

## تأثیر مکمل‌یاری کربوهیدرات- پروتئین با نسبت‌های مختلف بر سطوح سایتوکاین‌های IL-6 و IL-10 پلاسما بعد از فعالیت با شدت بالا در دختران جوان سالم

مختار نصیری فارسانی<sup>۱\*</sup>، مونا سرحدی<sup>۲</sup>، فرزانه رحمانی<sup>۳</sup>، کیانا حسن‌زاده<sup>۳</sup>

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران  
 ۲. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تاکستان، دانشگاه آزاد اسلامی، تاکستان، ایران  
 ۳. دبیر آموزش و پرورش، کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، ایران

### چکیده

تاریخ دریافت: ۲۴ مهر ۱۳۹۴  
 تاریخ پذیرش: ۱۸ اردیبهشت ۱۳۹۵

**اهداف** تحقیقات پیشین افزایش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی را متعاقب فعالیت شدید بدنی نشان داده‌اند. هدف پژوهش حاضر تعیین اثر تغییر نسبت مکمل‌یاری کربوهیدرات- پروتئین بر پاسخ سایتوکاین‌های IL-6 و IL-10 پس از فعالیت شدید در دختران جوان سالم بود.

**مواد و روش‌ها** تعداد ۲۷ دختر جوان سالم با دامنه سنی ۲۰-۲۵ سال در گروه‌های دارونما، کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۱:۳ و کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۱:۴ تقسیم شدند. پس از ناشتایی شبانه، در ساعت ۸ صبحانه‌ای استاندارد به آزمودنی‌ها داده شد. در ساعت ۱۰، نمونه‌ها آزمون بی‌هوای RAST را اجرا کردند. مکمل در سه نوبت پیش از آزمون، پس از آزمون و یک ساعت پس از آزمون مصرف شد. خون‌گیری پیش از آزمون، بلافاصله پس از آزمون و دو ساعت پس از آزمون انجام شد. آزمون‌های آنالیز واریانس چندگانه و آنالیز واریانس با اندازه‌گیری مکرر در بررسی داده‌ها استفاده شد. سطح معناداری  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها** در هر سه گروه پس از فعالیت سایتوکاین‌های IL-6 و IL-10 به‌طور معناداری افزایش یافت. دو ساعت پس از فعالیت IL-6 کاهش یافت ولی IL-10 هنوز بالا باقی‌ماند. سایتوکاین‌های IL-6 و IL-10 در بین گروه‌ها تفاوت معناداری نداشت، هر چند در گروه مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ تمایل به بالاماندن IL-10 و کاهش بیشتر IL-6 در دو ساعت بعد از فعالیت وجود داشت.

**نتیجه‌گیری** مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ تا حدی موجب بهبود پاسخ سایتوکاینی در دو ساعت بعد از فعالیت با شدت بالا شد.

### کلیدواژه‌ها:

اینترلوکین ۶، اینترلوکین ۱۰، آزمون رست، پروتئین وی، مکمل یاری کربوهیدرات.

### مقدمه

شدید تحقیقات کمتری صورت گرفته است و در نتایج این مطالعات تناقض وجود دارد. برنر و همکاران [۳] نشان دادند که ۵ دقیقه دوچرخه‌سواری در ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی تغییری در غلظت اینترلوکین ۶ (IL-6) و اینترلوکین ۱۰ (IL-10) ایجاد نمی‌کند. زولات و همکاران [۴] پس از فعالیت تناوبی با شدت بالا (۸ تناوب ۶۰ ثانیه‌ای دوچرخه‌سواری با ۷۵ ثانیه استراحت فعال) افزایش IL-6 را بلافاصله بعد از فعالیت و افزایش IL-10 را ۴۵ دقیقه بعد از فعالیت نشان دادند. مطالعات متعدد از عوامل تغذیه‌ای متفاوتی برای کاهش

بیشتر آثار فعالیت ورزشی بر سیستم ایمنی با هورمون‌هایی از قبیل آدرنالین، کورتیزول و هورمون رشد و سایتوکاین‌های پیش و ضد التهابی ایجاد می‌شود [۱]. آثار سایتوکاینی ایجادشده به‌وسیله فعالیت ورزشی به تعادل بین سایتوکاین‌های پیش التهابی (IL-1، IL-6 و TNF- $\alpha$ ) و سایتوکاین‌های ضد التهابی (IL-4 و IL-10) بستگی دارد [۲]. بیشتر تحقیقات صورت گرفته روی پاسخ سایتوکاین‌ها به فعالیت ورزشی از فعالیت‌های طولانی‌مدت استفاده کرده‌اند و در مورد فعالیت‌های

\* نویسنده مسئول: مختار نصیری فارسانی

نشانی: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قزوین

تلفن: ۰۹۱۳۲۸۴۴۴۷۸

رایانه: nasiri.mokhtar@yahoo.com .nasiri.mokhtar@gmail.com

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۴، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۶، ص ۳۳۹-۳۴۵.

آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانه: [journal@medsab.ac.ir](mailto:journal@medsab.ac.ir)

شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

این آثار فعالیت استفاده کرده‌اند. مکمل کربوهیدرات با حفظ سطوح بالای گلوکز پلاسمایی موجب می‌شود که افزایش در آبی‌نفرین و کورتیزول و سایتوکاین‌های پیش و ضد التهابی کمتر باشد [۵]. موریرا و همکاران [۶] در مطالعه‌ای مروری با بررسی تعداد زیادی از مطالعات صورت گرفته این نتیجه حاصل شد که دریافت کربوهیدرات قبل یا هنگام فعالیت در برخی مطالعات بدون اثر و در برخی دیگر موجب کمتر شدن افزایش سایتوکاین‌های IL-6 و IL-10 پس از فعالیت‌های عمدتاً استقامتی می‌شود.

