

## مقایسه تأثیر مکمل‌های کربوهیدرات و کربوهیدرات-پروتئین بر سطوح پروتئین شوک گرمایی ۷۲ (HSP72) طی فعالیت‌های تناوبی فوتبال

ایوب هاشمی<sup>۱</sup>، محمد فرامرزی<sup>۲</sup>، مریم برقرار<sup>۳</sup>، علی خازنی<sup>۴</sup>، صادق امانی<sup>۵</sup>، ابراهیم بنی طالبی<sup>۶</sup>

۱- نویسنده مسئول: مریبی گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قشم، پست الکترونیکی: ayoub\_gol\_khandeh@yahoo.com

۲- استادیار گروه تربیت بدنی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه شهر کرد

۳- مریبی گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قشم

۴- دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

۵- دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزش، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۲۷

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۲۵

### چکیده

**سابقه و هدف:** ورزشکاران در فصل آماده‌سازی بارها در شرایط دشوار تمرینات طاقت‌فرسا قرار می‌گیرند. بنابراین، ذخایر انرژی از دست رفته طی تمرین باید در زمان ریکاوری بازسازی شوند. هدف از پژوهش حاضر، مقایسه تأثیر مکمل‌های کربوهیدرات و کربوهیدرات-پروتئین بر تغییرات سطوح پروتئین شوک گرمایی ۷۲ (HSP72)، انسولین و گلوکز خون طی فعالیت‌های تناوبی شدید بازیکنان فوتبال بود.

**مواد و روش‌ها:** ۲۴ فوتبالیست مرد منتخب باشگاهی به صورت هدفمند انتخاب و به طور مساوی در سه گروه نوشیدنی کربوهیدراتی (CHO)، نوشیدنی کربوهیدرات-پروتئین (CHO-PRO) و دارونما (P) تقسیم شدند. فعالیت‌های تناوبی شامل ۲۴ وله آزمون تعدیل شده اکبیوم یا فعالیت‌های تناوبی شبیه‌سازی شده فوتبال بود. آزمودنی‌ها پیش، در حین و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی، نوشیدنی مصرف کردند. پیش از فعالیت، بالافاصله، ۱ و ۲۴ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی شبیه‌سازی شده، خون‌گیری وریدی به عمل آمد و میزان گلوکز خون، هورمون انسولین و HSP72 با روش آنزیمی اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** افزایش معنی‌داری در میزان انسولین و گلوکز خون بالافاصله پس از فعالیت‌های تناوبی گروه‌های نوشیدنی CHO-PRO و CHO نسبت به گروه P مشاهده شد ( $P \leq 0.05$ ). کاهش معنی‌داری در سطوح HSP72 خون بالافاصله و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی گروه‌های نوشیدنی CHO-PRO و CHO نسبت به گروه P مشاهده شد ( $P \leq 0.05$ ). در حالی که تغییرات معنی‌داری بین گروه‌های نوشیدنی CHO-PRO نسبت به CHO به دست نیامد. همچنین، افزایش معنی‌دار میزان HSP72، انسولین و گلوکز خون بالافاصله و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی در همه گروه‌ها نسبت به مرحله استراحت مشاهده شد ( $P \leq 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهد که مصرف ترکیب کربوهیدرات با پروتئین قبل، در حین و ۱ ساعت پس از فعالیت، تأثیر معنی‌داری بر HSP72، انسولین و گلوکز خون نسب به مصرف کربوهیدرات به تنها یعنی ندارد؛ اگرچه در هر دو گروه مکمل نسبت به گروه دارونما تغییرات معنی‌داری مشاهده شد. بنابراین، دسترسی بودن گلوکز در حین تمرین می‌تواند بر پاسخ‌های HSP72 گردش خون بازیکنان فوتبال تأثیر داشته باشد.

**وازگان کلیدی:** مکمل کربوهیدراتی، مکمل کربوهیدرات-پروتئین، پروتئین شوک گرمایی ۷۲، فعالیت‌های تناوبی

### • مقدمه

حدود ۱۰ کیلومتر را با ۷۰ تا ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی حداقل می‌دوند؛ چنین فعالیت طولانی مدتی با این شدت به گلیکوژن و سوبستراهای متابولیکی وابسته است. بنابراین، فاصله بین دو نیمه فوتبال زمان مناسبی برای مصرف نوشیدنی یا تغذیه است (۲-۵).

ورزشکاران در فصل آماده‌سازی بارها در شرایط دشوار تمرینات طاقت‌فرسا قرار می‌گیرند. بنابراین، ذخایر انرژی از دست رفته طی تمرین باید در زمان ریکاوری بازسازی شود تا دوره ریکاوری پس از فعالیت ورزشی سریع‌تر انجام پذیرد و ورزشکار برای اجرای مرحله بعدی تمرین آماده شود (۱). آنالیز بازی فوتبال نشان داد که بازیکنان فوتبال مسافتی

یکی از عوامل تحریک کننده تولید HSP72 تخلیه گلیکوژنی یا کاهش محتوا و در دسترس بودن گلیکوژن درون عضلانی است که در اثر انقباضات مکرر طی فعالیت‌های ورزشی رخ می‌دهد (۱۲، ۱۳، ۱۵). در تحقیقی با اجرای پروتکل تمرينی خاصی روی دوچرخه کارسنج به مدت ۲/۵ ساعت به صورت موضعی و حاد تخلیه گلیکوژن عضلات ساق پا با افزایش در میزان پروتئین HSP72 همراه بود (۱۳).

در سال‌های اخیر تأثیر مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها بر تغییرات HSP72 مورد مطالعه قرار گرفته و کاهش میزان پروتئین‌های شوک گرمایی ۷۰ و ۷۲ با مصرف ویتامین‌های آنتی اکسیدانی E و C گزارش شده است (۱۹، ۲۰). اگرچه در زمینه مصرف مکمل‌های کربوهیدراتی بر تغییرات HSP72 فقط یک پژوهش صورت گرفته است (۱۵). با توجه به اهمیت مکمل‌های کربوهیدراتی و ترکیب کربوهیدرات-پروتئین برای جلوگیری از کاهش ذخایر گلیکوژنی از طریق افزایش سطوح گلوکز در گردش و نقش تخلیه گلیکوژنی بر افزایش HSP72 (۱۲، ۱۳، ۱)، پژوهش حاضر به مقایسه تأثیر مصرف مکمل-های کربوهیدرات و کربوهیدرات-پروتئین بر سطوح HSP72، هورمون انسولین و گلوکز خون طی فعالیت‌های تناوبی فوتbal می‌پردازد.

