Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services
Vol. 38, No. 5, Dec. – Jan. 2016, Pages: 42-49

Original Article

The Changes of Some Antioxidant Enzymes Activity after Six-Week of Glycogen Depletion Training with Glucose and Glutamine Supplementation in Healthy Nonactive Males

Ali Ghasemi kahrizsangi[1*], Amin Raji[2]

[1] Department of Sport Sciences, Qom University, Qom, Iran
[2]Department of Sport Sciences, Kermanshah University of Payam Nour, Kermanshah, Iran

Received: 21 Jun, 2014 **Accepted: 31 Aug, 2014**

Abstract

Background & Objectives: The aim of the present study was to investigate the effect of glucose and glutamine supplementation on two erythrocyte antioxidants enzymes, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity in nonactive men during six-week glycogen depletion training.

Materials and Methods: For this purpose, 24 non-athlete healthy men were selected and randomly divided into four groups including: glucose supplementation with glycogen depletion training group (n=6), glutamine supplementation with glycogen depletion training group (n=6), placebo with glycogen depletion training group (n=6) and a control group (n=6) without any treatment. The blood samples were collected from anticubital venous at the onset of training protocol period and 48 hours after final training session. For determining significant between groups One-way ANOVA, compeleted with Tukey post-hoc test. The significant level was chosen as $\propto \leq 0/05$.

Results: The results showed there was significant increases in glutathione peroxidase enzyme activity of erythrocyte ($p<0.05$). Post-hoc test showed the significant difference between glucose- traine with placebo-traine and control groups ($p<0.001$), glutamine-traine with placebo-traine and control groups ($p<0.01$) and placebo-traine group with control group ($p<0.001$). Also, there was significant increases in glutathione reductase enzyme activity of erythrocyte ($p<0.001$). Post-hoc test showed the significant difference between , glutamine-traine with placebo-traine group ($p<0.05$) and glutamine-traine with control group ($p<0.001$) and glucose- traine with control group ($p<0.001$).

Conclusion: In summary, the results suggested that glucose and glutamine supplementation cause adaptation erythrocyte glutathione peroxidase and glutathione reductase enzymes activity in glycogen depletion training condition. Therefore, ingestion glucose or glutamine supplementation cause decrease harmful effects free radicals and increase in anti-oxidatives enzymes, during longterm activities.

Keywords: Glucose, Glutamine, Glycogen depletion training, Glutathione peroxidase, Glutathione reductase, Nonactive males.

***Corresponding author:**
E-mail: a.gh2535@yahoo.com

Citation: Ghasemi kahrizsangi A, Raji A. The Changes of Some Antioxidant Enzymes Activity after Six-Week of Glycogen Depletion Training with Glucose and Glutamine Supplementation in Healthy Nonactive Males. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2016;38(5):42-49.

مقاله پژوهشی

اثر شش هفته تمرین تخلیه گلیکوژنی بهمراه مصرف گلوکز و گلوتامین بر برخی آنزیم های آنتی اکسیدانی در مردان سالم غیر فعال

علی قاسمی کهریزسنگی[۱*]، امین راجی[۲]

[۱]گروه علوم ورزشی دانشگاه قم، قم، ایران
[۲]دانشگاه پیام نور کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

دریافت: ۹۳/۳/۳۱ پذیرش: ۹۳/۶/۹

چکیده

زمینه و اهداف: هدف از تحقیق حاضر بررسی تغییرات دو آنزیم آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز گلبول های قرمز پس از شش هفته تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی بهمراه مصرف گلوکز و گلوتامین در مردان سالم غیرفعال بود.

مواد و روش ها: بدین منظور تعداد ۲۴ نفر مرد سالم که فعالیت‌بدنی منظم نداشتند انتخاب و به‌طور تصادفی در چهار گروه (۶ نفره) مورد مطالعه قرار گرفتند؛ گروه اول مصرف گلوکز به همراه تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی، گروه دوم مصرف گلوتامین به همراه تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی، گروه سوم تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی توأم با مصرف دارونما و گروه چهارم بدون هر گونه دستکاری یا گروه کنترل. نمونه‌های خونی در ابتدای شروع دورهٔ پروتکل تمرینی (پیش آزمون) و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی (پس آزمون) از سیاهرگ زند اعلی جمع آوری شدند. جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت بین گروه‌های تحقیق از آزمون آماری تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. سطح معنی داری $\alpha \leq ۰/۰۵$ انتخاب شد.

یافته ها: یافته‌های تحقیق، تفاوت معنی‌داری برای فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز را بین گروههای مختلف نشان داد ($P<۰/۰۵$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد. تفاوت معنی داری بین گروه گلوکز- تمرین با گروههای دارونما- تمرین و گروه کنترل ($P<۰/۰۰۱$)، و نیز بین گروه گلوتامین- تمرین با گروههای دارونما- تمرین و گروه کنترل و همچنین گروه دارونما- تمرین با گروه کنترل وجود داشت ($P<۰/۰۱$). همچنین تفاوت معنی داری برای فعالیت آنزیمی گلوتاتیون ردوکتاز گلبول های قرمز بین گروههای تحقیق نشان داده شد ($P<۰/۰۰۱$). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی، تفاوت معنی داری بین گروه گلوتامین- تمرین و گروه دارونما- تمرین($P<۰/۰۵$)، گروه گلوتامین- تمرین و گروه کنترل ($P<۰/۰۰۱$) و بین گروه گلوکز- تمرین و گروه کنترل وجود داشت ($P<۰/۰۰۱$).

