فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۲۸، جلد ۸، شماره ۱، زمستان۹۳، صفحه ۳۳ تا ۳۹

بررسی تاثیر مصرف مکمل ان استیل سیستئین بر غلظت TAC، MDA و CRP پلاسما موش های صحرایی نژاد ویستار پس از یک جلسه فعالیت بدنی درمانده ساز

علی عالی زاده [۱]، نجمه مبصری [۲]

۱- گروه تربیت بدنی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر. ایران. ali781a@yahoo.com
۲- دانشجوی کارشناسی، دانشگاه پیام نور بوشهر، بوشهر.ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱۰ تاریخ پذیرش:۹۳/۹/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: فعالیت بدنی تا سرحد خستگی با آزاد شدن اکسیژن فعال(ROS) و نیتروژن فعال(RNS) همراه است که به خوبی دارای یک نقش دوگانه به عنوان عامل زیان آور و مفید، شناخته شده است. ان استیل سیستئین(NAC) شکل استیله اسید آمینه L سیستئین است که در بدن تبدیل به متابولیت هایی می گردد که توانایی تحریک سنتز گلوتاتیون را داشته و در نتیجه باعث از بین بردن رادیکال آزاد می شوند. هدف از این بررسی تاثیرمصرف مکمل ان استیل سیستئین بر غلظت TAC، MDA و CRP پلاسما موش های صحرایی نژاد ویستار پس از یک جلسه فعالیت بدنی درمانده ساز است.

روش کار: دراین تحقیق از ۱۶ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ -۳۰۰ گرم و محدوده سنی ۸ - ۱۰ هفته که به ۲ گروه تقسیم شده، استفاده گردید. گروه اول قرص حل شدنی ان استیل سیستئین(۶۰۰ میلی گرم) که با گاواژ چهار ساعت قبل از آزمایش داده شده و گروه دوم به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. نمونه خونی یک ساعت قبل از ورزش درمانده ساز، بلافاصله بعد از ورزش درمانده ساز و یک ساعت بعد از ورزش درمانده ساز در حالت استراحت جمع آوری و شاخص های TAC، MDA و CRP اندازه گیری شد.

یافته ها: کاهش معنی داری در میزان غلظت مالون دی آلدهید(MDA) بلافاصله پس از ورزش درمانده ساز در گروه دریافت کننده NAC و در میزان غلظت ظرفیت آنتی اکسیدانی تام(TAC)، یک ساعت بعد از ورزش درمانده ساز در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. میزان غلظت پروتئین واکنشی C (CRP) در زمان قبل، بلافاصله و بعد از ورزش درمانده ساز هیچ گونه تفاوت معناداری را نشان نداد.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که مصرف ان استیل سیستئین به‌صورت خوراکی و چهار ساعت قبل از انجام ورزش درمانده ساز می تواند به‌طور معنی داری اثرات مخرب استرس اکسایشی را کاهش دهد.

واژه های کلیدی: ان استیل سیستئین، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام(TAC)، مالون دی آلدهید(MDA)، پروتئین واکنشی C(CRP)، ورزش درمانده ساز.

مقدمه

استرس بدنی به هنگام ورزش باعث اختلال موقت در هموستازی بدن می شود(۱۴). در حین فعالیت های ورزشی و هنگام فعالیت بدنی، عضلات اسکلتی اکثر ارگان‌های بدن، به طور مستقیم تحت تاثیر قرار می گیرند(۱۰). مطالعات نشان می دهد که ورزش می تواند آسیب ساختاری به سلول های عضلانی را القاء(۱۱)، و باعث تولید محصولات متابولیک، مانند لاکتات(۸) و اشکال اکسیژن فعال(ROS)(Reactive Oxygen Species) شود(۱). تولید اشکال فعال اکسیژن باعث افزایش تولید رادیکال های آزاد در طی فعالیت های نامنظم و طولانی مدت و در نتیجه باعث خستگی و