## • مواد و روش‌ها

**روش تحقیق:** این پژوهش به صورت نیمه تجربی با طرح تحقیق اندازه‌گیری‌های مکرر انجام شد.

**جامعه آماری و نحوه انتخاب آزمودنی‌ها:** جامعه آماری تحقیق، بازیکنان فوتbal منتخب باشگاهی بود. ۲۴ مرد فوتبالیست به صورت نمونه‌گیری در دسترس (هدفمند) انتخاب شدند. پس از انتخاب آزمودنی‌ها ابتدا موضوع تحقیق، هدف و روش اجرای آن توضیح داده شد و کاربردها و خطرات احتمالی مصرف مکمل‌ها به آگاهی افراد رسید. سپس آزمودنی‌ها داوطلبانه رضایت‌نامه کتبی برای شرکت در مراحل پژوهش را امضا کردند. از طریق پرسشنامه وضعیت و تاریخچه سلامتی آن‌ها در چندماه گذشته مورد بررسی قرار گرفت. بر این اساس، افرادی به عنوان آزمودنی انتخاب شدند که بیماری یا آسیب‌دیدگی نداشتند، حداقل ۴ سال فعالیت باشگاهی داشتند و از آمادگی جسمانی مناسبی (حداکثر اکسیژن مصرفی بالای ۵۶) برخوردار بودند.

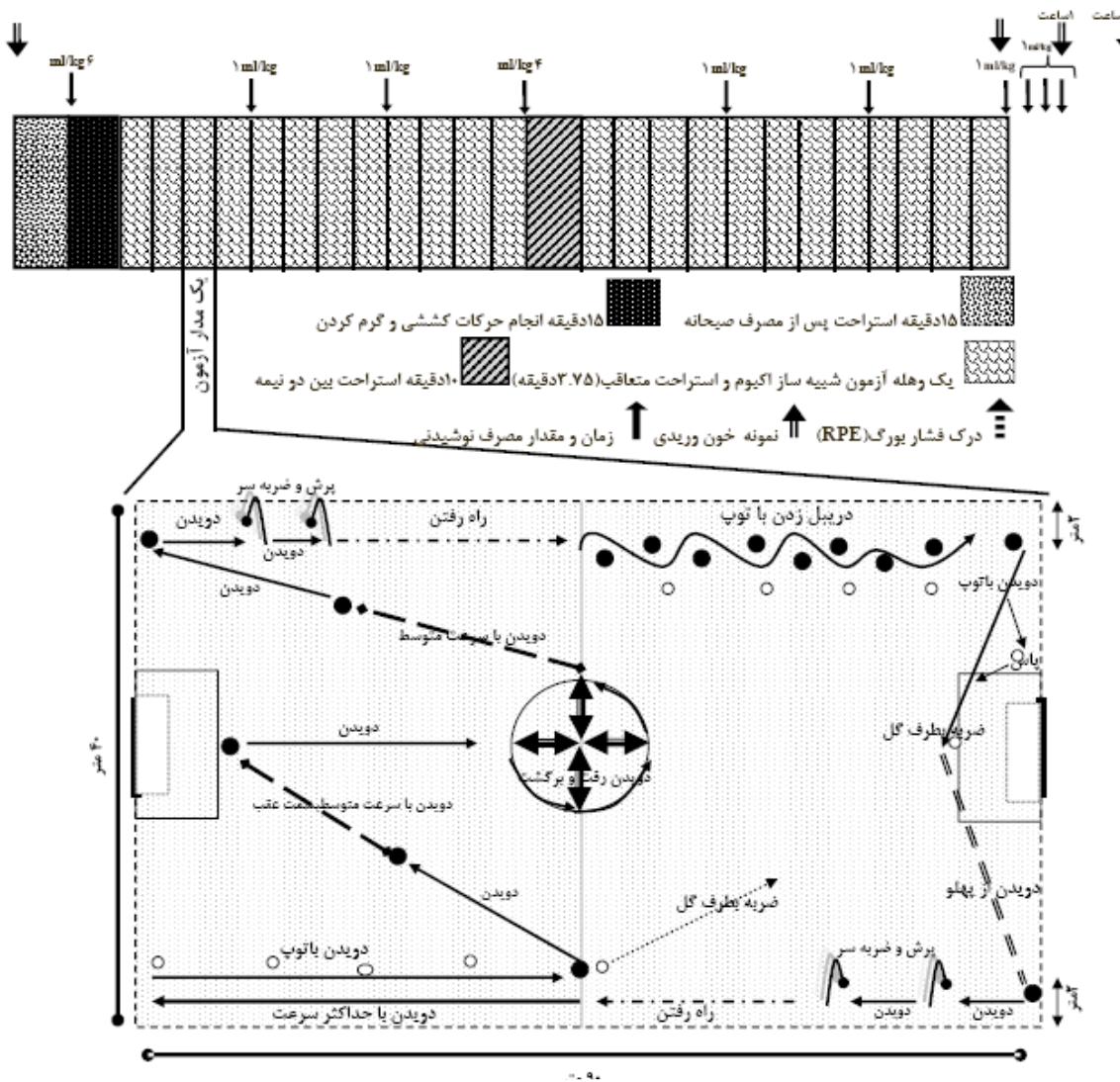
**نحوه انجام فعالیت‌های تناوبی:** یک جلسه قبل از شروع آزمون، حداکثر اکسیژن مصرفی (VO<sub>2max</sub>) بازیکنان به وسیله آزمون کوپر (۲۱) و مشخصات فردی و ترکیب بدنی

پژوهش‌های متعددی نقش گلیکوژن در انجام فعالیت‌های ورزشی و بازسازی سریع آن طی مرحله ریکاوری پس از فعالیت‌های ورزشی را بررسی کرده‌اند (۱، ۶-۹). عوامل فراوانی بر میزان ذخایر گلیکوژن عضلانی تأثیر دارند؛ مانند: زمان مصرف کربوهیدرات، میزان مصرف و افزودن ویتامین‌ها، پروتئین و مکمل‌های انرژی‌زا به کربوهیدرات (۱۰، ۹، ۶، ۱). بیشتر پژوهش‌ها استفاده از کربوهیدرات با درصد‌های متفاوتی (۴ تا ۱۰ درصد) در محلول‌های ورزشی را یک اصل تغذیه‌ای می‌دانند (۴-۶، ۱). هرچند که پروتئین در شرایط عادی در مقایسه با کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها نقش محدودتری در تولید انرژی (۵ تا ۱۰ درصد) ایفا می‌کند، اما طی فعالیت‌های شدید و طولانی مدت که منجر به تخلیه گلیکوژنی می‌شود، نقش مؤثرتری دارد (۱). تخلیه گلیکوژنی باعث محدودیت در عملکردهای ورزشی می‌شود و مصرف مکمل‌های کربوهیدرات همراه پروتئین طی یک دوره ریکاوری سریع میزان انسولین و بازسازی گلیکوژنی را افزایش می‌دهد (۹، ۱). بیشتر پروتکل‌های تخلیه گلیکوژنی روی دوچرخه کارسنج و با استفاده از وهله‌های تمرينی بیشینه با درصد‌های ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درصد توان بیشینه یا شدت‌های بالای VO<sub>2max</sub> با مدت زمان بالا صورت گرفته است که الگوی آن بجز در مورد رشته دوچرخه‌سواری استقامتی به بیشتر رشته‌های ورزشی شbahتی ندارد (۱۱، ۱۰، ۸-۶، ۱). در حالی که در مطالعات اخیر بر استفاده از پروتکل‌های تمرينی با رعایت اصل ویژگی تمرينی و تعمیم‌پذیری تأکید دارند برای شبیه‌سازی رشته‌های مختلف ورزشی تلاش شده است (۳-۵). هم‌چنین، تحقیقات بسیار اندکی تأثیر نوشیدنی‌های کربوهیدرات و کربوهیدرات-پروتئین بر فعالیت‌های تناوبی را بررسی کرده‌اند که ویژگی اغلب ورزش‌های تیمی است (۵، ۹).