نتیجه گیری: در مجموع نتایج تحقیق حاکی از سازگاری فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز گلبول قرمز در تمرین تخلیه گلیکوژنی به همراه مصرف مکمل گلوکز و گلوتامین می باشد. بنابراین مصرف گلوکز یا گلوتامین احتمالا باعث کاهش اثرات مضر رادیکالهای آزاد و افزایش آنزیمهای آنتی اکسیدانی حین فعالیتهای بلند مدت می شود.

کلید واژه ها: گلوکز، گلوتامین، تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، مردان غیرفعال

[*]**ایمیل نویسنده رابط:** a.gh2535@yahoo.com

مقدمه

یکی از مسائل مهم در پاسخ و سازگاری به فعالیت‌های ورزشی دفع مواد زائد یا خنثی کردن اثر آنها می باشد. تجمع مواد زائد متابولیکی باعث تخریب و آسیب سلولی- به‌ویژه در سلولهای عضلانی- می‌شود و ممکن است به عملکرد ورزشی ورزشکار لطمه زده، باعث افت اجرای ورزشی او شود (۱). آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی می‌توانند به‌عنوان اقدامی پیشگیرانه برای حمایت از سلول‌هایی که در معرض گونه‌های آزاد اکسیژنی قرار گرفته‌اند، عمل‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها از بسیاری از تخریب‌های سلولی همانند تخریب غشاء سلول‌ها، تخریب لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA جلوگیری می‌کنند (۱، ۲، ۳). این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی که درون

سیتوزول سلولی یا ماتریکس میتوکندری ساخته می‌شوند عبارتند از: گلوتاتیون پراکسیداز (Glutathione Peroxidase, GPx)، سوپراکسید دیسموتاز (Super Oxide Dismutase)، گلوتاتیون ردوکتاز (Glutathione Reductase, GR)، کاتالاز (Catalaze) و چندین آنزیم دیگر. البته این آنزیم‌ها به صورت دارویی- غیرآنزیمی- نیز در برخی از ورزشکاران مصرف شده و به اثرات مفید آنها در برخی تحقیقات اشاره شده است (۲، ۳، ۴). با افزایش زمان تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی، مسیر هوازی غالب‌تر و در نتیجه به نظر می‌رسد تولید گونه‌های آزاد اکسیژنی دچار تغییر شود و بدنبال آن میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی رها شده در خون دچار تغییر گردد (۳). در تحقیقات قبلی نشان داده شده که تمرین هوازی طولانی‌مدت باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت‌های عضلانی حیوانات مورد آزمایش می‌شود (۵، ۶، ۷). همچنین کاهش در دسترس بودن ذخایر کربوهیدراتی می‌تواند باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو در عضلات شود (۸). در بررسی‌های محقق مطالعه‌ای دال بر استفاده از گلوکز وگلوتامین حین تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی چه به‌صورت میدانی یا آزمایشگاهی یافت نشد. در مطالعات مختلف که همراه با مصرف گلوکز یا گلوتامین با تمرینات مختلف ورزشی بر برخی از عملکردها و شاخص‌های فیزیولوژیکی روی انسان صورت گرفته اثرات مصرف آنها بر عملکرد ورزشی نشان داده شده است (۸، ۹) اما مطالعه‌ای که بطور مشخص تاثیر گلوکز یا گلوتامین را روی آنزیم-های آنتی اکسیدانی مورد بررسی قرار دهد، یافت نشد. اگر چه روشن است که تمرین باعث افزایش آنتی‌اکسیدانها جهت دفاع از اثرات سوء رادیکال‌های آزاد می‌شود (۶، ۹، ۱۰)، اما آیا گلوکز و گلوتامین می‌تواند باعث تغییر در این نوع دفاع شود و این تغییرات احتمالی طی شش هفته تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی به چه صورتی در گروه‌های تجربی بروز خواهد کرد؟ در این راستا از الگوهای تمرینی متفاوتی که باعث تخلیه گلیکوژنی عضلات می‌شوند می-توان بهره برد که طی بررسی‌های بعمل آمده در اکثر تحقیقات بر روی دوچرخه کارسنج اجرا شده و با اندازه‌گیری محتوای گلیکوژنی عضلات از طریق نمونه‌برداری بافتی از عضلات اندام‌های تحتانی استاندارد شده است (۱۱، ۱۲، ۱۳). در این تحقیقات در انتهای تمرین، میزان گلوکز خون اندازه‌گیری و به‌عنوان شاخصی برای وقوع تخلیه گلیکوژنی معرفی شده است. در مطالعه حاضر نیز از یک الگوی تمرینی از نوع تناوبی تحت عنوان آزمون RHIET (Repeated High-Intensity Endurance Test) که در روش‌شناسی تحقیق به آن اشاره خواهد شد، استفاده گردید (۱۴). تحقیق روی پروتکل تمرینی که به‌صورت میدانی تمامی اندامهای فوقانی و تحتانی را همزمان درگیر سازد و بر اساس شاخص‌های معتبری موجودی گلیکوژنی را تحت تأثیر قرار دهد یافت نشد. بنابراین ضرورت اجرای یک پروتکل تمرینی میدانی که قادر باشد همزمان محتوای گلیکوژنی بیشتر عضلات فعال را تحت تأثیر قرار دهد احساس می‌شود و محقق بر آن شد تا برای اطمینان از کاهش در دسترس بودن گلیکوژن یا حصول تخلیه گلیکوژنی با اندازه گیری شاخصهای خونی چنین پروتکل تمرینی را طراحی و جایگزین پروتکل‌های آزمایشگاهی که بر روی دوچرخه کارسنج انجام می‌شوند، نماید و اثر شش هفته تمرین تخلیه گلیکوژنی به همراه مصرف مکمل گلوکز و گلوتامین بر برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در مردان سالم غیرفعال را بررسی نماید.

