

The Effect of One-week Glutamine Supplementation on Oxidative Stress Indices in Healthy Young Men

Javanamani R¹, Nakhostin-Roohi B^{2*}

¹ Department of Physical Education and Sport Sciences, Rash Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

² Department of Physical Education and Sport Sciences, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran

*Corresponding Author: Tel: +984533244994 Fax: +984533239494 E-mail: b.nakhostinroohi@iauardabil.ac.ir

Received: 9 Jul 2014 Accepted: 17 Jan 2015

ABSTRACT

Background & objectives: Glutamine has antioxidant properties and can be used to treat some diseases. This study was conducted to assess the effect of one-week glutamine supplementation on oxidative stress indices in young healthy men.

Methods: Nineteen active healthy men volunteered for this study. This study was conducted in biochemistry lab of Ardabil branch of Islamic Azad University in Spring 2014. Participants were randomized in a double-blind placebo-controlled method into two groups: Glutamine ($n = 9$) and placebo group ($n = 10$). The participants took supplement (0.15 g/kg glutamine + 15g sweetener + 250ml water) or placebo (15g sweetener + 250ml water) daily for 7 days before main trial. Fasting blood samples were taken before and after supplementation. Total antioxidant capacity (TAC) of plasma, reduced glutathione (GHS) level of serum, and malondialdehyde (MDA) of plasma were measured.

Results: GHS significantly increased after treatment compared with pre-treatment in Glutamine group ($p < 0.05$). There were no other within and between group significant differences in any indices ($p > 0.05$).

Conclusions: These results showed that one-week daily oral supplementation of glutamine has been able to increase GHS probably because of greater glutamine availability.

Keywords: Glutamine, Total Antioxidant Capacity, Reduces Glutathione, Malondialdehyde

گرم در کیلوگرم به مدت سه روز می تواند باعث افزایش سطوح گلوتامین نسبت به گروه کنترل شود [۱۱].

با توجه به پیشینه تحقیقات در این زمینه به نظر می رسد مصرف گلوتامین یکی از روش های مقابله با ایسکمی رپر فیوژن و استرس اکسیداتیو ناشی از آن می باشد. با این حال بر اساس مطالعات ما، تحقیقات محدودی در مورد تأثیر مصرف این ماده بر استرس اکسیداتیو در نمونه های انسانی صورت گرفته است. لازم به ذکر است که اگرچه خواص آنتی اکسیدانی گلوتامین در تحقیقات قبلی مورد تأیید قرار گرفته است، ولی با بررسی منابع موجود و در دسترس، مشخص می گردد که میزان دوز مصرفی و مدت زمان مصرف آن برای افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی در محیط بیولوژیک، جهت مقابله با استرس اکسیداتیو احتمالی ناشی از فعالیت سنگین یا بیماری های مختلف مورد ارزیابی قرار نگرفته است. بنابراین، سوال اصلی این پژوهش این است که آیا مصرف یک هفته مکمل گلوتامین می تواند بر ظرفیت آنتی اکسیدانی و شاخص های استرس اکسیداتیو در نمونه های انسانی تأثیر داشته باشد؟

روش کار

روش تحقیق از نوع نیمه تجربی و طرح تحقیق از نوع کاربردی با روش پیش آزمون - پس آزمون، با گروه کنترل و انتخاب تصادفی و دوسویه کور می باشد. تحقیق در بهار سال ۱۳۹۳ انجام گردید. جامعه آماری تحقیق، دانشجویان مرد دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل بودند. از بین داوطلبان شرکت در این طرح افرادی که شاخص های ورود به طرح را داشتند انتخاب شدند. شاخص های ورود به تحقیق شامل سن بالای ۱۹ سال، سلامت عمومی و عدم ابتلا به بیماری های خاص و تأثیر گذار، عدم مصرف سیگار یا قلیان و عدم استفاده از انواع مکمل های آنتی

