مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هفتم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۱، صفحات ۵۰-۴۳

تأثیر مصرف تک مرحله‌ای مکمل کافئین بر غلظت سرمی کورتیزول، HSP72 و تعداد گویچه‌های سفید خون در مردان ورزشکار

بهرام جمالی قراخانلو[۱]، اکرم آمقانی[۲]، اصغر توفیقی[۳]، علی جمالی[۴]، محمدرضا شیری[۵]

۱- نویسنده مسئول: کارشناس‌ارشد فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز. پست الکترونیکی: jamali.bahram1980@gmail.com
۲- کارشناس‌ارشد فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۳- استادیار گروه فیزیولوژی، گروه تربیت بدنی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه
۴- کارشناس‌ارشد تربیت بدنی، اداره کل ورزش و جوانان استان آذربایجان‌شرقی
۵- دانشجوی دکترای علوم تغذیه، پردیس بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱/۲۷

چکیده

سابقه و هدف: تمرین‌های وامانده‌ساز و فعالیت‌های ورزشی طولانی مدت ممکن است زمینه بروز اختلال در کارایی اجزای سیستم ایمنی را فراهم سازند. مصرف کافئین قبل از فعالیت ورزشی روی پاسخ ایمنی بدن اثرگذار است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر مصرف تک‌مرحله‌ای مکمل کافئین بر غلظت سرمی هورمون کورتیزول *HSP72* و تعداد گویچه‌های سفید خون مردان ورزشکار به دنبال یک جلسه فعالیت هوازی وامانده‌ساز بود.

مواد و روش‌ها: ۲۴ دونده استقامتی و سه‌گانه‌کار به شکل تصادفی به دو گروه دارونما و مکمل تقسیم شدند. یک ساعت قبل از اجرای آزمون اصلی، آزمودنی‌های گروه مکمل ۶ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم از وزن بدنشان مکمل کافئین و گروه دارونما نیز همزمان به همان میزان سلولز (پلاسبو) دریافت کردند. آزمون، دویدن فزاینده روی نوارگردان تاحد واماندگی بود (تست *Bruce*). قبل (ناشتا) و بلافاصله پس از اجرای آزمون از ورید آنتی‌کوبیتال خون گرفته شد. پس از سانتریفوژ و تهیه سرم، مقادیر *HSP72* و کورتیزول به روش *ELISA* اندازه‌گیری و تعداد گویچه‌های سفید خون به شیوه *H1* شمارش شد. پس از آزمون، فرض طبیعی بودن توزیع متغیرها از آزمون آماری تی مستقل و مدل‌های خطی آمیخته استفاده شد. سطح معنی‌داری در سطح آلفای ۵٪ در نظر گرفته شد، همچنین جهت تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار $SPSS_{16}$ استفاده شد

یافته‌ها: نتایج آزمون تی مستقل نشان داد که میانگین تغییر شاخص‌های *HSP72* و کورتیزول سرمی پس از فعالیت هوازی وامانده‌ساز در دو گروه مکمل و دارونما به شکل معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵)؛ اما در شمار گویچه‌های سفید خون تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج مدل‌های خطی آمیخته نشان داد که مکمل کافئین بر تغییرات *HSP72* و کورتیزول سرمی مردان ورزشکار تأثیر معنی‌داری دارد (P>۰/۰۵) ولی روی گویچه‌های سفید خون تأثیر معنی‌داری ندارد (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: طبق نتایج حاصل از پژوهش حاضر احتمالاً مصرف مکمل کافئین قبل از فعالیت هوازی وامانده‌ساز بر سیستم دفاعی و ایمنی ذاتی مردان ورزشکار تأثیر مثبت دارد.

واژگان کلیدی: کافئین، کورتیزول، *HSP72* ، گویچه‌های سفید خون، فعالیت هوازی و امانده‌ساز

• مقدمه

سیستم ایمنی بسیار پیچیده و برای حفظ سلامتی بدن ضروری است. اختلال در عملکرد این سیستم می‌تواند به طیف وسیعی از بیماری‌ها منجر شود. در سال‌های اخیر، پزشکان و دانشمندان درباره تعامل پیچیده بین ورزش و عملکرد سیستم ایمنی بدن تحقیق فراوانی کرده‌اند (۱).

تحقیقات نشان داده است که فعالیت بدنی ملایم و سبک احتمالاً باعث بهبود برخی عملکردها در سیستم دفاعی بدن می‌شود (۲). هم‌چنین، تمرین‌های طاقت‌فرسا و فعالیت‌های ورزشی سنگین و طولانی مدت مانند دوی ماراتون، فوق ماراتون و ورزش سه‌گانه ممکن است زمینه ایجاد اختلال در کارایی اجزای سیستم ایمنی را به وجود آورند (۳). فعالیت عضلانی شدید و کوتاه مدت موجب افزایش برخی هورمون‌های استرسی موجود در خون مانند کورتیزول، اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین می‌شود. تغییر در مقادیر این

هورمون‌ها موجب تغییر در پاسخ سیستم دفاعی بدن می شود (۴). هم‌چنین، آزاد شدن هورمون‌های استرسیِ ناشی از فشار فعالیت ورزشی سنگین ممکن است در بروز اختلال سیستم دفاعی بدن و التهاب حاد و مزمن ورزشکار نقش اساسی داشته باشند (۵، ۲) زیرا ورزش به عنوان یک عامل استرس‌زا می‌تواند عملکرد ایمنی را تغییر دهد. استرس از راه متغیرهای گوناگونی بر شاخص‌های ایمنی تأثیر می‌گذارد شامل: ویژگی‌های استرس (طول، شدت)، نوع ایمنی (ذاتی، اکتسابی) و ویژگی‌های ارگانیسم (سن و وضعیت فعالیت بدنی) می‌باشد. با تغییر این متغیرها تأثیر استرس بر دستگاه ایمنی بیش از پیش آشکار می‌شود (۶).