**پروتئین‌های شوک گرمایی HSPs** (Heat Shock Proteins) در پاسخ به طیف وسیعی از عوامل استرس‌زا تحریک و تولید می‌شوند؛ شامل: استرس اکسیداتیو، عدم تعادل کلیسیمی، تخلیه گلوکز و گلیکوژن یا کاهش فراهمی گلیکوژن، کاهش pH خون، تغییرات دمایی، فعالیت بدنی و برخی هورمون‌های استرسی مثل کورتیزول و کاتکولامین‌ها (۱۲-۱۸). افزایش میزان HSP72 در خون از یک طرف نشان‌دهنده آسیب بیشتر و افزایش درگیری سیستم ایمنی و از طرف دیگر نشان دهنده محافظت از بافت‌ها و سلول‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از استرس‌های مختلف است (۱۲، ۱۳).

داخل زمین چمن با حدود ۸۰ تا ۹۰ درصد ضربان بیشینه بود (شکل ۱).

به منظور همگن کردن، آزمودنی‌ها بر اساس حداکثر اکسیژن مصرفی به صورت هدفمند به سه گروه نسبتاً مشابه تقسیم شدند. آزمودنی‌ها به صورت گروه‌های سه نفری همگن فعالیت‌های تناوبی را اجرا می‌کردند و استفاده از نوشیدنی‌ها به صورت تصادفی توسط رکوردگیر به آزمودنی‌ها ارائه می‌شد. زمان در نظر گرفته شده برای اجرای یک وهله آزمون تعديل شده اکبلوم ۳ دقیقه و ۴۵ ثانیه (۲۲۵ ثانیه) بود. پس از اجرای هر مرحله با شدت فوق و بر اساس پروتکل تمرینی شکل ۱ زمان اضافی را استراحت می‌کردند. در انتهای هر مرحله فعالیت تعديل شده اکبلوم یا فعالیت‌های تناوبی شبیه ساز فوتبال از پرسشنامه درک فشار (RPE) بورگ و ضربان قلب جهت بررسی شدت فعالیت استفاده شد (۵).



شکل ۱. پروتکل فعالیت تناوبی (آزمون تناوبی اکبلوم)، نحوه خونگیری و مکمل‌سازی

با استفاده از دستگاه تجزیه ترکیب بدنی Olympia- PLUS (Model Body Composition Analyzer) ۳.۰۳، ساخت کره جنوبی) اندازه‌گیری شد. هم‌چنین، روش آزمون تعديل شده اکبلوم یا فعالیت‌های تناوبی شبیه‌ساز فوتبال آموزش داده شد. ۲روز بعد آزمودنی‌ها ساعت ۷:۳۰ پس از یک دوره ۸ تا ۱۲ ساعته در حالت ناشتا جهت اجرای فعالیت تناوبی شبیه‌سازی شده در زمین چمن حاضر شدند. فعالیت‌های تناوبی شبیه‌سازی شده در ساعت ۲۴ وهله آزمون‌های تناوبی تعديل شده اکبلوم بود (۳) که به دو نیمه تقسیم شدند (فعالیت‌های تناوبی تعديل شده اکبلوم شامل دویدن به سمت عقب و جلو، دویدن به پهلو، دویدن سریع، دویدن با شدت متوسط، راه رفتن، دریبل، پاس، ضربه زدن به طرف دروازه و ضربه سر بود) (۲۲). فعالیت‌های تناوبی

بلافاصله و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی و میزان HSP72 در مرحله استراحت، بلافاصله، ۱ و ۲۴ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی اندازه‌گیری شد. گلوکز خون با روش آنژیمی (گلوکز اکسیداز) و هورمون انسولین HSP72 به ترتیب با کیت ABL (ساخت آلمان) و کیت Stressgen (ساخت کانادا) با روش ELISA اندازه‌گیری شد. پس از اجرای پروتکل تمرينی و خونگیری همه آزمودنی‌ها در ساعت ۱۲:۳۰ تا ۱۳ یک نوع ناهار خوردن از آزمودنی‌ها خواسته شد تغذیه مصرفی روزانه خود را طی پژوهش یادداشت کنند و تحویل دهند.

**روش‌های آماری:** با استفاده از آزمون کلموگروف اسمیرنوف از نرمال بودن جامعه اطمینان حاصل شد. اطلاعات به دست آمده براساس میانگین و انحراف استاندارد دسته بندی و توصیف شد. جهت بررسی همگنی و کنترل تفاوت‌ها سطوح پایه متغیرها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (post hoc Tukey's test) استفاده شد. برای ارزیابی تغییرات ایجاد شده در متغیرها و تعامل آن‌ها از تحلیل واریانس دوطرفه (two-way) با اندازه‌گیری مکرر ( $4 \times 3$ ) (repeated-measures ANOVA) و جهت تعیین تغییرات زمانی در هر گروه از روش اندازه‌گیری مکرر با تصحیح LSD استفاده شد. در صورت معنی‌دار بودن مقدار  $F$  از آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه بین گروهی و زمان‌های متفاوت به کار رفت. در صورت معنی‌داری کرویت مخلی، تصحیح اپسیلون گرین‌هاوس ارائه شد. از آزمون تحلیل کواریانس (ANCOVA) جهت تعدیل سطوح پایه نیز استفاده شد. در نهایت، با نتایج تحلیل کواریانس مشابه بود که تحلیل واریانس یک‌طرفه گزارش شد. یافته‌ها در سطح اطمینان  $95\% (P < 0.05)$  بررسی و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS<sup>17</sup> انجام شد.