مواد و روش ها

تحقیق حاضر از نوع تحقیقات کاربردی است. در این تحقیق از روش تحقیق نیمه‌تجربی با استفاده از گروه دارونما(Semi Experimental Placebo Design) سود می‌بریم. تعداد ۲۴ نفر آزمودنی مرد سالم از بین دانشجویان دانشگاه قم که واحد تربیت بدنی عمومی "۱" را اخذ کرده بودند، بطور داوطلبانه انتخاب شده و سپس به روش تصادفی ساده به چهار گروه شامل گروه اول مصرف مکمل گلوکز همراه با تمرین، گروه دوم مصرف مکمل گلوتامین همراه با تمرین، گروه سوم مصرف دارونما(placebo) همراه با تمرین و گروه چهارم گروه کنترل بدون تمرین و بدون مصرف مکمل تقسیم شدند. به آزمودنی‌ها توصیه شد که طی مدت تحقیق از مصرف دارو یا مواد مغذی خاص خودداری نمایند. سپس برخی از ویژگی‌های آنتروپومتریکی آزمودنی‌ها اندازه‌گیری گردید. آزمودنیها از نظر سابقهٔ پزشکی و آمادگی جهت شرکت در فعالیت‌بدنی و وضعیت تغذیه‌ای توسط پرسشنامه‌های سابقهٔ پزشکی و پرسشنامهٔ r-Par-Q و پرسشنامهٔ تغذیه‌ای جداگانه کنترل و بررسی شدند (۱۵). بعد از گروهبندی آزمودنیها بصورت تصادفی از آزمودنیها نمونه خونی گرفته شده و با یک آزمون تحلیل واریانس یک راهه از عدم تفاوت معنی دار متغیرهای وابسته تحقیق، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون بین چهار گروه تحقیق اطمینان حاصل کردیم. سپس به گروه تجربی اول نوشیدنی ورزشی حاوی ۱۸٪ گلوکز به مقدار و حجم ۵ml/kgbw، ۲/۵ ساعت قبل از اجرای پروتکل ورزشی و حاوی ۶٪ گلوکز به مقدار و حجم ۲ml/kgbw حین اجرای پروتکل ورزشی تخلیه گلیکوژن داده شد (۱۶). گروه تجربی دوم نیز نوشیدنی ورزشی حاوی ۲۸g اسید آمینه گلوتامین به مقدار و حجم ۰/۴g/kgbw و ۵ml/kgbw، ۲/۵ ساعت قبل از اجرای پروتکل ورزشی و به مقدار و حجم ۰/۴g/kgbw و ۲ml/kgbw حین اجرای پروتکل ورزشی تخلیه گلیکوژن دریافت کردند (۱۶، ۱۷). به گروه سوم نیز دارونما حاوی ۲٪ گلوکز به مقدار و حجم ۵ml/kgbw، ۲/۵ ساعت قبل از اجرای پروتکل تمرینی و حاوی نوشیدنی ۲٪ گلوکز به مقدار و حجم ۲ml/kgbw حین اجرای پروتکل تمرینی تخلیه گلیکوژن داده شد (۱۶). گروه چهارم نیز هیچ‌گونه فعالیت بدنی منظم نداشتند و مکملی نیز دریافت نکردند. میزان دریافت دوز مکمل‌ها براساس دوزهای استاندارد و ایمن تهیه شد (۱۶). گروه تجربی اول و دوم به همراه گروه دارونما هر هفته دو جلسه تمرین انجام دادند و مصرف مکمل‌ها و دارونما طی شش 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.

جهت آزمون تخلیه گلیکوژنی از آزمون RHIET به‌عنوان پروتکل تمرینی استفاده شد که الگوی اجرایی آن بدین صورت است که ۸ مخروط در ۲ ردیف ۴ تایی با فاصله ۲ متر از همدیگر قرار گرفته و در ردیف‌های ۴ تایی فاصله مخروط‌ها از یکدیگر ۵m می‌باشد. هر آزمودنی با فرمان شروع، اجرای تمرین را آغاز نموده و ۵m اول را به‌صورت رفت و برگشت انجام می‌دهد، سپس از مخروط اول تا مخروط سوم را به فاصله ۱۰m به‌طور رفت و برگشت پیموده و در نهایت دوباره تا مخروط چهارم که در فاصله ۱۵ متری قرار دارد؛ رفت و برگشت را انجام می‌دهد. هر یک‌بار تکرار این الگوی تمرینی، کل مسافت طی‌شده ۶۰m است که طی ۳۰ ثانیه انجام می‌شود. هر آزمودنی باید ۶ بار بدون استراحت در زمانهای ۳۰ ثانیه‌ای این تست را اجرا کند که در نهایت کل زمان تست 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 مانده، سپس مرحله بعدی را آغاز نماید. این الگوی تمرینی که زمان کامل یک مرحله آن ۳ دقیقه می‌باشد به دفعات متعدد انجام می‌شود (۱۴). در یک مطالعه مقدماتی که قبل از شروع پژوهش حاضر صورت گرفت زمان استراحت بین هر مرحله ۳ دقیقه‌ای، ۳۰ ثانیه و زمان کل هر جلسه تمرینی ۲/۵ 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 استراحتی بین هر تکرار، زمان کل هر جلسه تمرینی به دست آمد، سپس اندازه‌گیری گلوکز خون در ابتدا و پایان جلسه تمرینی و در فواصل زمانی مشخص حین تمرین، به‌عنوان شاخصی برای وقوع تخلیه گلیکوژنی به موارد فوق تعیین شد. در یک مطالعه به میزان ۳/۸۹mmol/l گلوکز خون پس از تخلیه گلیکوژن و در تحقیق دیگری به میزان ۳/۶۷±۰/۱۱mmol/l گلوکز خون پس از تخلیه گلیکوژن اشاره شده است (۱۱، ۱۸). این زمان تمرینی و فواصل استراحتی همان‌طورکه در بالا نیز گفته شد ۳۰ ثانیه استراحت بین هر ۳ دقیقه کار و زمان کل تمرینی در هر جلسه تمرینی، ۲/۵ ساعت می‌باشد که این شرایط تمرینی به‌عنوان تمرین مرجع برای وقوع تخلیه گلیکوژنی در نظر گرفته شده است و به‌عنوان پروتکل تمرینی تخلیه گلیکوژنی از آن استفاده می‌شود(۱۸).