پژوهش‌ها نشان داده است که پروتئین‌های شوک هم برای سلول‌های در معرض استرس و هم برای سلول‌های طبیعی نقش‌های فیزیولوژیکی مهمی دارند (۶). در میان پروتئین‌های شوک، خانواده‌ای معروف به پروتئین‌های شوک حرارتی *HSPs* (Heat Shock Proteins) یا پروتئین‌های استرس و به ویژه *HSP72* از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۸، ۷) که در برابر استرس‌هایی مثل فعالیت بدنی به مقدار زیاد تولید می‌شود و وجود آن در جریان خون افراد سالم نیز گزارش شده است (۱۱-۹). در شرایط فیزیولوژیکی طبیعی *HSP72* ایمنی را تسهیل می‌کند، در حالی که در شرایط پاتوفیزیولوژیکی(آترواسکلروز، آلزایمر، بیماری حاد ریه و التهاب مثانه) این پروتئین، بیماری التهابی را تشدید می‌کند (۱۲). بنابراین، تغییر سطح آن در شرایط استرس می‌تواند به عنوان یک راهکار درمانی مد نظر باشد.

هم‌چنین، فعالیت بدنی به عنوان یک عامل استرس‌زا می‌تواند دستگاه ایمنی را فعال سازد و بر *HSP72* تأثیر مثبت بگذارد (۱۳). به هر حال، القای *HSP72* فقط یک پاسخ ساده به استرس سلولی نیست، بلکه باعث پیشرفت مقاومت به مرگ پس از التهاب یا آسیب سلولی نیز می‌شود (۱۳).

بخش عمده‌ای از عملکرد *HSPs* تحت تنظیم ساختار عصبی سمپاتیک قرار دارد (۱۴). این ساختار تحت تأثیر محرک‌های متنوعی نظیر مکمل کافئین است. مکمل‌یاری کافئین در طول تمرین به تحریک قوی دستگاه عصبی سمپاتیک منجر می‌شود و از آن جا که مکمل‌یاری کافئین سبب القای اپی‌نفرین و احتمالاً پاسخ‌های نوراپی‌نفرین بیشتری به ورزش می‌شود، استفاده از این مکمل برای ورزشکاران شرایط مناسبی را برای ارزیابی نقش کاتکول‌آمین‌ها در تحریک آزادسازی *HSP72* فراهم می‌کند(۱۵). کافئین به عنوان یک عامل نیروزا با تأثیر بر آزادسازی کاتکولامین‌ها در فعالیت‌های ورزشی به منظور بهبود اجرای ورزشکاران توصیه می‌شود (۱۵). پژوهشگران بر این باورند که مصرف کافئین موجب افزایش اسیدهای چرب آزاد و کاهش گلیکولیز و لاکتات خون می‌شود و با به تأخیر انداختن آستانه خستگی موجب ماندگاری ورزشکار در فعالیت‌های بدنی سنگین و طاقت‌فرسا می‌شود (۱۴). کافئین به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی روی محافظت سلول از آسیب-های سلولی مؤثر است (۱۵). این احتمال که کافئین می‌تواند عملکرد ورزشکاران را در رویدادهای ورزشی و فعالیت‌های طولانی مدت ارتقا بخشد، همیشه موضوع مورد علاقه پژوهشگران بوده است (۱۶، ۱۴). در این راستا *Olcina* و همکاران (۲۰۰۶) طی پژوهشی در یک فعالیت پیش‌رونده روی چرخ کارسنج نشان دادند که آزمودنی‌ها با مصرف کافئین آسیب اکسایشی کمتری می‌بینند (۱۷).

کورتیزول در واکنش به استرس آزاد می‌شود. بر این اساس، ممکن است آزادسازی *HSP72* در حین ورزش توسط گلوکوکورتیکوئیدها تحریک شود. تغییرات هورمون کورتیزول به عنوان یک هورمون پاسخگو به استرس، با تغییرات مقادیر *HSP72* همگام است (۱۵). *Whitham* و همکاران (۲۰۰۶) در یک آزمون پیش‌رونده با چرخ کارسنج روی ۱۰ ورزشکار استقامتی نشان دادند که مکمل‌یاری کافئین، غلظت *HSP72* و کورتیزول را پس از تمرین در هر دو گروه پلاسبو و کافئین افزایش داد؛ اما این افزایش در گروه کافئین بالاتر از گروه پلاسبو بود. (۱۵). *Fischer* و همکاران (۲۰۰۶) در پژوهشی با استفاده از ویتامین‌های *E* و *C* در اجرای فعالیت قدرتی با وزنه روی افراد غیرورزشکار و فعال نشان دادند که کورتیزول پلاسما در پاسخ به تمرین فقط در گروه کنترل افزایش داشت. عمده‌ترین یافته مطالعه *Fischer* این بود که مکمل‌یاری ویتامین‌های *E* و *C* از افزایش *HSP72* جلوگیری می‌کند (۱۶). *Peker* و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه‌ای روی ۲۰ دونده استقامتی نشان دادند که کافئین باعث افزایش هورمون کورتیزول سرمی در بعد از تمرین شد؛ اما این افزایش در گروه کافئین پایین‌تر بود (۱۴).