**نحوه مکمل گیری:** آزمودنی‌ها ۱۵ دقیقه پس از مصرف یک صبحانه سبک و استاندارد (۲۳ گرم کربوهیدرات، ۴ گرم چربی و ۳ گرم پروتئین با انرژی حدود ۱۴۰ کیلوکالری) (۳) با توجه به آمادگی جسمانی (VO<sub>2max</sub>) به صورت مساوی در سه گروه نوشیدنی تقسیم شدند. آزمودنی‌ها پیش، در حین و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی نوشیدنی مصرف کردند. گروه CHO-PRO ۶۰ گرم کربوهیدرات، گروه گروه کربوهیدرات+ ۱۸ گرم پروتئین در یک لیتر آب (۲۳، ۱) و گروه P آسپارتام مصرف کردند. پروتکل به صورت یکسوزیه کور (Single Blind) انجام گرفت. به این ترتیب که افراد رکوردهای ورزشکاران در جریان تفاوت‌های نوشیدنی نبودند، ولی پژوهشگر در جریان تفاوت‌های نوشیدنی بود. ورزشکاران ۱۵ دقیقه پس از مصرف صبحانه استاندارد ۶ میلی‌لیتر بر کیلوگرم نوشیدنی مصرف کردند، ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم نوشیدنی در انتهای وله‌های ۴، ۸، ۲۰ و ۲۴ و در انتهای وله ۱۲ (به عنوان انتهای نیمه اول) ۴ میلی‌لیتر بر کیلوگرم نوشیدنی مصرف کردند. در انتهای ۱۵، ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از فعالیت نیز ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم نوشیدنی مصرف کردند (۳). مکمل مصرفی کربوهیدرات شامل کربومس (حاوی ۹۵ تا ۹۰ درصد قندهای ساده گلوکز و فروکتوز و ۵ درصد کربوهیدرات‌های پیچیده) و پروتئین شامل ایزو وی ۹۲ درصد پروتئین خالص آب‌پنیر) ساخت شرکت Mass Global Nutrition و بسته‌بندی توسط شرکت PNC یا پویان ایران بودند.

**نحوه خون‌گیری و روش اندازه‌گیری HSP72:** پیش از فعالیت، بلافاصله، ۱ و ۲۴ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی شبیه‌سازی شده مقدار ۷ میلی‌لیتر خون سیاهرگی از ورزشکاران گرفته و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد. میزان هورمون انسولین، گلوکز خون در مرحله استراحت،

جدول ۱. اطلاعات آنترومتریکی و فیزیولوژیکی آزمودنی‌ها

متغیر	میزان چربی (درصد %)	میزان گروه	گروه	کربوهیدرات-پروتئین	کربوهیدرات	دارونما
سن (سال)				۲۰/۱±۴/۹۴	۲۰/۶۶±۴/۰۸	۲۰/۴±۵/۶۵
وزن (Kg)				۶۳/۴۳±۵	۶۷/۸۷±۸/۱۲	۶۶/۱±۹/۷
قد (cm)				۱۷۲/۶۶±۶/۳۶	۱۷۳/۱۶±۶/۰۴	۱۵۸/۶۶±۸/۰۵
BMI				۲۱/۲۵±۲/۵	۲۲/۰۸±۳/۸	۲۰/۲۵±۴/۵
حداکثر اکسیژن مصرفی (ml.Kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )				۶۲/۴±۴/۳	۶۱/۸۴±۴/۴	۶۲/۵±۴/۹
میزان چربی (درصد %)				۱۰/۴۵±۳/۸	۱۰/۸±۴/۸	۱۱/۲۵±۴/۱۲

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است

## ۰ یافته‌ها

یافت (بلافاصله: به ترتیب  $P=0/00$ ,  $P=0/00$  و ۱ ساعت: به ترتیب  $P=0/02$ ,  $P=0/02$ ). در حالی که تغییرات معنی‌داری بین گروه‌های نوشیدنی Pro-Cho نسبت به Cho و دیگر متغیرهای گروه‌های نوشیدنی Cho, Pro-Cho و P به دست نیامد (جدول ۲) (شکل‌های ۲-۴).

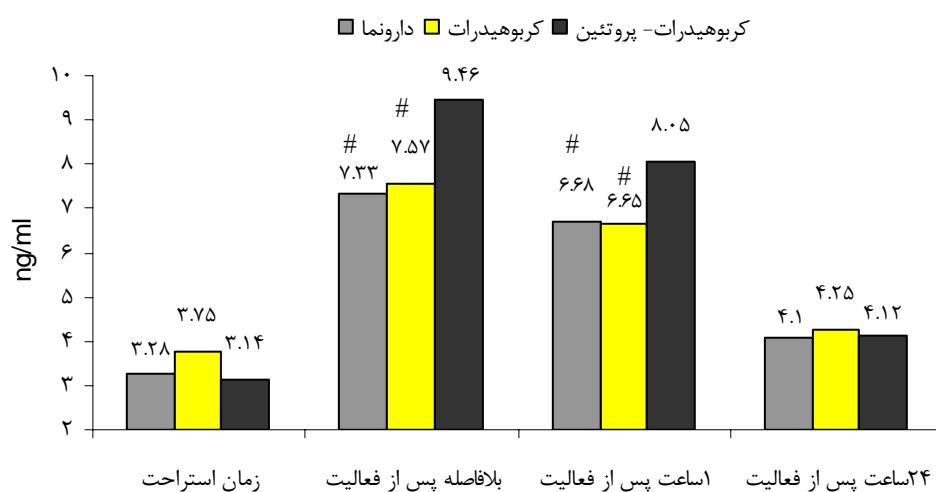
نتایج حاصل از آزمون‌های مکرر با تصحیح LSD هر گروه (درون گروهی) افزایش معنی‌دار در میزان HSP72، انسولین و گلوکز نمونه‌های خون مرحله بلافاصله و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی گروه‌های نوشیدنی CHO، CHO-PRO و CHO-PRO نسبت به مرحله استراحت را نشان داد (بلافاصله: به ترتیب  $P=0/00$ ,  $P=0/01$ ,  $P=0/02$  و ۱ ساعت: به ترتیب  $P=0/00$ ,  $P=0/02$ ,  $P=0/02$ ) (جدول ۲).