همچنین، اسیدهای آمینه شاخه‌دار (BCAA) به آلفا-کتوگلوئارات، سپس به گلوئامات و در نهایت به گلوئامین تبدیل می‌شوند. سلول‌های ایمنی از قبیل لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها از مقادیر بالایی گلوئامین استفاده می‌کنند و شاخص‌های عملکردی بسیاری در سیستم ایمنی مانند تکثیر سلول T، تقسیم لنفوسیت B، فاگوسیتوز ماکروفاژ، عرضه آنتی‌ژن و تولید سایتوکاین با گلوئامین ارتقا می‌یابد [۷].

برخی محققان از مکمل ترکیبی کربوهیدرات- پروتئین با احتمال اثربخشی بیشتر استفاده کرده‌اند. جامعه بین‌المللی تغذیه ورزشی بیان کرده است که افزودن پروتئین به کربوهیدرات به نسبت ۱ به ۳ یا ۱ به ۴ عملکرد را بهبود می‌بخشد، سنتز پروتئین و سنتز مجدد گلیکوژن را افزایش می‌دهد و از آسیب عضلانی پس از فعالیت‌های مقاومتی جلوگیری می‌کند [۸]. مطالعه متاآنالیز استرنز و همکاران [۹] نشان داد که افزودن پروتئین به کربوهیدرات موجب افزایش ۷/۴ درصدی عملکرد در مقایسه با نوشیدنی با کربوهیدرات برابر شد، اما در مطالعات با کالری برابر، ۴ درصد افزایش دیده شد. همچنین، مطالعات تحریک بیشتر درون سلولی سنتز پروتئین پس از دوچرخه سواری طولانی مدت [۱۰]، کاهش HSP 72 (شاخص استرس) پس از اجرای تناوبی شدید در فوتبالیست‌های باشگاهی [۱۱]، کاهش میزان کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز و درد عضلانی بعد از فعالیت مقاومتی برون‌گرا در مردان داوطلب غیرورزشکار [۱۲] و کاهش لاکتات خون و pH ادرار پس از فعالیت‌های شدید تناوبی دوچرخه سواری [۱۳] را با مصرف ترکیب مکمل کربوهیدرات- پروتئین نشان داده‌اند.

این همه، در مطالعات نسبت دقیق مکمل کربوهیدرات- پروتئین بررسی و تعیین نشده است و این سؤال مطرح است که تغییر نسبت مکمل کربوهیدرات- پروتئین چه اثری بر پاسخ سایتوکاین‌های IL-6 و IL-10 دارد. همچنین، پاسخ سایتوکاین‌های IL-6 و IL-10 به فعالیت با شدت بالا و کوتاه‌مدت به خوبی بررسی نشده است. تحقیق حاضر در جهت پاسخ به این پرسش‌ها انجام شده است.

### مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر از نمونه‌های انسانی استفاده شد. روش تحقیق حاضر از نوع تمام تجربی و کاربردی است. اجرای آزمون RAST را آزمودنی‌ها با نظارت و ارزیابی دو نفر از اساتید رشته تربیت بدنی انجام دادند و به این دلیل که آزمونگرها و نمونه‌ها در جریان تفاوت نوشیدنی نبودند ولی پژوهشگر در جریان تفاوت نوشیدنی بود، تحقیق حاضر از نوع دو سوکور (double-blind) است.

از آزمودنی‌ها خواسته شد که شب قبل از آزمون‌گیری شام را قبل از ساعت ۸ مصرف کنند. بعد از آن در جلسه آزمون‌گیری اصلی، صبح به صورت ناشتا در محل آزمون‌گیری حاضر شدند و در ساعت ۸ صبحانه‌ای استاندارد شامل ۱۲۰ گرم نان سفید، ۱۰ گرم کره، ۱۵ گرم مربا و ۱۲۰ میلی‌لیتر چای [۱۷] به آزمودنی‌ها داده شد. در ساعت ۱۰، نخستین نمونه‌گیری خونی به‌عنوان پیش‌آزمون گرفته شد. سپس،

مکمل کربوهیدرات با حفظ سطوح بالای گلوکز پلاسمایی موجب می‌شود که افزایش در آبی‌نفرین و کورتیزول و سایتوکاین‌های پیش و ضد التهابی کمتر باشد [۵]. موریرا و همکاران [۶] در مطالعه‌ای مروری با بررسی تعداد زیادی از مطالعات صورت گرفته این نتیجه حاصل شد که دریافت کربوهیدرات قبل یا هنگام فعالیت در برخی مطالعات بدون اثر و در برخی دیگر موجب کمتر شدن افزایش سایتوکاین‌های IL-6 و IL-10 پس از فعالیت‌های عمدتاً استقامتی می‌شود.

همچنین، اسیدهای آمینه شاخه‌دار (BCAA) به آلفا-کتوگلوئارات، سپس به گلوئامات و در نهایت به گلوئامین تبدیل می‌شوند. سلول‌های ایمنی از قبیل لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها از مقادیر بالایی گلوئامین استفاده می‌کنند و شاخص‌های عملکردی بسیاری در سیستم ایمنی مانند تکثیر سلول T، تقسیم لنفوسیت B، فاگوسیتوز ماکروفاژ، عرضه آنتی‌ژن و تولید سایتوکاین با گلوئامین ارتقا می‌یابد [۷].