آنتی اکسیدان بدن است که می تواند در مقابل استرس اکسیداتیو از بدن محافظت نماید [۵]. به نظر می رسد مصرف گلوتامین می تواند با افزایش ذخایر گلوتامین منجر به افزایش قدرت آنتی اکسیدانی بدن شود. همچنین، به نظر می رسد مصرف گلوتامین بتواند باعث کاهش ایسکمی-رپر فیوژن شود [۶]. [۷] ایسکمی-رپر فیوژن وضعیتی است که در آن ابتدا بافت به علت کمبود اکسیژن و مواد غذایی، دچار آسیب شده و سپس آسیب بیشتری در اثر افزایش مجدد جریان خون به وقوع می پیوندد [۸]. به نظر می رسد افزایش بیش از حد جریان خون پس از ایسکمی می تواند باعث التهاب و آسیب اکسیداتیو ناشی از استرس اکسیداتیو شود. اخیراً بر اساس این فرضیه گلوتامین به عنوان یک مکمل آنتی اکسیدانی جهت درمان برخی از بیماری ها مورد استفاده قرار گرفته است. به طور مثال، ژو هوی^۱ و همکارانش در سال ۲۰۱۴ مصرف گلوتامین بر کبد چرب غیر الکلی گروهی از موش ها را با دوز یک گرم در کیلوگرم در هر روز به مدت ۱۲ هفته مورد مطالعه قرار دادند و در نهایت مشاهده کردند که مصرف این ماده می تواند باعث کاهش استرس اکسیداتیو شود [۹]. در تحقیق دیگری جونیور^۲ و همکارانش (۲۰۱۱) تأثیر مصرف گلوتامین بر سیستم آنتی اکسیدانی موش های مبتلا به ایسکمی - رپر فیوژن کلیوی را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که مصرف هفت روزه گلوتامین در این موش ها می تواند باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و آنزیم گلوتامین پراکسیداز شود [۱۰]. ژانگ^۳ و همکارانش (۲۰۱۳) نیز تأثیر مصرف گلیسیل گلوتامین را بر آسیب میوکاردیال و عملکرد قلبی موش هایی که دچار سوختگی شدید بودند مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند که مصرف این مکمل با دوز ۱/۵

¹Zhihui

²Junior

³Zhang

قرار گرفتند. یکصد میلی لیتر از پلاسما جهت اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه گیری این شاخص از روش بنزیه و استرین (۱۹۹۶) استفاده گردید [۱۲]. در این روش از تبدیل فریک تری پیریدیل تریازین به فرو پیریدیل تریازین با استفاده از یک احیاکننده در PH پایین استفاده شد. فرو پیریدیل تریازین دارای رنگ آبی است و در طول موج ۵۹۳ نانومتر قابل ردیابی است. برای اندازه گیری گلوکاتایون احیا شده از روش المن (۱۹۵۹) استفاده گردید. در این روش از معرف (DTNB^۵) در محیط قلیایی (PH= ۸) برای ردیابی و اندازه گیری GHS استفاده گردید [۱۳]. اندازه گیری مالون دی آلدئید نیز از روش بوستوعلو و با استفاده از ماده^۶ TBARS انجام گرفت [۱۴].

روش تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصله با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت. ویژگی های آنروپومتریکی به صورت توصیفی ارائه شد. برای اطمینان از طبیعی بودن پراکندگی داده ها از آزمون کلموگروف - اسمیرنوف استفاده گردید. برای بررسی تفاوت های درون گروهی از روش t همبسته و بین گروهی از روش t مستقل استفاده گردید. سطح معنی داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج به دست آمده از آنالیز توصیفی ویژگی های فردی و مشخصات آنروپومتریکی آزمودنی های تحقیق در دو گروه در جدول ۱-۱ (میانگین \pm انحراف استاندارد) نمایش داده شده است.

جدول ۱. میانگین و انحراف استاندارد سن، قد، وزن، شاخص توده بدنی، همراه با تفاوت های بین گروهی در هر دو گروه

ویژگی / گروه ها	گروه دارونما (۱۰ نفر)	گروه گلوتامین (۹ نفر)
سن (سال)	۲۲/۴۰ \pm ۳/۰۶	۲۴/۵۶ \pm ۲/۴۰