برای اندازه گیری ویژگی های آنتروپومتریکی آزمودنیها در مرحله پیش آزمون از دستگاه آنالیز ترکیب بدن(Body Composition Analyzer) ساخت کشور آلمان مدل Gxz-1 برای سنجش درصد چربی و شاخص توده بدن استفاده شد. برای اندازه گیری قد و وزن نیز بترتیب از دستگاه قدسنج و ترازوی دیجیتال استفاده شد.

خونگیری و نمونهٔ خونی

در این تحقیق قبل از شروع دورهٔ تمرینی یا مرحلهٔ پیش‌آزمون و ۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسهٔ شش هفته‌ای تمرینی یا مرحلهٔ پس‌آزمون از هر آزمودنی نمونه‌های خونی از طریق بستن گارو به بازو و خونگیری از ورید زند اعلی با مشخصهٔ SST [(BD Vacutainer Systems, Plymouth.UK) vacutainer] در تیوب سه میلی لیتری حاوی ماده ضد انعقادی EDTA از هر آزمودنی جمع آوری شد. طی مرحلهٔ بعد نمونه‌های خونی در دستگاه سانتریفیوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴°C به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. پس از جدا کردن پلاسما و غشاء پوششی سلولی(Buffy Coat) از نمونه‌های خونی سیاهرگی، باقیماندهٔ نمونه که شامل گلبولها یا سلولهای خونی است را سه بار با محلول ۰/۱۵ M NaCl در هپارین با غلظت ۲۵ واحد بر میلی‌لیترشستشو دادیم. سپس جهت لیز کردن گلبولهای قرمز، نمونهٔ شستشو داده شده را در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ کرده، گلبولهای قرمز را در سه برابر حجم آب مقطر همولیز شدند و برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیمها در مراحل بعدی نمونه‌های لیزشده در دمای ۲۰°C- ذخیره شدند. در این تحقیق روش اندازه‌گیری GPx و GR روش کولورومتریک (Colorometric) بود (۱۹، ۲۰، ۲۱). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی GPx در گلبول قرمز لیز شده از کیت Randox, Co kit, UK بر پایه روش Paglia and Valentine و فرم اصلاح شده آن یعنی روش Kraus et al استفاده شد (۱۹، ۲۲). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی GR در گلبول‌های قرمز لیز شده از کیت Randox, Co kit, UK بر پایه روش Mannervik استفاده شد (۲۱).

روش تجزیه و تحلیل آماری

جهت همسان‌سازی گروه‌ها و عدم وجود تفاوت معنی داری بین گروهها در مرحلهٔ پیش‌آزمون از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌راهه استفاده شد. جهت بررسی توزیع نرمال داده ها از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف و جهت تجانس واریانس از آزمون لوین استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و بررسی معنی‌داری تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. در تمامی تجزیه و تحلیل‌های آماری سطح معنی‌داری یا آلفا کمتر از ۰/۰۵ ($\propto \leq$۰/۰۵) در نظر گرفته شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار کامپیوتری SPSS 16 و ترسیم نمودارها بوسیلهٔ نرم‌افزار Excel 2007 انجام شد.