برخی محققان از مکمل ترکیبی کربوهیدرات- پروتئین با احتمال اثربخشی بیشتر استفاده کرده‌اند. جامعه بین‌المللی تغذیه ورزشی بیان کرده است که افزودن پروتئین به کربوهیدرات به نسبت ۱ به ۳ یا ۱ به ۴ عملکرد را بهبود می‌بخشد، سنتز پروتئین و سنتز مجدد گلیکوژن را افزایش می‌دهد و از آسیب عضلانی پس از فعالیت‌های مقاومتی جلوگیری می‌کند [۸]. مطالعه متاآنالیز استرنز و همکاران [۹] نشان داد که افزودن پروتئین به کربوهیدرات موجب افزایش ۷/۴ درصدی عملکرد در مقایسه با نوشیدنی با کربوهیدرات برابر شد، اما در مطالعات با کالری برابر، ۴ درصد افزایش دیده شد. همچنین، مطالعات تحریک بیشتر درون سلولی سنتز پروتئین پس از دوچرخه سواری طولانی مدت [۱۰]، کاهش HSP 72 (شاخص استرس) پس از اجرای تناوبی شدید در فوتبالیست‌های باشگاهی [۱۱]، کاهش میزان کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز و درد عضلانی بعد از فعالیت مقاومتی برون‌گرا در مردان داوطلب غیرورزشکار [۱۲] و کاهش لاکتات خون و pH ادرار پس از فعالیت‌های شدید تناوبی دوچرخه سواری [۱۳] را با مصرف ترکیب مکمل کربوهیدرات- پروتئین نشان داده‌اند.

تحقیقات کمی اثر مکمل ترکیبی کربوهیدرات- پروتئین را بر سایتوکاین‌های IL-6 و IL-10 پس از فعالیت بررسی کرده‌اند. کوزیولیما و همکاران [۱۴] به دوچرخه‌سواران مرد هنگام ۲/۵ ساعت دوچرخه سواری در ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی یا مکمل کربوهیدرات یا مکمل با نسبت ۴ به ۱ کربوهیدرات- پروتئین (هر دو گروه ۴ میلی‌لیتر در هر

تحقیق کنار گذاشته شدند. همچنین، یک نفر از نمونه‌ها در جلسه آزمون‌گیری موفق به اتمام آزمون رست (RAST) نشد؛ بنابراین، در نهایت ۲۷ نفر، گروه دارونما (۸ نفر)، گروه مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱ (۹ نفر) و گروه مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ (۱۰ نفر) در فرایند بررسی نهایی شرکت داشتند.

#### مکمل کربوهیدرات- پروتئین

در پژوهش حاضر، از نسبت‌های مکمل ۱ به ۳ (۲۲/۵ گرم پروتئین وی و ۶۷/۵ گرم کربوهیدرات در ۱ لیتر آب) و مکمل ۱ به ۴ (۱۸ گرم پروتئین وی و ۷۲ گرم کربوهیدرات در ۱ لیتر آب) استفاده شد. همچنین، گروه دارونما شیرین‌کننده اسپارتام (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ۱ لیتر آب) مصرف کردند [۱۲]. برای مکمل کربوهیدرات از کربومکس (حاوی ۹۰ تا ۹۵ درصد قندهای ساده گلوکز و فروکتوز و ۵ درصد کربوهیدرات پیچیده) استفاده شد. برای مکمل پروتئین وی از ایزو وی (۹۲ درصد آب پنیر خالص) استفاده شد.

#### روش‌های آماری

برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و برای بررسی تجانس واریانس گروه‌ها از آزمون لون استفاده شد. برای بررسی همگنی گروه‌ها، پیش‌آزمون با آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه بررسی شد. در آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر و آزمون تعقیبی بونفرونی نتایج در مورد هر گروه در زمان‌های مختلف تجزیه و تحلیل شد. برای مقایسه نتایج در گروه‌های مختلف از آزمون آنالیز واریانس چندگانه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمامی محاسبات آماری در سطح معناداری ۰/۰۵ و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام گرفت.

#### یافته‌ها

نتایج آزمون کولموگروف- اسمیرنوف نشان داد که تمامی داده‌ها نرمال بود. همچنین، با توجه به نتایج آزمون لون مشخص شد که واریانس گروه‌ها متجانس بود. بنابراین، پیش‌فرض‌های استفاده از آزمون‌های پارامتریکی وجود داشت. آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه نشان داد که گروه‌ها در پیش‌آزمون تفاوت معناداری نداشتند و به‌طور همگنی تقسیم شده بودند. ویژگی‌های فردی آزمودنی‌ها عبارت بود از سن، قد، وزن و شاخص توده بدن (جدول ۱).

نمونه‌ها یکی از مکمل‌ها را مصرف کردند (حدود ۵ تا ۱۰ دقیقه قبل از انجام تست برای هر نفر، ۲۵۰ میلی‌لیتر در زمان ۵ دقیقه). بعد از مصرف مکمل، آزمون RAST از نمونه‌ها گرفته شد (آزمون RAST شامل شش تکرار دوی سریع در مسافت ۳۵ متر و با حداکثر شدت است که با فاصله استراحت ۱۰ ثانیه در بین هر تکرار انجام می‌شود). در پایان آزمون، مجدداً خون‌گیری انجام گرفت.

مکمل دو نوبت دیگر یکی بلافاصله پس از اتمام آزمون (۲۵۰ میلی‌لیتر در ۵ دقیقه) و دیگری یک ساعت بعد از اتمام آزمون (۵۰۰ میلی‌لیتر در ۱۰ دقیقه) به آزمودنی‌ها داده شد. در نهایت، آخرین خون‌گیری دو ساعت بعد از اتمام آزمون انجام شد.