نتایج حاصل از تحلیل واریانس دوطرفه عدم تعامل بین زمان خونگیری و نوشیدنی‌های مصرفی را نشان داد، در حالی که تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی (تفاوت بین گروهی) نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار میزان گلوکز خون بلافاصله و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی گروه‌های نوشیدنی CHO و CHO-PRO نسبت به P بود (بلافاصله: به ترتیب ۱,  $P=0/01$  و ۱ ساعت: به ترتیب  $P=0/00$ ,  $P=0/00$ ). هم‌چنین، افزایش معنی‌دار میزان انسولین خون بلافاصله و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی گروه‌های نوشیدنی CHO و CHO-PRO نسبت به P مشاهده شد (بلافاصله: به ترتیب ۱,  $P=0/01$  و ۱ ساعت: به ترتیب  $P=0/00$ ,  $P=0/00$ ). هم‌چنین، میزان HSP72 خون بلافاصله و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی گروه‌های نوشیدنی CHO و CHO-PRO به طور معنی‌داری کاهش

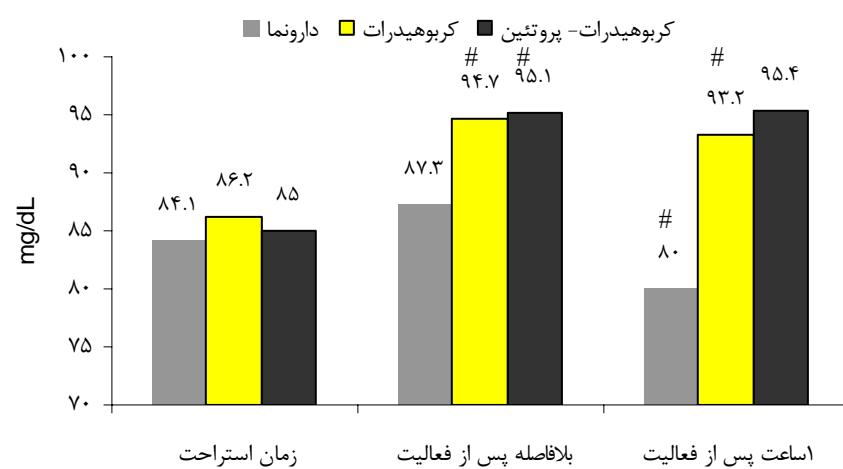
جدول ۲. مقایسه میزان HSP72، انسولین و گلوکز خون در زمان استراحت، بلافاصله، ۱ و ۲۴ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی شبیه سازی فوتbal

گروه	متغیر	زمان استراحت	بلافاصله پس از فعالیت	۱ ساعت پس از فعالیت	۲۴ ساعت پس از فعالیت
کربوهیدرات-پروتئین	(ng/ml) HSP72	$3/28 \pm 0/64$	$7/33 \pm 2/16^*$	$6/68 \pm 2/18^*$	$4/1 \pm 0/64$
کربوهیدرات	(ng/ml)HSP72	$3/75 \pm 0/96$	$7/57 \pm 2/1^*$	$6/65 \pm 2/14^*$	$4/25 \pm 0/96$
دارونما	(ng/ml)HSP72	$3/14 \pm 0/81$	$9/46 \pm 2/87$	$8/05 \pm 2/92$	$4/12 \pm 0/81$
کربوهیدرات-پروتئین	(mg/dL)	$8/5 \pm 10/97$	$9/5/16 \pm 9/04^*$	$9/5/44 \pm 6/01^*$	$9/5/24 \pm 5/42^*$
کربوهیدرات	(mg/dL)	$8/6/24 \pm 6/01$	$9/4/71 \pm 7/67^*$	$9/3/24 \pm 5/42^*$	$8/0/05 \pm 11/25$
دارونما	(mg/dL)	$8/4/15 \pm 11/25$	$8/7/36 \pm 10/66$	$1/3/84 \pm 2/79^*$	$1/2/26 \pm 2/7^*$
کربوهیدرات-پروتئین	(mg/dL)	$9/61 \pm 2/79$	$1/2/75 \pm 3/19^*$	$8/1/1 \pm 1/8$	$8/1/1 \pm 1/8$
کربوهیدرات	(mg/dL)	$9/12 \pm 2/7$	$1/1/87 \pm 3/31^*$	$8/78 \pm 2/75$	$8/78 \pm 2/75$
دارونما	(mg/dL)	$9/38 \pm 1/8$			

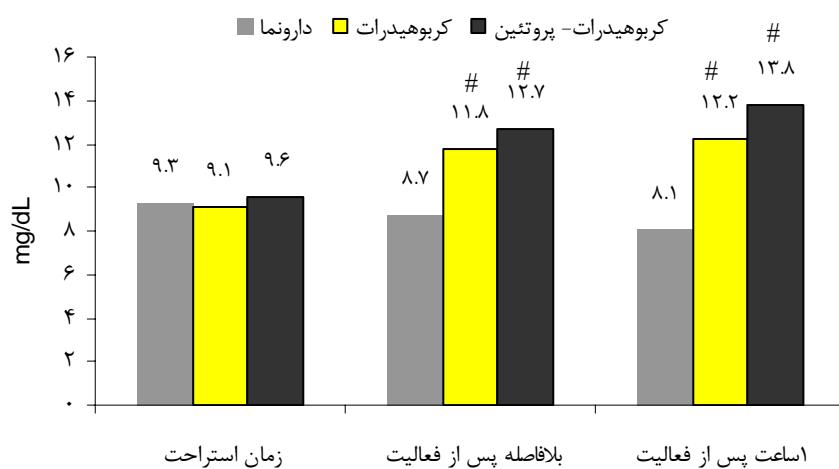
\* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه دارونما(بین گروهی)



شکل ۲. مقایسه بین گروهی میزان HSP خون در زمان‌های استراحت، بلافاصله، ۱ و ۲ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی  
# علامت تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه دارونما



شکل ۳. مقایسه گلوکز خون در زمان‌های استراحت، بلافاصله و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی  
# علامت تفاوت معنادار نسبت به گروه دارونما



شکل ۴. مقایسه هورمون انسولین خون در زمان‌های استراحت، بلافاصله و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی  
# علامت تفاوت معنادار نسبت به گروه دارونما