با توجه به نتایج پژوهش‌های اخیر مبنی بر ارتباط بالقوه موجود بین فعالیت بدنی سنگین و تغییر مقدار هورمون‌ها و *HSPs* و میزان ابتلا به عفونت متعاقب فعالیت‌های ورزشی سنگین و عدم توافق بین نتایج گزارش‌ها هنوز حیطه‌های گسترده و قابل بحث و جستجویی در این زمینه موجود است. تحقیق حاضر سعی در روشن ساختن این موضوع دارد که آیا

مصرف مکمل کافئین قبل از فعالیت هوازی وامانده‌ساز بر دستگاه دفاعی بدن تأثیر مثبت دارد یا خیر؟ در این پژوهش، تغییراتی که ممکن است این مکمل در ترشح هورمون کورتیزول و *HSP72* اعمال کند بررسی شده است.

• مواد و روش‌ها

طرح حاضر به شکل نیمه‌تجربی پیش‌آزمون ـ پس‌آزمون با گروه دارونما انجام شد. جامعه آماری شامل ۲۴ مرد ورزشکار (دوندگان نخبه استقامت و ورزشکاران نخبه سه‌گانه) استان آذربایجان‌شرقی بودند که به شکل آماده دسترس و غیر تصادفی انتخاب و سپس به شکل تصادفی در دو گروه دارونما (۱۲ نفر) و مکمل (۱۲ نفر) تقسیم شدند. از آزمودنی‌ها خواسته شد دو هفته قبل از اجرای پروتکل تمرینی هیچ نوع مکمل و مواد دارویی مصرف نکنند و سه روز قبل از آزمون از انجام تمرینات سنگین اجتناب کنند. افراد مورد آزمون فرم رضایت‌نامه آگاهانه و یادآمد تغذیه‌ای ۲۴ ساعته را تکمیل کردند (تکمیل این فرم یادآوری صرفاً برای کنترل رژیم غذایی ۲۴ ساعته آزمودنی‌ها از لحاظ عدم مصرف کافئین و مواد کافئینی بود).

یک روز قبل از آزمون، شاخص‌های تن‌سنجی آزمودنی‌ها اندازه‌گیری شد و آن‌ها از روند کلی طرح و نحوه انجام آزمون آگاهی یافتند. روش انجام سنجش‌های پایه به این ترتیب بود که ابتدا آزمودنی‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در وضعیت درازکش به پشت قرار گرفتند. پس از ۳۰ دقیقه، ضربان پایه آزمودنی‌ها به وسیله ضربان‌سنج دیجیتالی (مدل Polar، ساخت آمریکا) و فشارخون با فشارسنج دیجیتالی (مدل Omoron، ساخت فنلاند) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری متغیرهای زمینه‌ای قد و وزن از دستگاه ترازو و قدسنج دیجیتالی (مدل Seca، ساخت آلمان) استفاده شد. درصد توده چربی بدن با استفاده از دستگاه ضخامت‌سنج (مدل Mikosha، ساخت ژاپن) و فرمول سه‌نقطه‌ای (چین‌های پوستی پشت بازو، شکم و فوق خاصره سمت راست) دانشکده پزشکی ورزشی آمریکا (ACSM)، برای همتاسازی آزمودنی‌ها اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌های چین پوستی در طرف راست بدن انجام گرفت. پس از تعیین میزان ضخامت‌های چین پوستی با دستگاه ضخامت‌سنج، میانگین دو بار اندازه‌گیری هر نقطه از بدن در فرمول ذیل قرار داده شد.

درصد چربی = (۰/۳۹۲۸۷)× (مجموع سه قسمت)× ۰/۰۰۱۰۵- [(سن)×۰/۱۵۷۷۲]+۲(مجموع سه قسمت) -۵/۱۸۸۴۵