از آزمودنی‌ها درخواست شد که حداقل یک هفته قبل از روز آزمون از انجام فعالیت‌های ورزشی پرهیز کنند. سرم با دستگاه سانتریفیوژ در دور ۴ هزار، به مدت ۵ دقیقه از خون جدا و برای حفاظت در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس، نمونه‌های خونی برای بررسی سطوح IL-6 و IL-10 در اختیار آزمایشگاه رازی شهر کرج قرار گرفت. برای بررسی سطوح IL-6 از کیت Diaclone ساخت کشور فرانسه و برای بررسی سطوح IL-10 از کیت Quantikine ساخت کشور آمریکا استفاده شد (Quantikine; R & D systems, Minneapolis, MN-USA).

#### جامعه و نمونه آماری

جامعه آماری تحقیق حاضر دانشجویان دختر دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس با دامنه سنی ۲۰ تا ۲۵ سال بودند که در ترم تابستان ۱۳۹۴ درس تربیت‌بدنی عمومی ۱ یا ۲ داشتند. پس از تکمیل فرم سلامتی و فعالیت بدنی از بین واجدان شرایط که ۴۱ نفر بودند تعداد ۳۰ نفر خانم دارای شاخص توده بدنی (BMI) ۱۸ تا ۲۵ که داوطلبانه تمایل به همکاری در کار پژوهشی داشتند به صورت تصادفی ساده و با انجام قرعه‌کشی انتخاب شدند. نمونه‌ها نخست در جلسه آشنا سازی با تست شرکت کردند و بر اساس نتایج توان میانگین در آزمون RAST که میانگین توان در شش دوی ۳۵ متر بود در سه دسته با توان میانگین ۲۵۰-۳۰۰، ۲۰۰-۲۴۹ و ۱۵۰-۱۹۹ قرار گرفتند و با انجام مجدد قرعه‌کشی برای نمونه‌گیری تصادفی طبقه‌ای سعی شد در سه گروه همگن دارونما، مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱ و مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ قرار گیرند (هر گروه ۱۰ نفر). با توجه به اینکه نتایج آزمایشگاهی دو نفر از نمونه‌ها اختلاف بسیار زیادی با نتایج نرمال داشت از

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار شاخص‌های آنتروپومتریکی افراد شرکت‌کننده در پژوهش

گروه	سن (سال)	قد (سانتی‌متر)	وزن (کیلوگرم)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
دارونما (n=۸)	۲۱/۶۲±۱/۳	۱۶۰/۵۰±۳/۵۴	۵۷/۳۷±۴/۰۶	۲۲/۲۵±۱/۲۸
مکمل ۱:۳ (n=۹)	۲۳/۳۳±۱/۲۲	۱۶۱/۱۱±۴/۱۶	۵۵/۶۶±۵/۳۸	۲۱/۰۱±۱/۵۴
مکمل ۱:۴ (n=۱۰)	۲۲/۶۰±۱/۲۶	۱۶۳/۳۰±۳/۹۴	۵۹/۸۰±۵/۲۲	۲۲/۴۰±۱/۶۱

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار مقادیر پلاسمایی IL-6 در پیش‌آزمون، پس‌آزمون و دو ساعت پس از آزمون RAST

متغیر	گروه‌ها	پیش‌آزمون	بلافاصله پس از آزمون	دو ساعت پس از آزمون
IL-6 (pg/ml)	دارونما	۲/۲۳±۰/۴۵	۵/۹۶±۰/۶۴ *	۳/۲۸±۰/۴۱ #*
	مکمل ۱:۳	۲/۱۹±۰/۳۷	۵/۶۸±۰/۶۵ *	۳/۱۱±۰/۲۳ #*
	مکمل ۱:۴	۲/۱۲±۰/۳۱	۵/۷۶±۰/۵۹ *	۲/۹۳±۰/۲۸ #*

\* معنادار نسبت به پیش‌آزمون # معنادار نسبت به پس‌آزمون

مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ مشخص کرد که مقادیر IL-6 به‌طور معناداری بلافاصله پس از آزمون ( $p < 0.001$ ) و دو ساعت پس از آزمون ( $p < 0.001$ ) نسبت به پیش‌آزمون بالاتر بود. همچنین، در دو ساعت پس از آزمون مقدار IL-6 به‌طور معناداری ( $p < 0.001$ ) نسبت به بلافاصله پس از آزمون پایین‌تر بود.

نتایج آزمون آنالیز واریانس چندگانه در مورد سایتوکاین IL-6 نشان داد که بین گروه‌های دارونما، مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱ و مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱، در پیش‌آزمون ( $p = 0.808$ )، بلافاصله پس از آزمون ( $p = 0.641$ ) و دو ساعت پس از آزمون ( $p = 0.086$ ) تفاوت معناداری وجود نداشت. با توجه به اینکه در دو ساعت پس از آزمون مقدار  $p$  به سطح معناداری نزدیک بود، از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. نکته قابل‌ذکر اینکه مقادیر IL-6 در دو ساعت پس از آزمون در گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ نسبت به گروه دارونما پایین‌تر بود، اما معنادار نبود ( $p = 0.071$ ). اما بین گروه دارونما و گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱ ( $p = 0.516$ ) و گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱ و گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ ( $p = 0.451$ ) اختلافی وجود نداشت.