اکسیدانی حداقل به مدت یک ماه بود. قد و وزن آزمودنی ها به ترتیب با استفاده از قدسنج سکا و ترازوی دیجیتالی توزین گستر اندازه گیری شد. آزمودنی ها پس از انتخاب به صورت کتبی و شفاهی از ماهیت تحقیق مطلع گردیده و سپس فرم رضایت نامه را پر کردند. سپس آزمودنی ها به طور تصادفی به دو گروه گلوتامین (۱۰ نفر) و دارونما (۱۰ نفر) تقسیم شدند که در حین تحقیق یکی از آزمودنی های گروه گلوتامین به علت بیماری از روند تحقیق کنار گذاشته شد. ابتدا ۵ میلی لیتر خون از ورید آرنجی آزمودنی ها به صورت ناشتا اخذ گردید و متعاقباً به مدت یک هفته به آزمودنی ها مکمل گلوتامین (۱۵/۰ گرم در کیلوگرم گلوتامین + ۱۵ گرم شیرین کننده + ۲۵۰ میلی لیتر آب) و یا دارونما (۱۵ گرم شیرین کننده + ۲۵۰ میلی لیتر آب) در محل دانشگاه و در ساعات خاص خورنده شد [۴]. مکمل گلوتامین و شیرین کننده ساخت شرکت سیگما - آلدريج بود. در تمام مدت مصرف مکمل از آزمودنی ها خواسته شد که رژیم غذایی معمولی خود را حفظ کنند و از مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی و پروتئینی اجتناب کنند. در انتها مجدداً به صورت ناشتا خون گیری انجام گردید. دو میلی لیتر از خون در لوله های آزمایش حاوی EDTA^۱ قرار گرفت تا پلاسما اخذ شود و از بقیه خون سرم مورد نیاز تهیه گردید. برای جداسازی پلاسما و سرم از خون تام، از سانتریفوز با دور ۴۰۰۰ و به ترتیب به مدت ۵ و ۱۰ دقیقه استفاده گردید. سپس، نمونه های خونی در یخچال منفی ۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و بلافاصله جهت اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC^۲)، گلوکاتایون احیا شده (GHS^۳) و مالون دی آلدئید (MDA^۴) مورد استفاده

^۱Ethylenediaminetetraacetic acid

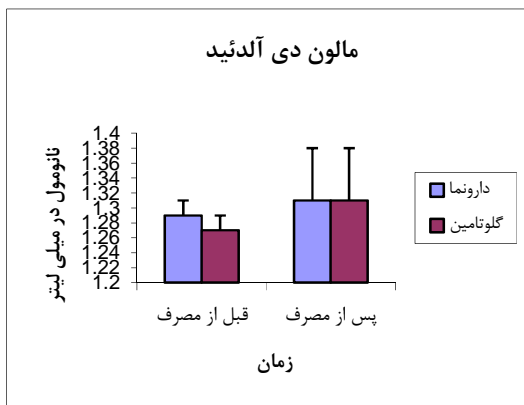
^۲Total Antioxidant Capacity

^۳Reduced Glutathione

^۴Malondialdehyde

^۵5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)

^۶Thiobarbituric acid reactive substances



نمودار ۳. تغییرات درون گروهی و بین گروهی MDA (میانگین \pm خطای استاندارد).

بحث

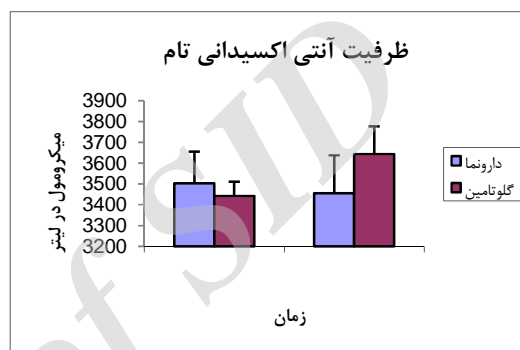
در تحقیق حاضر تأثیر مصرف یک هفته گلوتامین بر شاخص های استرس اکسیداتیو در مردان جوان سالم مورد بررسی قرار گرفته است. همانطور که در نمودار ۱ ملاحظه می شود، اگرچه میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پس از یک هفته مصرف مکمل در گروه گلوتامین افزایش نشان می دهد، اما این افزایش معنی دار نیست. در مقایسه با سایر تحقیقات در این حوزه در ارتباط با تأثیر مصرف آنتی اکسیدان ها بر ظرفیت آنتی اکسیدانی نتایج متناقضی گزارش گردیده است. به طور مثال، مطالعات ما نشان می دهد که مصرف متیل سولفونیل متان در مردان جوان و سالم به مدت ۱۰ روز باعث افزایش TAC نسبت به قبل از مصرف شده است [۱۵]. همچنین، مطالعات ما نشان می دهد که ۲ هفته مصرف مکمل ال-کارنیتین باعث افزایش معنی دار TAC نسبت به گروه دارونما در مردان جوان و فعال می شود [۱۶]. تحقیقات جونیور و همکارانش نیز نشان داد که مصرف ۷ روزه گلوتامین می تواند باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در موش های مبتلا به ایسکمی - رپرفیوژن کلیوی شود [۱۷].