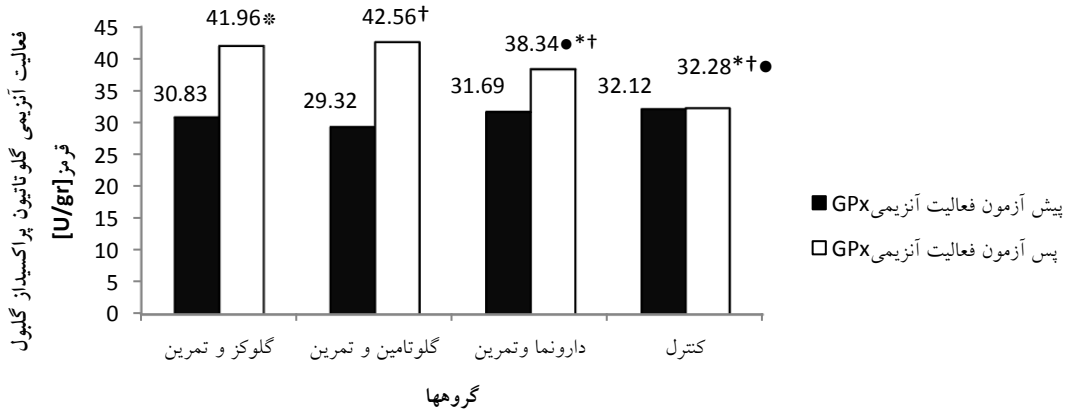
یافته ها

خلاصه ای از ویژگی های آنتروپومتریکی آزمودنیهای تحقیق به تفکیک گروهها در جدول شماره ۱ آورده شده است. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می شود، نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از عدم تفاوت معنی دار بین چهار گروه تحقیق برای ویژگی های آنتروپومتریکی می باشد. نتایج داده‌های چهار گروه تحقیق قبل از آغاز دورهٔ تمرینی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی شش هفته‌ای در مورد فعالیت آنزیمی GPx گلبول قرمز در شکل ۱ ارائه شده است. نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس یک راهه تفاوت معنی داری را بین گروههای تحقیق برای فعالیت آنزیمی GPx گلبول قرمز نشان داد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه گلوکز - تمرین و گروه دارونما- تمرین ($F(۲۱،۳) = ۲۸/۲۵۰ ،P< ۰/۰۵$) و بین گروه گلوکز- تمرین و گروه کنترل ($F(۲۱،۳) = ۲۸/۲۵۰ ،P< ۰/۰۰۱$)

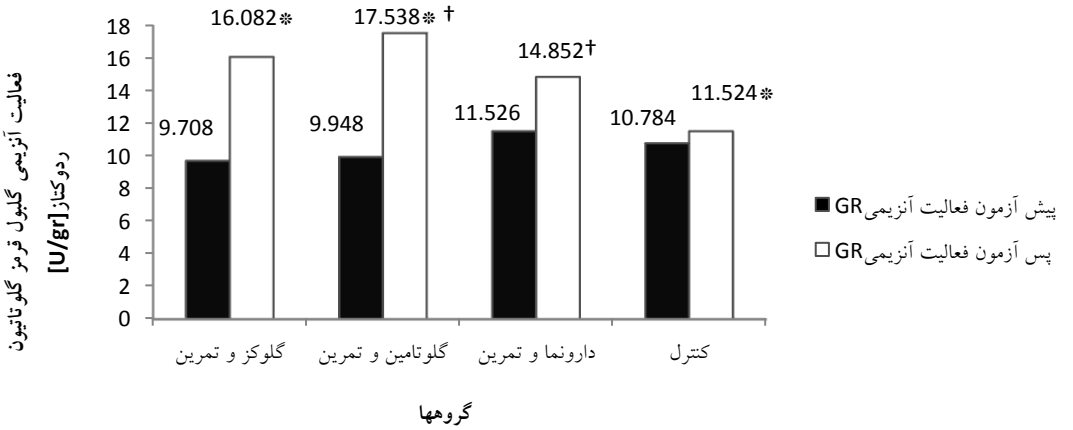
وجود دارد. همچنین تفاوت معنی داری بین گروه گلوتامین- تمرین و گروه دارونما- تمرین (P< ۰/۰۱، F(۲۱،۳) = ۲۸/۲۵۰)، بین گروه گلوتامین- تمرین و گروه کنترل (P< ۰/۰۰۱، F(۲۱،۳) = ۲۸/۲۵۰) و بین گروه دارونما- تمرین و گروه کنترل (P< ۰/۰۱، F(۲۱،۳)= ۲۸/۲۵۰) وجود دارد. نتایج تحقیق اشاره به افزایش معنی دار فعالیت آنزیمی GPx گلبول قرمز پس از شش هفته تمرین تخلیه گلیکوژنی دارد. نتایج داده‌های چهار گروه تحقیق قبل از آغاز دورهٔ تمرینی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی شش هفته‌ای در مورد فعالیت آنزیمی GR گلبول قرمز در شکل شماره ۲ ارائه شده است. نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس یک راهه تفاوت معنی داری بین گروههای تحقیق برای فعالیت آنزیمی GR گلبول قرمز را نشان داد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه گلوتامین- تمرین و گروه دارونما- تمرین (P< ۰/۰۵، F(۲۱،۳) = ۱۱/۶۸۵)، بین گروه گلوتامین- تمرین و گروه کنترل (P< ۰/۰۰۱، F(۲۱،۳) = ۱۱/۶۸۵) و بین گروه گلوکز- تمرین و گروه کنترل (P< ۰/۰۰۱، F(۲۱،۳) = ۱۱/۶۸۵) وجود دارد. نتایج تحقیق اشاره به افزایش معنی دار فعالیت آنزیمی GR گلبول قرمز پس از شش هفته تمرین تخلیه گلیکوژنی دارد.

جدول ۱: مقادیر پیش آزمون ویژگی های آنتروپومتریکی و پیکرسنجی آزمودنیهای تحقیق

متغیر / گروه	گلوکز – تمرین	گلوتامین –تمرین	دارونما – تمرین	کنترل	معنی داری
سن (سال)	۲۰/۶±۲/۶	۱۹/۸±۳/۱	۲۰/۵±۲/۷	۲۰/۸±۲/۲	۰/۳۲۴
قد (سانتیمتر)	۱۷۲/۲±۵/۳۱	۱۶۴/۲±۷/۱۲	۱۷۵/۲±۶/۴۲	۱۷۰/۲±۵/۸۵	۰/۲۴۳
وزن (کیلوگرم)	۶۹/۱۳±۱۰/۴	۶۷/۱۳±۱۱/۸	۷۱/۱۳±۹/۶	۷۴/۱۳±۸/۶	۰/۱۶۱
BMI (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۳/۶۶±۳/۲	۲۴/۴۶±۳/۷	۲۲/۲۳±۴/۲	۲۴/۴۳±۴/۱	۰/۱۲۱
چربی بدن (درصد)	۱۷/۶۸±۶/۲	۱۶/۷۵±۷/۱	۱۵/۷۵±۸/۳	۱۸/۷۵±۵/۷	۰/۰۸۱