همه اندازه‌گیری‌ها در محل *پایگاه ورزش قهرمانی شهرستان تبریز* در دمای (۲۸°C ــ ۲۶)، رطوبت ۵۵ تا ۶۰ درصد، تهویه و نور محیطی یکسان و بین ساعت ۱۰ تا ۱۲ انجام گرفت. نمونه‌های خون در ساعت ۷ صبح روز آزمون از افراد در حالت ناشتا گرفته شد، سپس صبحانه یکسان به آزمودنی‌ها داده شد. یک ساعت قبل از اجرای آزمون اصلی آزمودنی‌های گروه مکمل یک کپسول ۵۰۰ میلی‌گرمی به ازای هرکیلوگرم وزن بدنشان ۶ میلی‌گرم کافئین (دوز تأییدیه WADA) و آزمودنی‌های گروه دارونما به صورت همزمان به همان میزان کپسول سلولز (پلاسبو) دریافت کردند (۱۵). آزمودنی‌ها ۵۰ دقیقه پس از دریافت کپسول ۱۰ دقیقه حرکات کششی و گرم کردن انجام دادند و جهت اجرای آزمون هوازی وامانده‌ساز (*Bruce test*) روی نوارگردان قرار گرفتند و تا زمان واماندگی به فعالیت پرداختند. بلافاصله پس از اتمام آزمون جهت بررسی تغییرات خونگیری انجام شد و نمونه‌های خون به سرعت به آزمایشگاه انتقال داده شدند. پس از سانتریفوژ (مدل *Bekna*، ساخت آمریکا) مقادیر *HSP72* و کورتیزول به ترتیب با استفاده از کیت‌های Stressgen (ساخت کانادا) و IBL (ساخت آلمان) و با استفاده از روش ELISA اندازه‌گیری شد. تعداد گویچه‌های سفید خون با استفاده از دستگاه شمارش‌گر سلولی (مدل Mindray، ساخت آمریکا) و به شیوه *H-1* تعیین شد.

پس از آزمون فرض طبیعی بودن توزیع متغیرها جهت اثرسنجی مکمل کافئین از آزمون آماری مدل‌های خطی آمیخته (SPANOVA) و به منظور تعیین تغییرات میانگین دو گروه از آزمون تی مستقل استفاده شد. سطح معنی‌داری آلفای ۵ درصد($P\leq ۰/۰۵$) در نظر گرفته شد و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار $SPSS_{16}$ انجام گرفت.

• یافته‌ها

ویژگی‌های تن‌سنجی و فیزیولوژیکی آزمودنی‌های پژوهش در جدول ۱ نمایش داده شده است. نتایج آزمون آماری کولموگروف– اسمیرنوف نشان داد که داده‌های حاصل مربوط به همه متغیرها هم در گروه مکمل و هم در گروه دارونما قبل و بعد از فعالیت توزیع نرمال دارند.

نتایج آزمون تی مستقل نشان داد که میانگین تغییرات شاخص‌های *HSP72* و کورتیزول سرمی پس از فعالیت هوازی وامانده‌ساز در دو گروه مکمل و دارونما به شکل معنی‌داری افزایش یافت؛ اما در تعداد گویچه‌های سفید خون تغییر معنی‌داری مشاهده نشد (جدول۲). نتایج آزمون

مدل‌های خطی آمیخته نشان داد که اثر فعالیت بدون در نظر گرفتن اثر گروه در هر سه شاخص فوق معنی‌دار است. از طرفی، اثر متقابل فعالیت و گروه در *HSP72* و کورتیزول معنی‌دار است (جدول۳). بنابراین، مکمل کافئین بر تغییر غلظت‌های سرمی *HSP72* و کورتیزول مردان ورزشکار تأثیر معنی‌داری داشته است. همچنین با توجه به این‌که اثر متقابل فعالیت و گروه در شاخص گویچه‌های سفید خون معنی‌دار نیست، می‌توان گفت که مکمل کافئین بر تعداد گویچه‌های سفید خون مردان ورزشکار تأثیر معنی‌داری نداشته است (جدول۳).

جدول۱. ویژگی‌های تن‌سنجی و فیزیولوژیکی آزمودنی‌های پژوهش

	گروه مکمل (n=12)	گروه دارونما (n=12)	p value
سن (years)	۲۲/۸±۲/۳*	۲۱/۹±۳/۶	۰/۸۸۹
قد (cm)	۱۷۵/۶±۳/۸	۱۷۳/۳±۵/۲	۰/۷۲۵
وزن (kg)	۷۰/۸±۴/۷	۷۱/۵±۳	۰/۶۶۸
درصد چربی بدن (٪)	۹/۲۱±۲/۷۲	۹/۱۵±۲/۸۸	۰/۹۵۵
حداکثر توان هوازی (ml·kg-1·min-1)	۶۱/۵±۱/۸	۶۰/۱±۲/۳	۰/۷۷۵
فشار سیستولی (mm Hg)	۱۲۰±۱۲	۱۱۶±۱۷	۰/۴۵۵
فشار دیاستولی (mm Hg)	۸۲±۰/۷	۸۳±۰/۹	۰/۶۶۵
ضربان قلب پایه (per minute)	۵۲±۵	۵۴±۴	۰/۷۷۷

* مقادیر به شکل انحراف معیار ± میانگین بیان شده است.