در تحقیق حاضر اگرچه افزایش TAC نسبت به قبل از مصرف در گروه گلوتامین مشاهده شد، ولی این افزایش معنی دار نبود که دلیل آن می تواند تفاوت در ماهیت ماده آنتی اکسیدانی، تفاوت در نوع

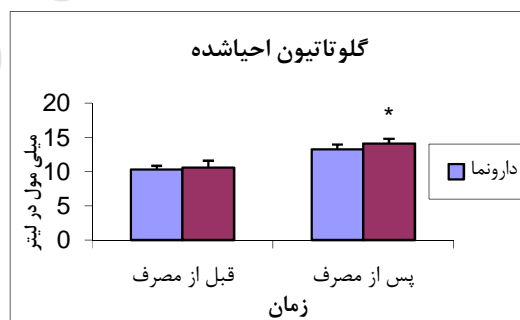
۱۸۲ \pm ۹/۷۰	۱۷۸ \pm ۶/۹۹	قد (سانتی متر)
۸۲/۵۶ \pm ۷/۸۸	۷۴/۶۰ \pm ۱۰/۴۹	وزن (کیلوگرم)
۲۴/۸۷ \pm ۲/۳۷	۲۳/۵۳ \pm ۲/۳۲	شاخص توده بدنی (کیلوگرم بر مترمربع)

طبق جدول تفاوت معنی داری بین هیچ کدام از این متغیرها بین دو گروه وجود ندارد ($P > 0.05$).

در نمودارهای ۱، ۲ و ۳ تغییرات درون گروهی و بین گروهی به ترتیب در سه متغیر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، گلوکاتیون احیا شده و مالون دی آلدئید نشان داده شده است.



نمودار ۱. تغییرات درون گروهی و بین گروهی TAC (میانگین \pm خطای استاندارد).



نمودار ۲. تغییرات درون گروهی و بین گروهی GHS (میانگین \pm خطای استاندارد). علامت * نشان دهنده افزایش معنی دار در گروه گلوتامین نسبت به قبل از مصرف می باشد.

آزمودنی ها، تفاوت در میزان سلامتی آزمودنی ها، دوز مکمل و شاید زمان کوتاه مکمل دهی باشد. احتمالاً افزایش دوز گلوتامین در تحقیق حاضر بتواند تاثیر بهتری در جهت فراهمی گلوتامین و افزایش قدرت آنتی اکسیدانی پلازما شود.

در مقابل، مصرف مکمل گلوتامین نشان دهنده افزایش میزان گلوتامین احیاء شده نسبت به قبل از مصرف می باشد (نمودار ۲) که می تواند دلیلی احتمالی بر افزایش سنتز این ماده در اثر افزایش میزان دسترسی گلوتامین باشد [۴]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق ژانگ و همکارانش (۲۰۱۳) که حاکی از افزایش میزان GHS در اثر مصرف گلوتامین در موش ها می شود نیز مطابقت دارد [۱۱]. بالا بودن میزان GHS خون می تواند دلیلی بر افزایش قدرت آنتی اکسیدانی بدن و حاکی از اثرات مثبت مصرف گلوتامین در مقابله با استرس اکسیداتیو باشد. الگوی تغییرات TAC و GHS در تحقیق حاضر تقریباً مشابه است که بازگوکننده تاثیر افزایش گلوتامین احیا شده بر قدرت آنتی اکسیدانی بدن می باشد، اگرچه افزایش TAC در تحقیق حاضر معنی دار نیست.

نتایج تحقیقات حاضر تغییر درون گروهی و بین گروهی معنی داری را در شاخص MDA نشان نمی دهد (نمودار ۳). دلیل نتیجه حاضر برای ما نامشخص است، چرا که انتظار می رفت افزایش معنی دار میزان GHS و افزایش نسبی TAC باعث کاهش مالون دی آلدئید هر چند به صورت غیر معنی دار در گروه گلوتامین شود. با اینحال، مالون دی آلدئید فقط یکی از شاخص های استرس اکسیداتیو و حاکی از لیپید پراکسیداسیون غشای چربی سلول می باشد. احتمالاً اندازه گیری سایر شاخص های استرس اکسیداتیو می توانست در توضیح نتایج به دست آمده کمک کننده

باشد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق مارکز و همکارانش (۲۰۱۳) همخوانی ندارد چراکه مصرف گلوتامین در نمونه های حیوانی توانست باعث کاهش آسیب اکسیداتیو شود [۱۷]. برخلاف نتایج تحقیق حاضر، گزارش شده است اگر این ماده از قبل از فعالیت های بدنی شدید و طولانی مدت مصرف شود، می تواند از استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت جلوگیری نماید [۱۸] که شاید دلیل آن افزایش بیش از حد رادیکال های آزاد ناشی از فعالیت بدنی و تاثیر بهتر این ماده و یا اختلافات در دوز و مدت مصرف مکمل باشد. در هر صورت نتایج تاثیر مصرف گلوتامین بر استرس اکسیداتیو کاملاً مشخص نیست و به نظر می رسد جهت دستیابی به نتایج قطعی نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه به ویژه در نمونه های انسانی وجود دارد.