شکل ۱: مقادیر پیش آزمون و پس آزمون فعالیت آنزیمی GPx گلبول های قرمز گروههای تحقیق. داده ها به صورت انحراف استاندارد ± میانگین نشان داده شده است
*** تفاوت معنی دار بین گروه گلوکز و گروه دارونما و بین گروه گلوکز و گروه کنترل(∝≤۰/۰۵).**
† تفاوت معنی دار بین گروه گلوتامین و گروه دارونما و بین گروه گلوتامین و گروه کنترل(∝≤۰/۰۵).
● تفاوت معنی دار بین گروه دارونما و گروه کنترل(∝≤۰/۰۵).



شکل ۲: مقادیر پیش آزمون و پس آزمون فعالیت آنزیمی GR گلبول های قرمز گروههای تحقیق. داده ها به صورت انحراف استاندارد ± میانگین نشان داده شده است
*** تفاوت معنی دار بین گروه گلوکز و گروه کنترل و بین گروه گلوتامین و گروه کنترل(∝≤۰/۰۵).**
† تفاوت معنی دار بین گروه گلوتامین و گروه دارونما(∝≤۰/۰۵).

بحث

در تحقیق حاضر نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیمی GPx و GR گلبول قرمز خون پس از شش هفته تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی همراه با مصرف گلوکز و گلوتامین بین گروههای مختلف تحقیق بود. مصرف کربوهیدرات حین تمرینات استقامتی با کاهش سطوح هورمون‌های استرسی مرتبط است و شاید روی استرس اکسیداتیوی و ظرفیت بالقوه آنتی‌اکسیدانی مؤثر باشد (۱۰)، از طرفی متناقض با این نظر نشان داده شده است که تمرین مقاومتی منجر به افزایش استرس اکسیداتیوی نمی‌شود(۲۳، ۲۴). همچنین تحقیقات نشان داده‌اند در تمرینات استقامتی طولانی‌مدت با افزایش استرس اکسیداتیوی و تولید رادیکالهای آزاد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد، اما میزان ظرفیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی همراه با مصرف کربوهیدراتها متفاوت بود (۷، ۸، ۱۰، ۹، ۲۵، ۲۶). در افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی حین تمرینات استقامتی اتفاق نظر وجود دارد و مطالعات مختلف این مسئله را تأیید کرده‌اند (۵، ۷، ۲۴). در تحقیق حاضر مصرف گلوکز بهمراه تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی باعث افزایش هر دو متغیر GPx و GR پس از شش هفته شد، بدین معنی که مصرف گلوکز می‌تواند باعث افزایش GPx و GR همراه با تمرین شود و با تحقیقی که نشان می‌داد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش دارند همسو بود (۲۴). اما اکثر تحقیقات افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را حین تمرین گزارش کرده‌اند ولی در تحقیق حاضر پس از شش هفته تغییرات GPx و GR اندازه‌گیری شده است. بنظر می‌رسد گلوکز باعث سازگاری فعالیت دو آنزیم آنتی‌اکسیدانی GPx و GR شود که شاید بدلیل نقش گلوکز به‌عنوان سوبسترا در مسیر تولید انرژی و تأخیر در خستگی بدلیل نقش کربوهیدرات‌ها در مسیرهای فسفوریلاسیون و سوخت وساز چربی‌ها که سوبسترای اصلی مسیر هوازی برای تولید انرژی هستند می‌باشد (۱). گلوتامین بهمراه تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی نیز مطابق با نتایج تحقیق باعث افزایش فعالیت آنزیمی GPx و GR شد. یکی از مواد اصلی تشکیل دهندهٔ GPx و GR گلوتاتیون می باشد و نشان داده شده است که گلوتامین می‌تواند بر افزایش گلوتاتیون مؤثر باشد (۲۷). شاید بتوان گفت بخشی از افزایش GPx و GR در اثر مصرف گلوتامین بواسطهٔ اثر آن بر گلوتاتیون باشد، بدین معنی که گلوتامین باعث افزایش گلوتاتیون شده و بصورت غیرمستقیم باعث افزایش GPx و GR می‌شود. گلوتامین طی شش هفته تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی باعث شد که فعالیت آنزیمی GPx و GR افزایش معنی-داری یابد. شاید گلوتامین باعث می‌شود طی شش هفته میزان گلوتاتیون افزایش یابد و در نتیجه باعث افزایش محتوای گلوتاتیون و متعاقب آن افزایش GPx و GR و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیمی GPx و GR شود که با نتایج تحقیق همخوانی دارد(۸، ۲۸). از طرفی بواسطهٔ نقش گلوتامین در مسیر سنتز گلیکوژن، حین تمرین می‌تواند همانند گلوکز باعث افزایش فعالیت آنزیمی GPx و GR شود (۱۲، ۱۷، ۲۷، ۲۸، ۲۹). نقش تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی انجام شده در تحقیق حاضر در گروه دارونما و تمرین نسبت به گروه کنترل بر فعالیت آنزیمی GPx نیز معنی‌دار بود، یعنی مستقل از اثرات مصرف گلوکز یا گلوتامین بهمراه تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی بر فعالیت آنزیمی GPx و GR، تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی نیز توانسته است باعث افزایش فعالیت آنزیمی GPx شود. طبق تحقیقات قبلی صورت گرفته یکی از محرک‌های افزایش دهندهٔ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تمرین استقامتی می‌باشد (۵، ۶)و چون پروتکل تمرینی در تحقیق حاضر استقامتی است می-تواند عامل اصلی جهت افزایش فعالیت آنزیمیGPx باشد و پس از شش هفته افزایش یابد. پروتکل تمرینی در تحقیق حاضر باعث افزایش استرس می‌شود زیرا تحقیقات نشان داده‌اند تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی باعث افزایش استرس و در نتیجه افزایش هورمونها و عوامل استرسی می‌شود (۱) و یکی از دلایل افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش استرس و عوامل استرسی حین تمرینات استقامتی باشد (۵، ۶). همگام با افزایش آنزیم GPx، آنزیم GR همواره افزایش نمی‌یابد و شاید دلیل عدم اثر بخشی تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی و مصرف گلوکز و گلوتامین در برخی از گروههای تحقیق در تحقیق حاضر بر GR به همین دلیل باشد. بهرحال تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی و مصرف گلوکز و گلوتامین می‌توانند مطابق با نتایج تحقیق باعث افزایش فعالیت آنزیمی GPx و GR شوند و همچنین تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی نیز می‌تواند چنین نقشی را ایفا کند و باعث شود که فرد بتواند حین تمرینات بعدی با توجه به افزایش فعالیت آنزیمیGPx نسبت به فردی که چنین دستکاری‌هایی را نداشته است بتواند کارائی بهتری از نظر فیزیولوژیکی داشته باشد و در مواقع فشار و استرس همانند فعالیت بدنی دارای عملکرد بهتری باشد. اما از نتایج ویژهٔ تحقیق حاضر، اثربخشی مصرف گلوتامین بر فعالیت آنزیمیGPx و GR بود. گلوتامین همانطور که گفته شد بواسطهٔ پیش‌ساز بودن برای گلوتاتیون و ارتباطش با GPx و GR، باعث افزایشGPx و GR می‌شود(۲۷). بنظر می‌رسد گلوتامین دارای تأثیر بیشتری بر رویGPx نسبت به گلوکز باشد. همچنین مطابق با نتایج تحقیق حاضر تمرین تخلیهٔ گلیکوژنی بر GPx تأثیر دارد، اما بر GR تأثیر ندارد و شاید تمرینات استقامتی طولانی‌مدت بتوانند باعث تغییر در فعالیت آنزیمی GPx شوند ولی نمی‌توانند باعث تغییر آنزیم GR شوند و احتمالا تمرینات استقامتی سنگین فقط روی آنزیمGPx تأثیر گذار هستند. از طرفی در تحقیقی برخلاف نتایج تحقیق حاضر نشان داده شده است که پس از شش هفته تمرین استقامتی سنگین در اسکی بازان مرد آنزیم GPx گلبول قرمز کاهش ولی آنزیم GPx پلاسما افزایش یافت (۲۴). لذا بنظر می رسد، نوع بررسی خونی(blood handling) نیز می‌تواند بر GPx تأثیر گذار باشد و یکی از دلائل نتایج متفاوت برای آنزیم GPx گلبول قرمز بین تحقیق ذکر شده و تحقیق حاضر در استفاده از نوع آزمودنی‌ها و بررسی نوع خونی باشد. همچنین شاید در تحقیق حاضر یکی از دلایل افزایشGPx و GR پس از شش هفته با مصرف گلوکز و گلوتامین حین تمرینات بلند مدتی که موجب تخلیه منابع گلیکوژنی می شود، تأثیرپذیری سریع و اثربخشی بالای این آنزیمها نسبت به اثرات گلوکز و گلوتامین و تمرین به‌همراه هم