جدول ۲. مقایسه میزان تغییرات *HSP72* ، کورتیزول و گویچه‌های سفید خون در دو گروه مکمل و دارونما

متغیر وابسته	گروه	اختلاف میانگین	آزمون لوین		آزمون t		
			آماره F	p value	آماره t	df	p value
تغییرات Hsp72	مکمل	۰/۰۸±۰/۰۴۲	۱۱/۰۴	۰/۰۰۴	۲/۳۳۷	۹/۲۴۳	۰/۰۴۴*
(میلی لیتر /نانوگرم)	دارونما	۰/۳۵±۰/۳۶۳					
تغییرات کورتیزول	مکمل	۴۴/۵۲±۱۵/۷۲	۳/۹۱۱	۰/۰۶۴	۱/۷۵۶	۱۸	۰/۰۳۶*
(میلی لیتر /پیکوگرم)	دارونما	۵۷/۶۹±۱۸/۱۴					
تغییرات گویچه‌های سفید خون	مکمل	۴/۳۹±۱/۰۰۴	۱/۴۰۱	۰/۲۵۲	۲/۲۰۶	۱۸	۰/۰۵۱
(۱۰۰۰/میلی لیتر)	دارونما	۵/۶۷±۱/۵۳۶					

* (P<۰/۰۵)

جدول۳. نتایج مدل‌های خطی آمیخته *HSP72* ، کورتیزول و گویچه‌های سفید خون در دو گروه مکمل و دارونما

	منبع تغییر	مجذور مربعات	df	میانگین مربعات	F	p value	مجذور اتا
Hsp72 (میلی لیتر /نانوگرم)	اثر فعالیت	۰/۴۶۲	۱	۰/۴۶۲	۱۳/۸۵۶	*۰/۰۰۲	۰/۴۳۵
	اثر گروه	۰/۱۵۶	۱	۰/۱۵۶	۱/۹۵۸	۰/۱۷۹	۰/۰۹۸
	اثر متقابل فعالیت × گروه	۰/۱۸۲	۱	۰/۱۸۲	۵/۴۶۳	*۰/۰۳۱	۰/۲۳۳
	خطا	۰/۶۰۱	۲۲	۰/۰۳۳			
کورتیزول (میلی لیتر /پیکوگرم)	اثر فعالیت	۱۵۶۸۴/۷۶۸	۱	۱۵۶۸۴/۷۶۸	۲۰۰/۱۵۷	*۰/۰۰۱	۰/۹۱۷
	اثر گروه	۹۲۲۴/۵۸۴	۱	۹۲۲۴/۵۸۴	۱۲/۴۳۶	*۰/۰۰۲	۰/۴۰۹
	اثر متقابل فعالیت × گروه	۲۴۱/۷۶۹	۱	۲۴۱/۷۶۹	۳/۰۸۵	*۰/۰۴۶	۰/۱۴۶
	خطا	۱۴۱۰/۵۲۳	۲۲	۷۸/۳۶۲			
گویچه‌های سفید خون (۱۰۰۰/میلی لیتر)	اثر فعالیت	۲۵۳/۰۰۹	۱	۲۵۳/۰۰۹	۳۰۰/۵۰۶	*۰/۰۰۱	۰/۹۴۳
	اثر گروه	۲/۷۰۴	۱	۲/۷۰۴	۰/۳۳۸	۰/۵۶۸	۰/۰۱۸
	اثر متقابل فعالیت × گروه	۴/۰۹۶	۱	۴/۰۹۶	۴/۸۶۵	۰/۰۶۱	۰/۲۱۳
	خطا	۱۵/۱۵۵	۲۲	۰/۸۴۲			

* (P<۰/۰۵)

• بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که مکمل کافئین تأثیر معنی‌داری بر تعداد گویچه‌های سفید خون مردان ورزشکار به دنبال فعالیت هوازی وامانده‌ساز ندارد، اما از افزایش زیاد این شاخص در گروه مکمل جلوگیری می‌کند. پژوهشگران بر این باورند که با افزایش آسیب عضلانیِ ناشی از فعالیت ورزشی، تعداد گویچه‌های سفید خون زیاد می‌شود. بر این اساس، فعالیت ورزشی وامانده‌ساز باعث آسیب سلول-عضلانی، تحریک دستگاه ایمنی و درنتیجه تجمع گویچه‌های سفید به ویژه نوتروفیل‌ها می‌شود (۱۸، ۱۷). به همین دلیل، یک سازوکار احتمالی در ارتباط با افزایش کمتر تعداد گویچه‌های سفید در گروه مکمل، می‌تواند آسیب کمتر - عضلانی باشد. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که مصرف مکمل کافئین و متعاقب آن اکسایش بیشتر اسیدهای چرب توسط سلول‌های عضلانی، ذخایر اسید آمینه درون عضلانی را حفظ می‌کند و میزان کاتابولیسم پروتئین در این موضع را کاهش می‌دهد (۱۴). به دنبال این پدیده میزان آسیب سلول عضلانی کمتر می‌شود و رهاسازی شاخص‌های آسیب عضلانی نظیر کراتین‌کیناز در جریان خون نیز کمتر می‌شود. این امر به نوبه خود باعث تحریک کمتر دستگاه ایمنی و در نتیجه، کمتر شدن لکوسیتوز ناشی از فعالیت می‌شود (۱۷). کاهش کمتر این شاخص در گروه مکمل نسبت به گروه دارونما با نتایج *Vimercatti* و همکاران (۲۰۰۸) (۱۹) و *Bassini* و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت دارد (۲۰).