#### مقادیر IL-10 سرمی

نتایج آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری مکرر در مورد سایتوکاین IL-10 نشان داد که در همه گروه‌ها تفاوت معناداری در پیش‌آزمون، بلافاصله پس از آزمون و دو ساعت پس از آزمون وجود دارد. آزمون تعقیبی بونفرونی مشخص کرد که در گروه دارونما مقادیر IL-10 به‌طور معناداری بلافاصله پس از آزمون ( $p = 0.001$ ) و دو ساعت پس از آزمون ( $p = 0.007$ ) نسبت به پیش‌آزمون بالاتر بود. ولی مقدار IL-10 در دو ساعت پس از

برای بررسی همگنی گروه‌ها در مورد شاخص‌های آنتروپومتریکی نمونه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه استفاده شد. نتایج نشان داد که گروه‌ها در شاخص‌های وزن ( $p = 0.211$ )، قد ( $p = 0.287$ ) و BMI ( $p = 0.115$ )، به‌صورت همگن تقسیم شدند، ولی در مورد شاخص سن ( $p = 0.035$ )، در بین گروه‌ها اختلاف معناداری وجود داشت. آزمون تعقیبی توکی مشخص کرد که بین گروه دارونما و گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱، اختلاف معناداری وجود دارد ( $p = 0.027$ )، اما بین گروه دارونما و گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ ( $p = 0.254$ ) و بین گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱ و گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ ( $p = 0.429$ ) اختلاف معناداری مشاهده نشد.

#### مقادیر IL-6 سرمی

نتایج آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری مکرر در مورد سایتوکاین IL-6 نشان داد که در همه گروه‌ها تفاوت معناداری در پیش‌آزمون، بلافاصله پس از آزمون و دو ساعت پس از آزمون وجود دارد. آزمون تعقیبی بونفرونی مشخص کرد که در گروه دارونما مقادیر IL-6 به‌طور معناداری بلافاصله پس از آزمون ( $p < 0.001$ ) و دو ساعت پس از آزمون ( $p = 0.002$ ) نسبت به پیش‌آزمون بالاتر بود. همچنین، در دو ساعت پس از آزمون مقدار IL-6 به‌طور معناداری ( $p < 0.001$ ) نسبت به بلافاصله پس از آزمون پایین‌تر بود. آزمون تعقیبی بونفرونی در گروه مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱ مشخص کرد که مقادیر IL-6 به‌طور معناداری بلافاصله پس از آزمون ( $p < 0.001$ ) و دو ساعت پس از آزمون ( $p = 0.001$ ) نسبت به پیش‌آزمون بالاتر بود. همچنین، دو ساعت پس از آزمون مقدار IL-6 به‌طور معناداری ( $p < 0.001$ ) نسبت به بلافاصله پس از آزمون پایین‌تر بود. همچنین، آزمون تعقیبی بونفرونی در گروه

پس از آزمون تفاوت معناداری نداشت ( $p=0/332$ ). همچنین، آزمون تعقیبی بونفرونی در گروه مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ مشخص کرد که مقادیر IL-10 به طور معناداری بلافاصله پس از آزمون ( $p=0/001$ ) و دو ساعت پس از آزمون ( $p<0/001$ ) نسبت به پیش آزمون بالاتر بود. ولی مقدار IL-10 در دو ساعت پس از آزمون و بلافاصله پس از آزمون تفاوت معناداری نداشت ( $p=0/450$ ).

آزمون و بلافاصله پس از آزمون تفاوت معناداری نداشت ( $p=0/078$ ). هر چند در دو ساعت پس از آزمون پایین تر بود، ولی معنادار نبود. آزمون تعقیبی بونفرونی در گروه مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱ مشخص کرد که مقادیر IL-10 به طور معناداری بلافاصله پس از آزمون ( $p=0/001$ ) و دو ساعت پس از آزمون ( $p=0/001$ ) نسبت به پیش آزمون بالاتر بود. ولی مقدار IL-10 در دو ساعت پس از آزمون و بلافاصله

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار مقادیر پلاسمایی IL-10 در پیش آزمون، پس آزمون و دو ساعت پس از آزمون RAST

متغیر	گروه ها	پیش آزمون	بلافاصله پس از آزمون	دو ساعت پس از آزمون
	دارونما	۰/۵۴±۰/۲۰	۱/۲۹±۰/۴۲ *	۰/۹۴±۰/۲۰ *
IL-10 (pg/ml)	مکمل ۱:۳	۰/۶۰±۰/۱۹	۱/۲۳±۰/۲۹ *	۱/۰۳±۰/۱۹ *
	مکمل ۱:۴	۰/۵۷±۰/۱۸	۱/۲۱±۰/۲۰ *	۱/۱۱±۰/۱۰ *