## • بحث

انسولین یکی از مهم‌ترین هورمون‌های آنابولیک در بدن است که با تحریک آنزیم گلیکوژن سنتاز به ساخته شدن گلیکوژن از گلوکز کمک می‌کند<sup>(۱۳)</sup>. زمان یک عامل کلیدی برای جایگزینی گلیکوژن عضله است. سلول‌های عضلانی در طی دو ساعت نخست پس از ورزش، نسبت به انسولین بسیار حساس هستند. در صورت فراهم بودن کربوهیدرات‌کافی، افزایش سطح انسولین خون پس از ورزش باعث انتقال سریع‌تر گلوکز به درون سلول‌های عضلانی می‌شود این کار، سرعت بازسازی گلیکوژن را افزایش می‌دهد. پس از دو ساعت، سلول‌های عضلانی در مقابل انسولین مقاوم می‌شوند و این وضعیت تا حدود چندین ساعت باقی می‌ماند. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند ورزشکارانی که طی دو ساعت پس از ورزش کربوهیدرات مصرف کردند، توانستند سطوح گلیکوژنی عضلات خود را به طور کامل بازسازی کنند<sup>(۶)</sup>. ورزشکارانی که پس از گذشت دو ساعت کربوهیدرات مصرف کرده بودند، ۵۰٪ کمتر از ورزشکارانی که دو ساعت نخست خود را بازسازی کربوهیدرات مصرف کرده بودند، گلیکوژن عضلات خود را بازسازی کردند<sup>(۱)</sup>. پژوهش‌ها نشان داده‌اند هنگامی که کربوهیدرات با پروتئین ترکیب شود، غالباً پاسخ انسولین را دو برابر و نرخ سنتز گلیکوژن را تا حدود ۳۰٪ افزایش می‌دهد<sup>(۶، ۲۵)</sup>. به نظر می‌رسد هر گونه نوشیدنی ورزشی که حاوی پروتئین و کربوهیدرات باشد، در ریکاوری پس از فعالیت‌های ورزشی مؤثر است.

میزان HSP72 خون بلافضلله و ۱ ساعت پس از فعالیت‌های تناوبی گروههای نوشیدنی CHO-PRO و CHO نسبت به P به طور معنی‌داری کاهش یافت. این نتیجه با نتایج پژوهش *Febbraio* و همکاران<sup>(۲۰۰۴)</sup> همسو است. کاهش میزان HSP70 سرمی را با مصرف کربوهیدرات ۶٪ نسبت به مصرف دارونما گزارش کردند. در پژوهش *Febbraio* که به مدت ۱۲۰ دقیقه با ۶۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی صورت گرفت، افزایش HSP70 برخلاف HSP60 در دقایق پایانی صورت گرفت، در حالی که میزان HSP60 در دقیقه ۶۰ بیشترین تغییرات را در دو گروه نشان داد. محققان دلیل اصلی این تفاوت‌ها را بیان سیتوزولیک HSP70 و بیان میتوکندریایی HSP60 گزارش کردند<sup>(۱۵)</sup>.

یکی از دلایل عمدۀ اضافه کردن پروتئین به کربوهیدرات، نقش مهم آن در جلوگیری از تخلیه گلیکوژنی و بازیافت سریع‌تر آن از طریق در دسترس بودن بیشتر گلوکز است که انسولین واسطه مؤثری در این امر است<sup>(۱۸)</sup>; اگرچه تغییرات معنی‌داری در میزان HSP72 گروههای CHO-PRO و CHO-PRO مشاهده نشد که احتمالاً ناشی از عدم تغییر در سطوح گلوکز خون یا شدت و مدت

نتایج این تحقیق افزایش معنی‌دار در میزان انسولین و گلوکز خون را بلافضلله پس از فعالیت‌های تناوبی گروههای نوشیدنی CHO-PRO و CHO نسبت به P نشان داد؛ که با نتایج بیشتر پژوهش‌های گزارش شده به ویژه در مدت فعالیت‌های استقامتی و نیمه استقامتی، مطابقت دارد<sup>(۲۵، ۲۴، ۵، ۴، ۱)</sup>.

*Ajmol Ali* و همکاران<sup>(۲۰۰۹)</sup> و *Abby* و همکاران<sup>(۲۰۰۹)</sup> نیز افزایش معنی‌داری در میزان انسولین و گلوکز خون پس از مصرف کربوهیدرات طی فعالیت‌های تناوبی فوتbal گزارش کردند که با نتایج این پژوهش همسو است<sup>(۴، ۵)</sup>. مصرف کربوهیدرات، میزان گلوکز خون و اکسیداسیون آن را افزایش و مصرف گلوکز کبدی را کاهش می‌دهد. در نتیجه، تخلیه گلیکوژنی کبد و عضلات را به تأخیر می‌اندازد؛ بنابراین، نقش مهمی در افزایش عملکرد ورزشکاران و به تاخیر انداختن خستگی آن‌ها دارد<sup>(۶)</sup>.

در مطالعاتی که از ترکیب کربوهیدرات و پروتئین استفاده کردند، تغییرات نسبتاً متفاوتی در میزان گلوکز خون و هورمون انسولین گزارش شده است. *Baty* و همکاران<sup>(۲۰۰۷)</sup> افزایش معنی‌دار میزان هورمون انسولین خون طی یک دوره تمرینات مقاومتی در گروه CHO-PRO نسبت به P را گزارش کردند، هرچند تغییرات معنی‌دار میزان گلوکز خون مشاهده نشد. همچنین، افزایش انسولین با کاهش شاخص آسیب عضلانی و کوفتگی عضلانی همراه بود و نقش انسولین در بازسازی پروتئین و کاهش تجزیه پروتئین‌ها مورد تأکید قرار گرفت<sup>(۲۴)</sup>. سنتز پروتئین طی مصرف کربوهیدرات - پروتئین و کربوهیدرات به ترتیب ۶ و ۴ برابر نسبت به آب طی ۶۰ دقیقه دوچرخه‌سواری با شدت بالا و به صورت متوالی گزارش شد که سنتز پروتئین با پاسخ انسولینی بیشتر همراه بود<sup>(۲۳)</sup>. می‌توان عامل مدت و شدت فعالیت را در اثربخشی بیشتر مصرف ترکیبی این مکمل‌های تغذیه‌ای موثر دانست<sup>(۱)</sup>. احتمالاً با مصرف بلند مدت (دوره چند هفتاهای) یا استفاده از پروتکل‌های تمرینی متفاوت به ویژه در ورزش‌های استقامتی، CHO-PRO می‌تواند در دوره ریکاوری پس از فعالیت‌های ورزش کارایی بیشتری داشته باشد<sup>(۱۱)</sup>.

انسولین به عنوان عامل تسهیل‌کننده جذب گلوکز عضلات اسکلتی شناخته شده است<sup>(۲۵)</sup> این کار از طریق انتقال دهنده‌های گلوکز (Glut4) در سطح غشای پلاسمایی عضلات صورت می‌گیرد. Glut4 به وسیله تعدادی از سیگنال‌های درون سلولی مرتبط با کلسیم تنظیم می‌شود که به وسیله نورون‌های حرکتی و فعالیت‌های متابولیکی تولید انرژی تحریک می‌شوند<sup>(۲۶)</sup>.

روی تردیمیل با شدت ۷۰ درصد حداقل اکسیژن مصرفی، کاهش معنی دار میزان شاخص‌های استرس اکسیداتیو و IL-6 را بلافضله، ۱ و ۳ ساعت پس از فعالیت گزارش کردند. در حالی که تغییرات HSP72 معنی دار نبود. البته کاهش قابل ملاحظه‌ای در زمان‌های ۱ و ۳ ساعت پس از فعالیت به دست آمد (۳۲).