گزارش شده است که تمرین وامانده‌ساز روی دستگاه اعصاب مرکزی اثرگذار است و باعث افزایش فعالیت محور (هیپوتالاموس ـ هیپوفیز ـ آدرنوکورتیکال) می‌شود (۲۱). فعالیت بدنی با افزایش تولید آدرنوکورتیکوتروپین در هیپوفیز به افزایش ترشح کورتیزول منجر می‌شود (۲۱). افزایش ترشح کورتیزول با توجه به ظرفیت تمرینی افراد، تابع شدت تمرین است. تفاوت‌های فردی نیز در پاسخ گلوکوکورتیکوئیدها به تمرین به ویژه در افرادی که خوب تمرین می‌کنند، تأثیر بیشتری دارد؛ زیرا کورتیزول در حین تمرین‌های شدید آزاد می‌شود(۲۲). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مکمل کافئین بر غلظت کورتیزول سرمی مردان ورزشکار پس از فعالیت هوازی وامانده‌ساز تأثیر معنی‌داری دارد و از افزایش بیش از حد این هورمون جلوگیری می‌کند. در همین راستا *Peker* و همکاران(۲۰۰۵) و *Nieman* و همکاران (۲۰۰۱) در پژوهشی با مصرف کافئین و کربوهیدرات جلوگیری از افزایش سطوح کورتیزول پلاسمایی را نشان دادند (۲۳، ۱۴). افزایش کمتر ترشح کورتیزول در گروه مکمل ممکن است دلیلی برای ایمنی و سلامتی طولانی مدت باشد؛ زیرا کورتیزول می تواند پاسخ های سیستم ایمنی را تغییر دهد (۲۴). *Beaven* و همکاران (۲۰۰۸) در توجیه این سازوکار بیان می‌کنند که مصرف مکمل کافئین مانع کاتابولیسم پروتئین می‌شود. بر این اساس، مصرف این مکمل قبل از فعالیت استقامتی با مهار ترشح هورمون کورتیزول، غلظت‌های هورمون رشد را افزایش می‌دهد و موجب حفظ غلظت تستوسترون پلاسما می‌شود. در نتیجه، فرایندهای آنابولیک ادامه پیدا می‌کنند (۲۵).

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که مکمل کافئین تأثیر معنی‌داری بر غلظت *HSP72* سرمی مردان ورزشکار به دنبال فعالیت هوازی وامانده‌ساز دارد و از افزایش زیاد این شاخص در گروه مکمل جلوگیری می‌کند. در هر حال واضح است که ورزش و فعالیت بدنی به عنوان یک عامل استرس‌زا در تحریک سیستم دفاعی بدن نقش اساسی دارد (۲۶). بنابراین *HSP72* متعاقب ورزش و فعالیت بدنی به عنوان حساس‌ترین پاسخگوی سیستم ایمنی ذاتی بدن در جهت افزایش حمایت و محافظت سلولی از آسیب‌های استرسی شروع به افزایش می‌کند (۱۳). پژوهشگران بر این باورند که آستانه مشخصی برای پاسخ این پروتئین به استرس وجود دارد. بر این اساس، افزایش بهینه این پروتئین به عنوان یک علامت خطر موجب افزایش فراخوانی عوامل التهابی و ایمنی به جریان خون می‌شود، در حالی که تشدید فعالیت این عامل و افزایش بیش از حد آن موجب متاستاز و مرگ سازمان‌یافته سلولی به خصوص در گونه‌های توموری می‌شود (۲۷، ۱۳). بنابراین، تعدیل پاسخ این پروتئین به شرایط استرس، رویکرد قابل ملاحظه‌ای است که مورد توجه بسیاری از پژوهشگران این عرصه است (۱۳). گزارش شده است که مکمل کافئین، پاسخ *HSP72* سرمی به استرس تمرین هوازی وامانده‌ساز را تعدیل می‌کند (۱۵). در پژوهش حاضر نیز درصد افزایش کمتر این پروتئین در گروه مکمل نسبت به گروه دارونما مشاهده شد. بنابراین، احتمال می‌رود که افزایش اندک *HSP72* نسبت به گروه دارونما در پاسخگویی به تمرین ناشی از مصرف کافئین باشد. پژوهش‌های *Marshal* (۲۰۰۷) و *Whitham* (۲۰۰۶) در تناقض با مطالعه حاضر بودند (۲۸، ۱۵). *Marshal* سطوح

HSP72 پاسخگو به استرس را بدون تغییر در آزمودنی‌ها گزارش کرد. هم‌چنین، وی کاهش *HSP72* زمان استراحت را متعاقب تمرینات مکرر گزارش کرد. این تفاوت نتایج، احتمالاً ناشی از پاسخ‌گویی زمانی *HSP72* جهت برگشت به مقادیر اولیه خود است. زیرا تمرینات *Marshal* و نمونه‌گیری خون در مطالعه وی در فواصل زمانی فشرده بود که اجازه تعدیل مقادیر افزایش یافته این پروتئین را نمی‌داد(۲۸).