\* معنادار نسبت به پیش آزمون

تحقیق حاضر افزایش فوراً بعد از فعالیت دیده شد. شاید از دلایل وجود تفاوت بین این مطالعه و مطالعات دیگر بتوان به شدت بالاتر آزمون در مطالعه حاضر اشاره کرد که با تحریک مرکزی بالاتر و افزایش بیشتر دمای بدن موجب افزایش سریع و زیاد سطح هورمون های استرسی می شود. همچنین، به دلیل اینکه نمونه های تحقیق حاضر غیرورز شکار بودند، اثر فعالیت بر هورمون های استرسی شدیدتر است. هر چند در مطالعه حاضر سطح هورمون های استرس، همچنین میزان آسیب عضلانی اندازه گیری نشد، نشان داده شده است که فعالیت بدنی شدید سطوح استراحتی کورتیزول، کاتکول آمین ها و آسیب عضلانی را تحت تأثیر قرار می دهد. این تغییرات به نوبه خود به تغییر در IL-10 و IL-6 می انجامد. تحقیقات حیوانی نشان داده اند که افزایش اپی نفرین هنگام استرس عامل افزایش IL-6 است [۲۰]. از عوامل افزایش دهنده اپی نفرین می توان به افزایش دمای بدن و عوامل مرکزی اشاره کرد. همچنین، افزایش دمای بدن در افزایش سایتوکاین ها نیز نقش دارد [۲۱]. همچنین، عنوان شده است که اجزای خرد شده پروتئین که از عضلات آسیب دیده آزاد می شود و با گلبول های سفید و دیگر سلول ها مثل فیبروبلاست ها برخورد می کند و موجب افزایش سایتوکاین ها پس از فعالیت شدید می شود [۲۲]. عوامل گوناگون دیگری مانند جنسیت و هورمون ها نیز بر شاخص های التهابی مؤثر است. چنانچه برخی تحقیقات گزارش کرده اند که زنان به دلیل برخورداری از هورمون استروژن در مقایسه با مردان، در مواجهه با شاخص های التهابی و رادیکال های آزاد آسیب های کمتری می بینند [۲۳]. البته، در مطالعه حاضر تفاوت بین زنان و مردان بررسی نشده است، ولی شاید نمونه های جنسیتی متفاوت در تحقیقات باعث بروز پاسخ های متفاوتی می شود.

نتایج آزمون آنالیز واریانس چندگانه در مورد سایتوکاین IL-10 نشان داد که بین گروه های دارونما، مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱ و مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱، در پیش آزمون ( $p=0/812$ )، بلافاصله پس از آزمون ( $p=0/851$ ) و دو ساعت پس از آزمون ( $p=0/123$ ) تفاوت معناداری وجود نداشت. با توجه به اینکه در دو ساعت پس از آزمون مقدار  $p$  به سطح معناداری نزدیک بود، از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. نکته قابل ذکر اینکه مقادیر IL-10 در دو ساعت پس از آزمون در گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ نسبت به گروه دارونما پایین تر بود، اما معنادار نبود ( $p=0/103$ ). اما بین گروه دارونما و گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱ ( $p=0/511$ ) و گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۳ به ۱ و گروه کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ ( $p=0/569$ ) اختلافی وجود نداشت.

### بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر فعالیت ورزشی شدید سایتوکاین های IL-6 و IL-10 در گروه دارونما و گروه های مکمل را بلافاصله و دو ساعت بعد از فعالیت نسبت به پیش از فعالیت افزایش داد. نتایج تحقیق حاضر درباره افزایش IL-6 پس از فعالیت شدید با برخی تحقیقات همسوسست [۴، ۱۸ و ۱۹]، ولی با تحقیق برنر و همکاران [۳] ناهمخوانی دارد. نتایج تحقیق حاضر درباره افزایش IL-10 پس از فعالیت شدید با تحقیق پیک و همکاران [۱۹] مبنی بر افزایش سایتوکاین IL-10 فوراً و یک ساعت پس از فعالیت شدید همخوانی دارد، اما با تحقیق برنر و همکاران [۳] همخوانی ندارد. همچنین، در برخی تحقیقات [۴ و ۱۸] تأخیر ۱۵ و ۴۵ دقیقه ای در افزایش IL-10 دیده شد، در حالی که در

عضلانی ذکر کرده‌اند، ولی افزایش ۲ تا ۲/۵ برابری در مقادیر IL-6 پس از دویدن اینتروال گزارش شده است که با مقادیر دیده‌شده در تحقیق حاضر برابر است. دلیل احتمالی آن را آسیب بافتی دانسته‌اند [۴].

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هیچ اختلافی بین گروه‌های تحقیق در مقادیر IL-10 پلاسمايي قبل، بعد و دو ساعت بعد از فعالیت وجود نداشت. در دو ساعت بعد از فعالیت سطح IL-10 در گروه مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ نسبت به گروه دارونما بالاتر بود، ولی این تفاوت معنادار نبود. نتیجه تحقیق حاضر با نتایج تحقیق کرزبوتی و همکاران [۱۵] همسو بود. در هر دو تحقیق، افزایش غیرمعنادار IL-10 پس از فعالیت در مکمل کربوهیدرات- پروتئین دیده شد، هر چند شدت فعالیت در دو تحقیق متفاوت بود. شواهد نشان می‌دهد که منبع اصلی بیان و ترشح IL-10 سلول‌های B و T است، اگرچه بیان این سایتوکاین در بافت‌های دیگر نیز تأیید شده است [۲۶]. تحقیقات اندکی پاسخ IL-10 پس از فعالیت‌های شدید را بررسی کرده‌اند و سازوکارهای ترشح سایتوکاین‌ها به ورزش بسیار پیچیده است و تاکنون به‌خوبی شناخته نشده است. تفسیر نتایج در این زمینه نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

در تحقیق حاضر، گروه دارونما از مکمل اسپارتام استفاده کردند. اسپارتام شیرین‌کننده صنعتی غیر ساکاریدی است که ۲۰۰ برابر شیرین‌تر از ساکاروز است. مقدار اسپارتام مورد نیاز برای تولید یک نوشیدنی شیرین آنقدر کم است (در تحقیق حاضر کمتر از ۱ گرم در گروه دارونما) که سهم کالریکی آن نادیده گرفته می‌شود. اسپارتام در روده کوچک هیدرولیز می‌شود و به اسید اسپارتیک (۴۰ درصد)، فنیل‌آلانین (۵۰ درصد)، و متانول (۱۰ درصد) تبدیل می‌شود، ولی مقدار آن در اسپارتام بسیار کمتر از آن چیزی است که در منابع غذایی معمولی مانند شیر و گوشت وجود دارد. در تحقیقات پیشین غلظت پلاسمايي اسید اسپارتیک، فنیل‌آلانین و متانول پس از مصرف مقدار کم اسپارتام (۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ۱ لیتر آب) بدون تغییر یا با افزایش اندک گزارش شده است [۲۷].