باشد. بدین مفهوم که مصرف گلوکز و گلوتامین در ورزش کردن و فعالیتهای بدنی بلند مدت، موجب افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی شده و بدنبال آن بهبود عملکرد ورزشکار را بدنبال خواهد داشت. در تحقیق حاضر تمامی نتایج بدست آمده حاصل اعمال متغیر مستقل تمرین و مکمل بوده است، زیرا نتایج اندازه گیریهای آنتروپومتریکی نیز تفاوت معنی داری را در ابتدای دوره تحقیق نشان نداد (مطابق جدول شماره ۱). همچنین از عدم وجود اختلاف معنی دار GPx و GR در ابتدای شروع دوره تمرینی(پیش آزمون) اطمینان حاصل شده بود و بنظر می رسد نتایج بدست آمده از این تحقیق مربوط به اعمال متغیر مستقل تمرین و مکمل می‌باشد.

نتیجه گیری

می‌توان مصرف گلوکز و گلوتامین همراه با تمرین تخلیه گلیکوژنی را به‌عنوان یکی از فرضیه‌ها و مکانیسم‌های ایجاد تغییر در فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز پذیرفت و از اینگونه راهبردهای تمرینی و مصرف مکملی برای جلوگیری از افت عملکرد افراد سالم غیرورزشکار حین انجام فعالیتهای ورزشی سود برده و اجرای ورزشی افرادی که تمایل به شرکت در فعالیت‌های فوق استقامتی را دارند بهبود بخشیده و به نتیجهٔ مطلوب ورزشی دست یافت. بنابراین به افرادی که غیر فعال هستند و دارای مشکل و بیماری نیستند می‌توانند با مصرف مکملهای گلوکز یا گلوتامین در تمرینات بلند مدتی که منجر به تخلیه گلیکوژنی می شود، اجرا و عملکردشان را از طریق افزایش آنزیمهای آنتی اکسیدانی بهبود ببخشند.