بنابراین، می‌توان برای مکمل‌های کربوهیدراتی و کربوهیدرات-پروتئین چنین نقش‌هایی را قائل شد: کاهش آسیب عضلانی، شاخص‌های التهابی و سایتوکالی‌ها، رادیکال‌های آزاد و از همه مهم‌تر در دسترس بودن گلوکز و جلوگیری از کاهش ذخایر گلیکوژنی. همه این موارد، از عوامل مؤثر در کاهش میزان پروتئین‌های شوک گرمایی در گردنش هستند (۲۹، ۲۷، ۲۴، ۱۵، ۱۱، ۶، ۴، ۱).

به طور کلی، مصرف ترکیب کربوهیدرات‌ها با پروتئین پیش، در حین و ۱ ساعت پس از فعالیت، تأثیر معنی داری بر HSP72، انسولین و گلوکز خون نسبت به مصرف کربوهیدرات‌ها تنها بود. هرچند که در هر دو گروه مکمل نسبت به گروه دارونما تغییرات معنی داری مشاهده شده است و می‌توان در دسترس بودن گلوکز را عامل مؤثر برای تغییرات HSP72 در گردنش بازیکنان فوتبال دانست.

#### سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی با عنوان تاثیر مکمل‌های کربوهیدرات و کربوهیدرات-پروتئین بر تغییرات سطوح پروتئین HSP72 و گلوکز خون طی فعالیتهای تناؤی شدید بازیکنان فوتبال می‌باشد. نگارندگان بدین وسیله از پشتیبانی مالی و اجرایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قشم و همه افرادی که به نحوی در انجام پژوهه همکاری داشته‌اند صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند.

#### • References

1. Saunders MJ. Coingestion of carbohydrate-protein during endurance exercise: influence on performance and recovery. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2007; 17:87-103.
2. Bangsbo J, Mohr M, Krustrup P. Physical and metabolic demands of training and match-play in the elite football player. *J Sports Sci* 2006; 24(7):665-74.
3. Currell K, Conway S, Jeukendrup AE. Carbohydrate ingestion improves performance of a new reliable test of soccer performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2009; 19(1):34-46.
4. Abbey EL, Rankin JW. Effect of ingesting a honey-sweetened beverage on soccer performance and exercise-induced cytokine response. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2009; 19(6):659-72.
5. Ali A, Williams C. Carbohydrate ingestion and soccer skill performance during prolonged intermittent exercise. *J Sports Sci* 2009; 27(14): 1499-508.
6. Ivy JL. Regulation of muscle glycogen repletion, muscle protein synthesis and repair following exercise. *J Sports Sci Med* 2004; 3(3):131-8.
7. Ivy JL, Goforth HW Jr, Damon BM, McCauley TR, Parsons EC, Price TB. Early postexercise muscle glycogen recovery is enhanced with a carbohydrate-protein supplement. *J Appl Physiol* 2002; 93 (4): 1337-44.
8. Wojcik JR, Walber-Rankin J, Smith LL, Gwazdauskas FC. Comparison of carbohydrate and milk-based beverages on muscle damage and

تمرین است. از طرفی *Febbraio* در پژوهش خود افزایش HSP70 سرمی را به همراه عدم تغییر معنی دار بیان پروتئین HSP70 و میزان گلیکوژن عضلانی گزارش کرد و در دسترس بودن گلوکز طی فعالیت را مسئول پاسخ به HSP در گردش بیان کردند (۱۵).

پروتئین‌های شوک گرمایی نقش‌های مختلفی دارند؛ مانند کمک به سیستم ایمنی بدن و دفاع آنتی‌اکسیدانی و مثل آن‌ها با رادیکال‌های آزاد ناشی از فعالیت‌های ورزشی بلندمدت مقابله می‌کنند (۲۷-۲۹، ۱۱، ۱۸). برخی تحقیقات هم نتایج مشابهی در کاهش میزان HSP72 طی مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها گزارش کردند که با کاهش رادیکال‌های آزاد همراه بوده است (۱۶، ۱۸).

صرف مکمل‌های کربوهیدراتی باعث کاهش شاخص‌های التهابی و رادیکال‌های آزاد می‌شود. مصرف مکمل‌های کربوهیدراتی به تنها یا همراه با پروتئین می‌تواند اثرات مثبتی بر عملکرد سیستم ایمنی داشته باشد و به این ترتیب از آسیب‌های احتمالی جلوگیری کند. عملکردهای ورزشی بلند مدت، سطح گلیکوژن عضلات فعالیت‌های ورزشی از این نظر مثبت است. این اثراخواهی از این‌جهت این‌که اسکلتی در حال انقباض کاهش می‌دهد و در پاسخ به بحران ابرازی به ویژه کاهش ذخایر گلیکوژن آزادسازی IL-6 از عضلات اسکلتی رخ می‌دهد (۲۳). بنابراین، آزادسازی IL-6 از عضلات در حال انقباض ممکن است پیامی به کبد برای افزایش تولید گلوکز باشد تا افت گلوکز خون ناشی از ورزش جلوگیری کند. مصرف کربوهیدرات‌ها در زمان ورزش با فراهم کردن یک منبع بیرونی گلوکز، به حفظ غلظت گلوکز کمک می‌کند و غلظت سیستمیک IL-6 را کاهش می‌دهد (۲۳، ۱۵). *Chang* و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی تأثیر مصرف برگ‌های خشک سیب‌زمینی شیرین (حاوی مواد آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل و فلاونوئید) طی ۱ ساعت دویدن