این احتمال وجود دارد که با افزایش تعداد دفعات و زمان اندازه‌گیری سایتوکاین‌ها (تا ۲۴ ساعت)، تغییری در نتایج دیده شود و مکمل‌گیری بتواند در طول زمان اثر خود را بگذارد. به‌نظر می‌رسد نیاز به تحقیقات بیشتری با پروتکل‌های متفاوت در این زمینه وجود داشته باشد.

تعداد مطالعات محدودی آثار مکمل کربوهیدرات- پروتئین بر نشانگران التهابی را بررسی کرده‌اند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هیچ اختلاف معناداری بین گروه‌های تحقیق در مقادیر IL-6 پلاسمايي قبل، بعد و دو ساعت بعد از فعالیت وجود نداشت و مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت‌های مختلف تغییری در پاسخ IL-6 ایجاد نکرد، هر چند کاهش بیشتر IL-6 در دو ساعت پس از فعالیت در گروه مکمل کربوهیدرات- پروتئین با نسبت ۴ به ۱ نسبت به گروه دارونما دیده شد. در توافق با نتایج تحقیق حاضر در دوچرخه‌سواران مرد که با مکمل کربوهیدرات یا مکمل با نسبت ۴ به ۱ کربوهیدرات- پروتئین هنگام ۲/۵ ساعت دوچرخه‌سواری در ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی استفاده کردند، IL-6 به‌طور معناداری بعد از فعالیت و ۱۲ ساعت بعد از فعالیت در هر دو گروه افزایش یافت، اما تفاوت معناداری بین دو گروه مکمل در مقادیر IL-6 مشاهده نشد [۱۴]. همچنین، همسو با تحقیق حاضر، مکمل کربوهیدرات یا شیر (مکمل کربوهیدرات- پروتئین)، فوراً و دو ساعت پس از ۱۰۰ انقباض برون‌گرای عضله چهارسر ران در ۱۲۰ درصد یک تکرار بیشینه (IRM) در مردان تمرین‌کرده تفاوتی در پاسخ IL-6 ایجاد نکرد و فعالیت برون‌گرا موجب افزایش IL-6 بلافاصله پس از فعالیت شد [۲۴].

همچنین، همسو با تحقیق حاضر ناکلریو و همکاران [۱۶] به فوتبالیست‌های آماتور مکملی ترکیبی (کربوهیدرات، پروتئین وی، گلوتامین و کارنیتین تارتات)، یا مکمل کربوهیدرات یا دارونما قبل، هنگام و بعد از آزمون دو‌های سرعتی تکراری دادند و هیچ تغییری در غلظت IL-6 فوراً، یک ساعت و ۲۴ ساعت بعد از فعالیت بین گروه‌ها نبود. در همه گروه‌ها IL-6 بعد و یک ساعت بعد از فعالیت افزایش یافت و ۲۴ ساعت بعد از فعالیت به وضعیت اولیه برگشت. اما، کرزبوتی و همکاران [۱۵] نشان دادند که در مردان فعال مکمل کربوهیدرات- پروتئین نسبت به مکمل کربوهیدرات باعث کاهش معنادار IL-6، چهار ساعت پس از فعالیت دوچرخه‌سواری با شدت متوسط شد. دلیل این تفاوت ممکن است زمان بیشتر استراحت پس از فعالیت در تحقیق کرازبوتی (چهار ساعت) نسبت به تحقیق حاضر (دو ساعت) باشد. اندازه پاسخ IL-6 به فعالیت به شدت و مدت فعالیت ورزشی بستگی دارد.

دو منبع برای تولید IL-6 هنگام و پس از فعالیت پیشنهاد شده است: عضلات فعال که دلیل احتمالی آن کاهش گلیکوژن عضلانی است؛ و آسیب بافتی [۲۵]. در مطالعات پیشین افزایش IL-6 پس از فعالیت ادامه‌دار طولانی ۴ تا ۴۰ برابر گزارش شده است که دلیل احتمالی آن را کاهش گلیکوژن