References

1. Garrett W, Kirkendall E, Donald T. Exercise and sport science. *Lipp Will Wilk* 2000; **6**: 260-262.
2. Autreaux D.B, Toledano M.B. ROS as signaling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; **8**: 813-824.
3. Jones P.D. Radical-free biology of oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; **295**: C849-C868.
4. Harris DE. Regulation of antioxidant enzymes. *FASEB J* 1992; **6**: 2675-2683.
5. Melikoglu M.A, Kaldirimci M, Katkat D, Sen I, Kaplan I, Senel K. The effect of regular long term training on antioxidant enzymatic activities. *Sports Med Physic Fit* 2008; **48**(3): 388-390.
6. Aguilo A, Tauler P, Fuentespina E, Tur J. A, Córdova A, Pons A. Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiol Behav* 2005; **84**(1): 1-7.
7. Hiromi M, Ohishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, et.al. Strenuous endurance training in humans reduce oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol* 2001; **84**(1-2): 1-6.
8. Go Y.M, Ziegler T.R, Johnson J.M, Gu L, Hansen J.M, Jones D.P. Selective protection of nuclear thioredoxin-1 and glutathione redox systems against oxidation during glucose and glutamine deficiency in human colonic epithelial cells. *Free Radic Biol Med* 2007; **42**(3): 363-370.
9. Tauler P.A, Aguilo A, Gimeni I, Fuentespina E, Tur J.A, Pons A. Response of blood cell antioxidant exnyme defences to antioxidant diet, supplementation and to intense exercise. *Eur J Nutr* 2006; **45**(4): 187-195.
10. Ji L.L. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. *Free Radic Biol Med* 2008; **44**:142-152.
11. Ivy J.L, Goforth H.W, Damon B.M, McCauley T.R, Parsons E.C, Price T.B. Early post-exercise muscle glycogen recovery is enhanced with a carbohydrate-protein supplement. *J Appl Physio* 2002; **93**: 1337-1344.
12. Vanhall G, Aris W.H.M, Van de schoor P.A.I, Wagenmakers A.J.M. The Effect of Free Glutamine and Peptide Ingestion on the Rate of Muscle Glycogen Resynthesis in Man. *Int J Sports Med* 1999; **20**: 25-30.
13. Zawadzki K.M, Yaspelkis B.B, Ivy J.L. Carbohydrate-protein complex increases the rate of muscle glycogen storage after exercise. *J Appl Physiol* 1992; **72**(5): 1854-1859.
14. Baily C, Burke V, Shanks A. Basketball New Zealand. In: B. Bishop, P. Hume, Editors. *Guidelines for Athlete Assessment in New Zealand Sport. New Zealand: Sport and Exercise Science New Zealand* 2006.
15. Mackenize B. 101 Performance Evaluation Tests. Electric World PLC 2005; **12**: 44-47.
16. Antonio J, Stout J. Sports supplements. Lipp Will Wilk 2001; **9**: 116-117.
17. Antonio J, Street C. Glutamine: a potentially useful supplement for athletes. *Can J Appl Physiol* 1999; **24**(1): 1-14.
18. Wagenmakers A.J.M, Beckers E.J, Brouns F, Kuipers H, Soeters P.B, Van Der Vusse G.J, et.al. Carbohydrate supplementation, glycogen depletion, and amino acid metabolism during exercise. *Am J Physiol* 1991; **260**: E883-E890.
19. Paglia D.E, Valentine W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; **70**: 158-169.
20. Xin G.L, Wen H.C. New roles for an old selenoenzyme: Evidence from GPx-1 null and overexpressing mice. *Am Soci Nut* 2005; **15**: 2295-2298.
21. Mannervik B. Glutathione reeducates method. *Enzymol* 1985; **113**: 484-490.
22. Kraus R.J, Ganther H.E. Reaction of cyanide with glutathione peroxidase. *Biochem Biophys Res Commun* 1980; **96**:1116-1122.

23. Hanachi P, Shemshaki A. The Antioxidant Enzymes Activities in Blood of Physical Education Students after Eccentric and Concentric Training Activities. *Amer-Eur J Agric Envi Sci* 2010; **7**(5): 501-504.
24. Shemshaki A, Ghanbari A, Rajabi H, Javadi A. Intense Alpine Skiing Exercise on Anti-Oxidant Status of Male Skiers. *IJEM* 2008; **3**: 291-297.
25. Dennog C, Radermacher P, Barnett Y.A, Speit G. Antioxidant status in humans after exposure to hyperbaric oxygen. *Mutation Research* 1999; **428**: 83-89.
26. Cluberton L.J, McGee S.L, Murphy R.M, Hargreaves M. Effect of carbohydrate ingestion on exercise-induced alterations in metabolic gene expression. *J Appl Physiol* 2005; **99**: 1359-1363.
27. Gleeson M. Dosing and Efficacy of Glutamine Supplementation in Human Exercise and Sport Training. *Am Soci Nut* 2008; **138**: 2045S–2049S.
28. Kulkarni C, Kulkarni K.S, Hamsa B.R. L-Glutamic acid and glutamine: Exciting molecules of clinical interest. *Indian J Pharmacol* 2006; **37** Issue 3: 148-154.
29. Stumvoll M, Perriello G, Meyer C, Gerich J. Role of glutamine in human carbohydrate metabolism in kidney and other tissue. *Kidney Int* 1999; **55**: 77892.