Whitham و همکاران (۲۰۰۷) افزایش *HSP72* پلاسما به دنبال فعالیت روی چرخ کارسنج را در هر دو گروه دارونما و مکمل گزارش کردند و نشان دادند که غلظت این پروتئین در گروه کافئین بلافاصله پس از تمرین به شکل معنی‌داری بالاتر است (۱۵). با این‌حال، باید به این نکته توجه داشت که مطالعه فوق روی پاسخ سیستم عصبی در حضور مکمل کافئین در ورزشکاران استقامتی کار و طی دوره‌های تمرینی طولانی مدت (۹۰ دقیقه‌ای) و با عادت مصرف کافئین صورت گرفته بود. در حالی که آزمودنی‌های پژوهش حاضر افراد ورزشکاری بودند که به مصرف کافئین عادت نداشتند و در یک فعالیت کوتاه‌مدت وامانده‌ساز شرکت کردند. در برخی مطالعات پاسخگویی بیشتر ورزشکاران در مقایسه با افراد غیر ورزشکار در مورد مصرف کافئین گزارش شده است (۱۴،۱۷). *Olcina* و همکاران (۲۰۰۶) پس از یک دوره فعالیت پیش‌رونده روی چرخ کارسنج نشان دادند که گروه کافئین در معرض آسیب سلولی کمتری قرار دارد (۱۸). کافئین به دلیل سازوکار عمل روی رهاسازی کاتکولامین‌ها اجرای ورزشی و افزایش زمان فعالیت را بهبود می‌بخشد. بنابراین، برخی محققان اثرات آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه، محافظت در برابر آسیب سلولی برای کافئین قائل شده‌اند (۱۵).

یافته اصلی مطالعه حاضر این بود که ترکیب محرک کافئین و تمرین به غلظت‌های *HSP72* کمتری منتهی می‌شود. به نظر می‌رسد که مصرف مکمل کافئین در فعالیت‌های کوتاه مدت هوازی به نفع سلول است. در حالی که محققان مصرف این مکمل را طی فعالیت‌های بلندمدت هوازی با آسیب بالای سلولی همراه دانسته‌اند؛ زیرا مصرف مکمل کافئین با افزایش کمّی زمان فعالیت و درنتیجه، تحمل شدت‌های بالای تمرینی و آسیب سلولی بالا همراه است (۱۵).

نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن است که به دنبال فعالیت هوازی وامانده‌ساز، برخی شاخص‌های دستگاه دفاعی و ایمنی ذاتی با مصرف کافئین تغییرات کمتری می‌یابد. احتمال می‌رود که افراد ورزشکار طی تمرین هوازی وامانده‌ساز با مصرف کافئین در معرض چالش ایمنی کمتری قرار بگیرند.

• References

1. Brolinson PG, Elliott D. Exercise and the immune system. Clin Sports Med 2007; 26:311-19.
2. Smith LL, Anwer A, Fragen M. Cytokines and Cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. Eur J Appl Physiol 2000; 82:61-7.
3. Lee IM, Paffenbarger RS, Hennekens CH. Physical activity, physical fitness and longevity. Aging Milano journal 1997; 9:2-11.
4. Steensberg A, Fischer CP, Sacchetti M. Acute interleukin-6 administration does not impair muscle glucose uptake or whole-body glucose disposal in healthy humans. The Journal of Physiology 2003; 548(2):631–8.
5. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. Clin Chim Acta 2007; 383:30-40.
6. Campisi J, Fleshner M. Role of extracellular HSP72 in acute stress-induced potentiation of innate immunity in active rats. J of appl phy 2003; 94:43-52.
7. Desplanches D, Ecochard L, Sempore B, Mayet-Sornay MH, Favier R. Skeletal muscle HSP72 response to mechanical unloading: influence of endurance training. J of Acta Physiologica Scandinavica 2004; 180 (4): 387 -94.
8. Whitham MJ, Walker GC, Bishop N. Effect of blood handling on extracellular HSP72 concentration after high-intensity exercise in humans. J Cell Stress & Chaperones 2006; 11(4): 304-8
9. Ganter M, Ware L, Howard M, Roux J, Gartland B, Matthay M, et al. Extracellular heat shock protein 72 is a marker of the stress protein response in acute lung injury. J of Am j physiol lung cell mol physiol 2006; 291:354-61.

10. Lennon SL, Gammeren D, Clements J. Decline in Myocaridal Antioxidant Enzymes and HSP72 Following Cessation of Exercise Training. J of MSSE 2002; 34 (5):111-116

11. Milne K.J, Nobel E.G. The Exercise-Induced Elevation of HSP72 is Intensity Dependent. J Appl Physiol 2002; DOI 10.1152: 528-557.

12- Fleshner M and Johnson J. D. Endogenous extra-cellular heat shock protein 72: Releasing signal(s) and function 2005; 21(5): 457-71.
13. Febbraio M, Koukoulas I. HSP72 gen expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. J Appl physiol 2000; 89:1055-60.

14. Peker I, Gören Z, Çiloglu F, Karacabey K, Ozmerdivenli R, Saygın Ö . Effects of caffeine on exercise performance, lactate, FFA., triglycerides, prolactin, cortisol and amylase in maximal aerobic exercise. Biotechnol & Biotechnol Eq 2005;16(2):1310-2818.

15. Whitham M, Walker G, Bishop N. Effect of caffeine supplementation on the extracellular heat shock protein72 response to exercise. J Appl physio 2006; 101:1222-7.

