استرس از بخش قشری غده فوق کلیوی ترشح می‌شود و بیانگر افزایش حالات کاتابولیکی و استرسی می‌باشد. فعالیت ورزشی بلند مدت موجب بالا رفتن غلظت کورتیزول پلاسما می‌شود، افزایش کورتیزول نه تنها کاتابولیسم پروتئین، بلکه گلوکونئوژنز در کبد، مجرای معدی روده‌ای و کلیه را نیز افزایش می‌دهد(۹). سطح کورتیزول پلاسما پس از فعالیت ورزشی، ارتباط مستقیمی با شدت فعالیت ورزشی و سازگاری‌های فردی با استرس ورزشی دارد(۹). حساسیت بافت‌های مختلف به گلوکوکورتیکوئیدها می‌تواند متفاوت باشد و در زمان استرس حاد تغییر نماید و در پاسخ این هورمون تفاوت‌های فردی عمده‌ای وجو دارد که می‌تواند الگوی واکنش این هورمون را که از سن و وضعیت هورمون‌های جنسی فرد تاثیر می‌پذیرد تحت تاثیر قرار دهد(۱۶). از سوی دیگر گلوتامین در سنتز پروتئین نقشی برجسته و یک مهار کننده قوی نسبت به آنزیم‌های پروتئولیز به شمار می‌رود، هم‌چنین اثر گلوتامین به عنوان یک ماده آنتی کاتابولیک موجب تعدیل مقادیر بالای کورتیزول می‌شود(۱۶). علاوه بر موارد ذکر شده سایر نقش‌های گلوتامین مانند 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 اسیدهای آمینه شاخه‌دار، راه اندازی مسیرهای ترانس آمیناسیون و دآمیناسیون می‌تواند محرک‌های گوناگونی را جهت افزایش پاسخ HSP_{72} و کاهش کورتیزول در نمونه‌های انسانی ورزشکار ارائه دهد(۱۶).

نتیجه‌گیری

هم راستا با نتایج دیگر پژوهش‌ها در نمونه‌های انسانی گلوتامین توانست محرک پاسخ HSP_{72} در گروه‌های مکمل و مکمل- فعالیت ورزشی باشد، و ترکیب مکمل- فعالیت ورزشی منجر به پاسخ بزرگ‌تری از HSP_{72} شد که این امر نقش تحریکی گلوتامین و فعالیت ورزشی را در تحریک پاسخ HSP_{72} پیشنهاد می‌کند. لذا به ورزشکارانی که قصد شرکت در مسابقات و یا تمرینات شدید را دارند مصرف گلوتامین توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد است. بدین وسیله از اساتید راهنما، مشاور و داور این اثر و تمامی عزیزانی که یاریمان کردند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

منابع

1. Wu T, Tanguay RM. Antibodies against heat shock proteins in environmental stresses and diseases: friend or foe? Cell stress & chaperones. 2006;11(1):1-12.
2. Kodiha M, Chu A, Lazrak O, Stochaj U. Stress inhibits nucleocytoplasmic shuttling of heat shock protein hsc70. American Journal of Physiology-Cell Physiology. 2005;289(4):C1034-C41.
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. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2009;296(5):R1557-R63.
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. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2008;294(2):R568-R76.
5. Peake JM, Suzuki K, Hordern M, Wilson G, Nosaka K, Coombes JS. Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. European journal of applied physiology. 2005;95(5-6):514-21.
6. Fehrenbach E, Niess A, Voelker K, Northoff H, Mooren F. Exercise intensity and duration affect blood soluble HSP72. International journal of sports medicine. 2005;26(07):552-7.
7. Paulsen G, Lauritzen F, Bayer ML, Kalhovde JM, Ugelstad I, Owe SG, et al. Subcellular movement and expression of HSP27, αB-crystallin, and HSP70 after two bouts of eccentric exercise in humans. Journal of Applied Physiology. 2009;107(2):570-82.
8. Nething K, Wang L, Liu Y, Lormes W, Steinacker JM. Blunted HSP70 Response to Acute Exercise in Well-Trained Skeletal Muscle. Medicine & Science in Sports & Exercise. 2004;36(5):S318-9.
9. Dabidi-Roshan V, Rahnama N, Hamzehkolaei HA, Mohammadi ZF. Heat shock protein responses to eccentric weight or treadmill exercise in active young females. Sport Sciences for Health. 2009;5(2):75-80.
10. 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. The Journal of physiology. 2002;538(3):911-7.
11. Nissim I, States B, Hardy M, Pleasure J, Nissim I. Effect of glutamine on heat-shock-induced mRNA and stress proteins. Journal of cellular physiology. 1993;157(2):313-8.
12. Ehrenfried JA, Chen J, Li J, Mark Evers B. Glutamine-mediated regulation of heat shock protein expression in intestinal cells. Surgery. 1995;118(2):352-7.
13. Chow A, Zhang R. Glutamine reduces heat shock-induced cell death on rat intestinal epithelial cells. J Nutr. 1998; 128:1296-9.
14. 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. Journal of Applied Physiology. 2001;90(6):2403-10.
15. Whitham M, Walker GJ, Bishop NC. Effect of caffeine supplementation on the extracellular heat shock protein 72 response to exercise. Journal of Applied Physiology. 2006;101(4):1222-7.
16. Basu N, Nakano T, Grau E, Iwama G. The effects of cortisol on heat shock protein 70 levels in two fish species. General and comparative endocrinology. 2001;124(1):97-105.
17. Carvajal-Sancho A, Moncada-Jiménez J. The acute effect of an energy drink on physical and cognitive performance of male athletes. Kinesiologia Slovenica. 2005;11(2):5-16.
18. Gleeson M. Dosing and efficacy of glutamine supplementation in human exercise and sport training. The Journal of nutrition. 2008;138(10):2045S-9S.