## References

- [1] Cruzat VF, Krause M, Newsholme P. Amino acid supplementation and impact on immune function in the context of exercise. *J Int Soc Sports Nutr.*, 2014; 11(1): 61. doi: 10.1186/s12970-014-0061-8.
- [2] Koch AJ. Immune response to exercise. *Braz J Biomotricity*, 2010; 4(2): 92-103.
- [3] Brenner IK, Natale VM, Vasiliou P, Moldoveanu AI, Shek PN, Shephard RJ. Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.*, 1999; 80(5): 452-60.
- [4] Zwetsloot KA, John CS, Lawrence MM, Battista RA, Shanely RA. High-intensity interval training induces a modest systemic inflammatory response in active, young men. *J Inflamm Res.*, 2014; 7: 9-17.
- [5] Murray R, Paul GL, Seifent JG, Eddy DE. Responses to varying rates of carbohydrate ingestion during exercise. *Med Sci Sports Exerc.*, 1991; 23: 713-18.
- [6] Moreira A, Kekkonen RA, Delgado L, Fonseca J, Korpela R, Haahntela T. Nutritional modulation of exercise-induced immunodepression in athletes: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr.*, 2007; 61(4): 443-60.
- [7] Nicastro H, da Luz CR, Chaves DFS, Bechara LRG, Voltarelli VA, Rogero MM, et al. Does branched-chain amino acids supplementation modulate skeletal muscle remodeling through inflammation modulation? Possible mechanisms of action. *J Nutr Metab.*, 2012; doi: 10.1155/2012/136937.
- [8] Kerksick C, Harvey T, Stout J, Campbell B, Wilborn C, Kreider R. International society of sports nutrition position stand: nutrient timing. *J Int Soc Sports Nutr.*, 2008; 5: 17. doi: 10.1186/1550-2783-5-17.
- [9] Stearns RL, Emmanuel H, Volek JS, Casa DJ. Effects of ingesting protein in combination with carbohydrate during exercise on endurance performance: a systematic review with meta-analysis. *J Strength Cond Res.*, 2010; 24(8): 2192-202.
- [10] Ferguson-Stegall L, McCleave EL, Ding Z, Doerner PG, Wang B, Liao YH, et al. Postexercise carbohydrate-protein supplementation improves subsequent exercise performance and intracellular signaling for protein synthesis. *J Strength Cond Res.*, 2011; 25(5): 1210-24.
- [11] Hashemi A, Faramarzi M, Bargharar M, Khazani A, Amani S, Banitalebi E. A comparison of the effects of Carbohydrate and Carbohydrate-Protein supplements on heat shock protein 72 (HSP72) during intermittent soccer activities. *Iran J Nutr Food Sci Food Technol.*, 2012; 7(3): 79-88. [in Persian]
- [12] Asjodi F, Arazi H, Samarin SF. Comparing the effects of dietary supplementation with carbohydrate and whey protein at two ratios on muscle damage indices after eccentric resistance exercise. *Iran J Nutr Food Sci Food Technol.*, 2013; 7(4): 83-92. [in Persian]
- [13] Harmon JH, Burckhard JR, Seifert JG. Ingestion of a carbohydrate-protein supplement improves performance during repeated bouts of high intensity cycling. *Med Sci Sports Exerc.*, 2007; 39: S363.
- [14] Cosio-Lima LM, Desai B, Stelzer JW, Schuler PB. Effects of 4:1 carbohydrate/ protein solution versus a carbohydrate-alone solution on IL-6, TNF-alpha, and cortisol during prolonged cycling in hot environmental conditions. *J Sports Med.*, 2012; 3: 21-6.
- [15] Kerasiotti E, Stagos D, Jamurtas A, Kiskini A, Koutedakis Y, Goutzourelas N, et al. Anti-inflammatory effects of a special carbohydrate-whey protein cake after exhaustive cycling in humans. *Food Chem Toxicol.*, 2013; 61: 42-6.
- [16] Naclerio F, Larumbe-Zabala E, Cooper R, Allgrove J, Earnest CP. A multi-ingredient containing carbohydrate, proteins L-glutamine and L-carnitine attenuates fatigue perception with no effect on performance, muscle damage or immunity in soccer players. *PLoS One.*, 2015; 10(4): e0125188.
- [17] Gaeni AA, Choobineh S, Satarifard S. Relationship between athlete's men cortisol with leukocytosis and Neutrophils numbers after exercise in cold, warm and normal temperatures conditions. *J Fasa Univ Med Sci.*, 2012; 1(4): 238-43. [in Persian]
- [18] Agha Alinejad H, Molanouri Shamsi M, Azarbayjan M, Rahimi M, Asghari Jafarabadi M, Tofighi L, et al. The effects of active recovery on serum IL-6, IL-8, IL-10 and CK concentrations after eccentric strenuous exercise in active female. *Iran J Endocrinol Metab.*, 2010; 11(5): 553-60. [in Persian]
- [19] Peake JM, Suzuki K, Hordern M, Wilson G, Nosaka K, Coombes JS. Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. *Eur J Appl Physiol.*, 2005; 95(5-6): 514-21.
- [20] Shirvani H, Riahi MBS, Akbarpour BM, Kazemzadeh Y. The effects of taurine supplementation with high intensity intermittent exercise on serum IL-6 and TNF- $\alpha$  in well-trained soccer players. *J Sport Bios.*, 2013; 17: 59-79. [in Persian]
- [21] Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *The FASEB Journal.* 2002; 16(11): 1335-47.
- [22] Tjønnå AE, Lee SJ, Rognmo Ø, Stølen TO, Bye A, Haram PM, et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. *Circulation.* 2008; 118(4): 346-54.
- [23] Tartibian B, Baghaiee B, Baradaran B, Aliparasty M, Almasry S. Comparing of Cu/Zn SOD gene expression of lymphocyte cell and Malondialdehyde level in active men and women after physical training. *Zahedan J Res Med Sci.*, 2012; 14(7): 57-60.
- [24] Wojcik JR, Walber-Rankin J, Smith LL, Gwazdauskas FC. Comparison of carbohydrate and milk-based beverages on muscle damage and glycogen following exercise. *Int J Sport Nutr Exe Metab.*, 2001; 11(4): 406-19.
- [25] Miles M, Pearson SD, Andring JM, Kidd JR, Volpe SL. Effect of carbohydrate intake during recovery from eccentric exercise on interleukin-6 and muscle damage markers. *Int J Sport Nutr Exe Metab.*, 2007; 17(6): 507-20.
- [26] Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy-review of a new approach. *Pharmacol rev.*, 2003; 55(2): 241-69.
- [27] Magnuson BA, Burdock GA, Doull J, Kroes RM, Marsh GM, Pariza MW, Spencer PS, Waddell WJ, Walker R, Williams GM. Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. *Crit Rev Toxicol.*, 2007; 37(8): 629-727.