نتیجه گیری

مصرف مکمل گلوتامین در تحقیق حاضر توانست احتمالاً با افزایش گلوتامین در دسترس باعث افزایش میزان گلوتامین احیاء شده شود، اگرچه تاثیر معنی داری بر روی ظرفیت آنتی اکسیدانی و استرس اکسیداتیو مشاهده نشد. به نظر می رسد جهت تعیین تاثیر این مکمل بر ظرفیت آنتی اکسیدانی و استرس اکسیداتیو نیاز به تحقیقات بیشتری است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل در به اختیار گذاشتن آزمایشگاه بیوشیمی ورزشی برای اجرای این تحقیق تقدیر و تشکر به عمل می آید.

References

- 1- Antonio J, Street C. Glutamine: A potentially useful supplement for athletes. Can J Appl Physiol. 1999 Feb; 24(1): 1-14.

- 2- Kreider R. Dietary supplements and the promotion of muscle growth with resistance exercise. *Sports Med.* 1999Feb; 27 (2): 97-110.
- 3- Smith RJ. Glutamine metabolism and its physiologic importance. *J Parenter Enter Nutr.* 1990Jul-Aug; 14 (4): 40S-44S.
- 4- Khorshidi-Hosseini M, Nakhostin-Roohi B. Effect of glutamine and maltodextrin acute supplementation on anaerobic power. *Asian J Sports Med.* 2013Jun; 4 (2):131-136.
- 5- Fan YP. Effects of glutamine supplementation on patients undergoing abdominal surgery, *Chin MedSci J.* 2009Mar; 24 (1): 55-59.
- 6- Stangl R, Szijarto A, Onody P, Rosero O, Garbaisz D, Turoczi Z, et al. Reduction ischemia-reperfusion injury via glutamine pretreatment. *JSurgRes.* 2011Mar; 166 (1): 95-103.
- 7- Zhang WX, Zhou LF, Zhang L. Protective effects of glutamine preconditioning on ischemia-reperfusion injury in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2011Feb; 10: 78-82.
- 8- Patel RP, Lang JD, Smith AB, Crawford JH. Redox therapeutics in hepatic ischemia reperfusion injury. *World J Hepatol.* 2014Jan; 27,6(1):1-8.
- 9- Zhihui L, Fang F, Ning L, Jinli Y, Qiqi Z, Guisheng D. Effects of glutamine on oxidative stress and nuclear factor- κ B expression in the livers of rats with nonalcoholic fatty liver disease. *Exp Ther Med.* 2014Feb; 7 (2): 365-370.
- 10- Junior V, Caporossi C, Alberto Salomao B, Munhoz E, Nascimento J. Effect of glutamine on the total antioxidant system of rats subjected to renal ischemia and reperfusion. *Acta Cir Bras.* 2011Dec; 26 (6): 445.
- 11- Zhang Y, Yan H, Lv S, Wang L, Liang G, Wan Q, et al. Effects of glycyl-glutamine dipeptide supplementation on myocardial damage and cardiac function in rats after severe burn injury. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013Apr; 6(5):821-830.
- 12- Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996Jul; 239(1):70-6.
- 13- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys.* 1959 May; 82(1): 70-77
- 14- Botsoglou NA, Fletouris DJ, Papageorgiou GE, Vassilopoulos VN, Mantis AJ, Trakatellis AG. Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and food stuff samples. *J Agric Food Chem.* 1994 Sep; 42(9): 1931-1937.
- 15- Barmaki S, Bohlooli S, Khoshkharesh F, Nakhostin-Roohi B. Effect of methylsulfonylmethane supplementation on exercise - Induced muscle damage and total antioxidant capacity. *J Sports Med Phys Fitness.* 2012Apr; 52(2): 170-4.
- 16- Parandak K, Arazi H, Khoshkharesh F, Nakhostin-Roohi B. The Effect of Two-Week L-Carnitine Supplementation on Exercise-Induced Oxidative Stress and Muscle Damage. *Asian J of Sports Med.* 2014Mar; 5 (2): 123-128.
- 17- Marques C, Licks F, Zattoni I, Borges B, de Souza LER, Marroni CA. Antioxidant properties of glutamine and its role in VEGF-Akt pathways in portal hypertension gastropathy. *World J Gastroenterol.* 2013 Jul; 19(28): 4464-4474.
- 18- Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I, Asenjo M, Marquez J. Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002May; 34(5):439-58.