16. Fischer CJ, Hiscock N, Basu S, Vessby B, Kallner A, Sjoberg L, et al. Vitamin E isoform-specific inhibition of the exercise-induced heat shock protein 72 expression in human. J Appl physiol 2006; 100:1679-87.

17. Machado M, Vigo JFF, Breder A, Simoes J, Ximenes M, Hackney A. Effect of short term caffeine supplementation and intermittent exercise on muscle damage markers. J of Biol sport 2009; 26:3-11.

18. Olcina GJ, Munoz D, Timon R, Caballero MJ, Maynar JI, Cordova A, et al. Effect of caffeine on oxidative stress during maximum incremental exercise. JSSM 2006; 5:621-8.

19. Vimercatti NS, Zovico PVC, Carvalho AS, Barreto JG, Machado M. Two doses of caffeine do not increase the risk of exercise-induced muscle damage or leukocytosis. PESS 2008;52(-1):96-9.

20. Bassini C, Sweet E, Bottino A, Bittar C, Veiga C, Cameron L. Effect of caffeine supplementation on hematological and biochemical variables in elite soccer players under physical stress conditions. Br J Sports Med 2007; 41:523-30.

21. Karcz-Kubicha M, Antoniou K, Terasmaa A, Quarta D, Solinas M, Justinova Z, et al. Involvement of adenosine A1 and A2a receptors in the motor effects of caffeine after its acute and chronic administration. IJNP 2003; 28:1281-91.

22- Gleeson M. Immune function in sport and exercise. J Appl Physiol 2007; 103: 693-99.

23- Nieman C, Henson A, Smith L. Cytokine changes after a marathon race. J Appl Physiol 2001; 91: 109-14.

24. Lovallo WR, al'Absi M, Blick K, Whitsett TL, Wilson MF. Stress-like adrenocorticotropin responses to caffeine in young healthy men. Pharmacol Biochem Behav 1996; 55:365-69.

25. Beaven C, Hopkins W, Hansen K, Wood M, Cronin J, Lowe T. Effect of caffeine on testosterone and cortisol responses in resistance exercise. Int J Sport Nutr Exerc Metab 2008; 18(2):131-41.

26. Campisi J ,Fleshner M . Role of extracellular HSP72 in acute stress-induced potentiation of innate immunity in active rats. JAP 2003; 94: 43-52.

27. Agha Alinezhad H, Tofighi A , Mohammad Hasan Z, Mahdavi M ,Shahrokhi S. Effect of continuous aerobic exercise on the rate of HSP70 in mice with breast cancer tumor. Iranian Journal of Olympic 2008; 16(42): 75-86. [in Persian]

28. Marshall H, Campbell SA, Roberts W, Craig A, Nimmo M. Human physiological and heat shock protein72 adaptations during the initial phase of humid-heat acclimation. J of thermal biology 2007; 32(6):341-8.

The effect of single stage caffeine supplementation on serum cortisol and HSP72 concentrations and leukocyte count of male athletes

*Jamali B[*1], Ameghani A[2], Tofighi A[3], Jamali A[4], Shiri MR[5]*

1- [*]Corresponding author: M.Sc in Exercise Physiology, Dept. of Physical Education, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran. Email: jamali.bahram1980@gmail.com

2- M.Sc in Exercise Physiology, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran.

3- Assistant Prof , Dept. of Exercise Physiology, Faculty of of Physical Education & Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

4- M.Sc in Physical Education, Sport and Youth of East Azarbaijan province. Iran.

5- Ph.D Student in Nutrition Science, International Campus, *Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*

Received 13 Dec, 2011 **Accepted 15 Apr, 2012**

Background and Objective: Long term and vigorous exercises may lead to a deficiency of the body immune system components. Consuming caffeine supplementation before the exercise can affect the body immune response. The purpose of this study was to evaluate the effect of short-term caffeine supplementation on the defense system and the innate immune index responses in male athletes after an exhaustive aerobic exercise.

Materials and Methods: 24 male endurance athletes were randomly divided into supplement and placebo groups. Exercise testing was an exhaustive treadmill test (Bruce test). One hour before the main test, the supplement group (SUPP) consumed caffeine (6 Mg/BW) and the placebo group (PLA) received Cellulose during testing. Blood samples were collected from anticubital vein before and immediately after exercise testing. After serum collection; Cortisol and eHsp72 concentrations and leukocyte count were determined using ELISA and H1 method respectively. After conformation of normal distribution of variables by kolmogrov-smirnov test, SPANOVA and Independent t test were performed and $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Results: Independent t test results showed that the mean changes of serum cortisol and HSP72 indexes were increased significantly in SUPP and PLA group ($P<0.05$) after exhaustive aerobic exercise; but there was no significant change in the leukocytes count. Also, SPANOVA test showed that caffeine supplementation has significantly changed Hsp72 and serum cortisol levels in male athletes ($P<0.05$) while it has no significant effect on serum leukocytes ($P>0.05$).

Conclusion: findings show that consuming caffeine supplementation prior to short-term exhaustive aerobic exercise possibly has positive effect on the innate immune system and the body's defensive apparatus.

Keywords: Caffeine, Cortisol, Hsp72, Leukocyte, Exhaustive aerobic exercise