- glycogen following exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2001; 11(4):406-19.
9. Gunnarsson T, Bendiksen M, Bischoff R, Christensen P, Lesivig B, Madsen K, et al. Effect of whey protein and carbohydrate-enriched diet on glycogen resynthesis during the first 48 h after a soccer game. *Scand J Med Sci Sports* 2011.
  10. McCleave EL, Ferguson-Stegall L, Ding Z, Doerner III PG, Wang B, Kammer LM, et al. A low carbohydrate-protein supplement improves endurance performance in female athletes. *J Strength Cond Res* 2011; 25(4):879-88.
  11. Betts JA, Toone RJ, Stokes KA, Thompson D. Systemic indices of skeletal muscle damage and recovery of muscle function after exercise: effect of combined carbohydrate-protein ingestion. *J Strength Cond Res* 2007; 21(2):321-9.
  12. Yamada P, Amorim F, Moseley P, Schneider S. Heat shock protein 72 response to exercise in humans. *Sports medicine* 2008; 38(9):715-33.
  13. 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. *J Physiol* 2002; 538(Pt 3):911-7.
  14. Febbraio M, Koukoulas I. HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 2000; 89(3):1055-60.
  15. 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 Chaperones* 2004; 9(4):390-6.
  16. Fischer CP, Hiscock NJ, Basu S, Vessby B, Kallner A, Sjöberg LB, et al. Vitamin E isoform-specific inhibition of the exercise-induced heat shock protein 72 expression in humans. *J Appl Physiol* 2006;100(5):1679-87.
  17. Gleeson M, Nieman DC, Pedersen BK. Exercise, nutrition and immune function. *J Sports Sci* 2004; 22(1):115-25.
  18. Asea AAA, Pedersen BK. Heat shock proteins and whole body physiology. New York: Springer Verlag; 2010.
  19. Whitham M, Walker GJ, Bishop NC. Effect of caffeine supplementation on the extracellular heat shock protein 72 response to exercise. *J Appl Physiol* 2006; 101(4):1222-7.
  20. Khassaf M, McArdle A, Esanu C, Vasilaki A, McArdle F, Griffiths R, et al. Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. *J Physiol* 2003; 549(2):645-52.
  21. Bradley PS, Mohr M, Bendiksen M, Randers M, Flindt M, Barnes C, et al. Sub-maximal and maximal Yo-Yo intermittent endurance test level 2: heart rate response, reproducibility and application to elite soccer. *Eur J Appl Physiol* 2011; 111(6):969-78.
  22. Esposito F, Impellizzeri FM, Margonato V, Vanni R, Pizzini G, Veicsteinas A. Validity of heart rate as an indicator of aerobic demand during soccer activities in amateur soccer players. *Eur J Appl Physiol* 2004; 93(1-2):167-72.
  23. Saunders MJ, Luden ND, Herrick JE. Consumption of an oral carbohydrate-protein gel improves cycling endurance and prevents postexercise muscle damage. *J Strength Cond Res* 2007; 21(3):678-84.
  24. Baty JJ, Hwang H, Ding Z, Bernard JR, Wang B, Kwon B, et al. The effect of a carbohydrate and protein supplement on resistance exercise performance, hormonal response, and muscle damage. *J Strength Cond Res* 2007; 21(2):321.
  25. Niles ES, Lachowetz T, Garfi J, Sullivan W, Smith JC, Leyh BP, et al. Carbohydrate-protein drink improves time to exhaustion after recovery from endurance exercise. *Journal of Exercise Physiology* 2001; 4(1):45-52.
  26. Kuo C, Browning K, Ivy J. Regulation of GLUT4 protein expression and glycogen storage after prolonged exercise. *Acta Physiol Scand* 1999; 165(2):193-201.
  27. Morton JP, Croft L, Bartlett JD, MacLaren DPM, Reilly T, Evans L, et al. 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* 2009; 106(5):1513-21.
  28. Banfi G, Malavazos A, Iorio E, Dolci A, Doneda L, Verna R, et al. Plasma oxidative stress biomarkers, nitric oxide and heat shock protein 70 in trained elite soccer players. *Eur J Appl Physiol* 2006; 96(5):483-6.
  29. Costa RJ, Oliver SJ, Laing SJ, Waiters R, Bilzon JL, Walsh NP. Influence of timing of post exercise carbohydrate-protein ingestion on selected immune indices. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2009; 19(4):366-84.
  30. Pedersen BK. Edward F. Adolph distinguished lecture: muscle as an endocrine organ: IL-6 and other myokines. *J Appl Physiol* 2009; 107(4):1006-14.
  31. White JP, Wilson JM, Austin KG, Greer BK, St John N, Panton LB. Effect of carbohydrate-protein supplement timing on acute exercise-induced muscle damage. *J Int Soc Sports Nutr* 2008;5(1):1-7.
  32. Chang WH, Hu SP, Huang YF, Yeh TS, Liu JF. Effect of purple sweet potato leaves consumption on exercise-induced oxidative stress and IL-6 and HSP72 levels. *J Appl Physiol* 2010; 109(6):1710-5.

## A comparison of the effects of Carbohydrate and Carbohydrate-Protein supplements on heat shock protein 72(HSP72) during intermittent soccer activities

Hashemi A<sup>1</sup>, Faramarzi M<sup>2</sup>, Bargharar M<sup>3</sup>, Khazani A<sup>4</sup>, Amani S<sup>5</sup>, Banitalebi E<sup>5</sup>

- 1- \*Corresponding author: Lecturer, Dept. Physical Education, Faculty of Humanities, Islamic Azad University, Geshm Branch, Ardebil, Iran. Email: ayoub\_gol\_khandeh@yahoo.com
- 2- LecturerAssociate Prof, Dept. physical Education, Faculty of Humanities, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
- 3- Lecturer, Dept. Physical Education, Faculty of Humanities, Islamic Azad University, Geshm Branch, Ardebil, Iran.
- 4- Ph.D student in Exercise Physiology, Faculty of Humanities, Islamic Azad University, Ardebil Branch, Ardebil, Iran
- 5- Ph.D student in Exercise Physiology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Received 15 Jan, 2012

Accepted 17 Mar, 2012

**Background and Objective:** The main purpose of this study was to compare the effects of Carbohydrate and Carbohydrate-Protein supplements on heat shock protein 72(HSP72) during intermittent soccer activities.

**Materials and Methods:** 24 soccer players of super clubs were selected and divided into 3 groups of carbohydrate (CHO), carbohydrate-protein (CHO-PRO) and placebo (P). Intermittent activities included 24 trials of modified Ekblom tests or soccer simulation activities. Subjects ingested drinks before, during and 1 hour after intermittent activities. Blood samples were collected before (baseline), immediately, 1 hour and 24 hours after simulated intermittent activities. HSP72 levels, Insulin and blood Glucose counts, were measured using Elisa Kit.

**Results:** The results showed significant differences in HSP72 levels, Insulin and blood Glucose levels, immediately and 1 hour after intermittent activities of CHO and CHO-PRO groups compared to placebo group ( $p \leq 0.05$ ). But, there was no significant difference between CHO and CHO-PRO group. In addition, significant increases in HSP72, Insulin and blood Glucose were shown immediately and 1 hour after intermittent activities in CHO-PRO, CHO and P compared to baseline.

**Conclusion:** The results indicated that ingestion of carbohydrate with additional protein before, during and 1 hour after soccer simulation intermittent activities did not attenuate HSP72, Insulin and blood Glucose compared to when the carbohydrate was ingested alone. While, in both CHO-PRO and CHO groups significant differences were shown in HSP72, Insulin and blood Glucose levels compared to P group. Thus, glucose availability during exercise affects the circulating HSP72 response in soccer players.

**Keywords:** Carbohydrate supplement, Carbohydrate-protein supplement, HSP72, Intermittent activities