التهاب و آسیب شدید بافتی خواهد شد(۲)، که در نتیجه این آسیب انواع مختلفی از سایتوکین‌های پیش التهابی و التهابی از قبیل اینترلوکین ۱، اینترلوکین ۶، اینترفرون گاما، TNF-α و پروتئین واکنشی C(C-Reactive Protein) در خون ظاهر می شوند(۵). اگرچه شواهد قطعی نشان می دهد که افزایش تولید ROS ناشی از ورزش حاد ممکن است باعث عدم تعادل بین واسطه اکسیداتیو و سیستم های آنتی اکسیدان، افزایش چربی عضلات، اکسیداسیون پروتئین و توسعه استرس اکسیداتیو شود(۱۸، ۶). با توجه به نقش بسیار مهم رادیکال های آزاد در اکسیداسیون چربی، پروتئین و آسیبDNA، تعجب آور نیست که گروهی از مکانیزم های دفاعی آنتی اکسیدانی در بدن برای مقابله با اثرات تخریبی رادیکال های آزاد وجود داشته باشند. به طور کلی، آنتی اکسیدان ها دارای ظرفیت بالا برای واکنش با رادیکال های آزاد و اشکال واکنشی می باشد که اعمال آن‌ها را به حداقل می رساند و در نتیجه، باعث به تاخیر انداختن یا جلوگیری از استرس اکسیداتیو می شود(۱۷). ان استیل سیستئین(NAC) شکل استیله اسید آمینه L سیستئین، منبع عالی برای تولیدگروه سولفید می باشد که در بدن تبدیل به متابولیت هایی می شود که توانایی تحریک سنتز گلوتاتیون را داشته و باعث از بین بردن رادیکال آزاد شوند(۱۶، ۴). سیستئین می تواند به حفظ سطح گلوتاتیون کمک کند. گلوتاتیون خود از آنتی اکسیدان های اصلی در سیستم آنتی اکسیدانی سلولی می باشد. ویژگی موثر مکمل ان استیل سیستئین کاهش خستگی(۱۵) و تاثیر بر انقباضات زیربیشینه است(۹). هدف از این مطالعه تاثیر یک جلسه ورزش درمانده ساز و مکمل ان استیل سیستئین بر غلظت TAC، MDA و CRP در موش های صحرایی ماده می باشد.

مواد و روش ها

حیوان ها: در این تحقیق از ۱۶ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار در محدوده وزنی بین ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم و محدوده سنی ۸ الی ۱۰ هفته استفاده شد. حیوان ها در دمای ۲۰ الی۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری تاریکی ـ روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری می شدند و تغذیه موش ها از پلت مخصوص حیوانات استفاده گردید که دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. پروتکل های آزمایشی استفاده شده در این تحقیق بر اساس مصوبات کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بوشهر در مطالعات حیوانی می باشد.

گروه های آزمایشی: مطالعه حاضر شامل ۲ گروه آزمایشی بود. گروه اول قرص حل شدنی ان استیل سیستئین(۶۰۰ میلی گرم) بود که چهار ساعت قبل از آزمایش توسط گاواژ داده و گروه دوم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. مقدار ان استیل سیستئین داده شده 1ml به ازای هر kg ۱ وزن موش ها بوده است. نمونه خونی یک ساعت قبل از ورزش درمانده ساز، بلافاصله بعد از ورزش درمانده ساز و یک ساعت بعد از ورزش درمانده ساز در حالت استراحت جمع آوری شد. بلافاصله پس از خون گیری، خون سانتریفوژ شده و نمونه سرم جدا و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد ذخیره گردید. غلظت TAC ،MDA و CRP پلاسما توسط کیت آزمایشگاهی سنجش شد.

پروتکل تمرین درمانده ساز: تمرین با استفاده ازپروتکل ورزش شنا انجام گردید. مزایای این روش بیش از تردمیل می باشد، زیرا شنا یک توانایی طبیعی است که موش ها به طور گسترده ای از آن استفاده می کنند. آزمون با به کار گیری پروتکل درمانده ساز و با استفاده از ورزش شنا اجرا شد که موش های مورد آزمایش به صورت جداگانه در حوضچه های عمیق آب قرار داده و تا زمان رسیدن به خستگی درمانده ساز شنا داده شدند(زمان خستگی درمانده ساز زمانی در نظر

گرفته می شد که موش ها احساس خفگی می کردند). مشخصات استخر شنا در این مطالعه شامل: طول ۷۵ و عرض ۷۰ و ارتفاع (عمق) ۵۳ سانتی متر و دمای آب بین ۳۳ تا ۳۶ درجه سانتی گراد بود(۷).

تحلیل آماری: پس از اخذ نمونه های خونی از آزمودنی ها، آزمایش های لازم بر روی آنها انجام پذیرفت و اطلاعات خام اولیه به دست آمده جهت تجزیه و تحلیل و با توجه به حجم نمونه از آمارهای توصیفی و تحلیلی با استفاده از نرم افزار آماری SPSS Version 18 استفاده گردید. ابتدا میزان نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف(Kolmogrov-smirnov) مورد سنجش قرار گرفت. وجود اختلاف معنی دار بین داده ها با استفاده از روش ANOVA مورد بررسی قرار گرفته و برای مقایسه میانگین ها از آزمون post-hoc از Tukey test (α = ۰/۰۵) استفاده شد.

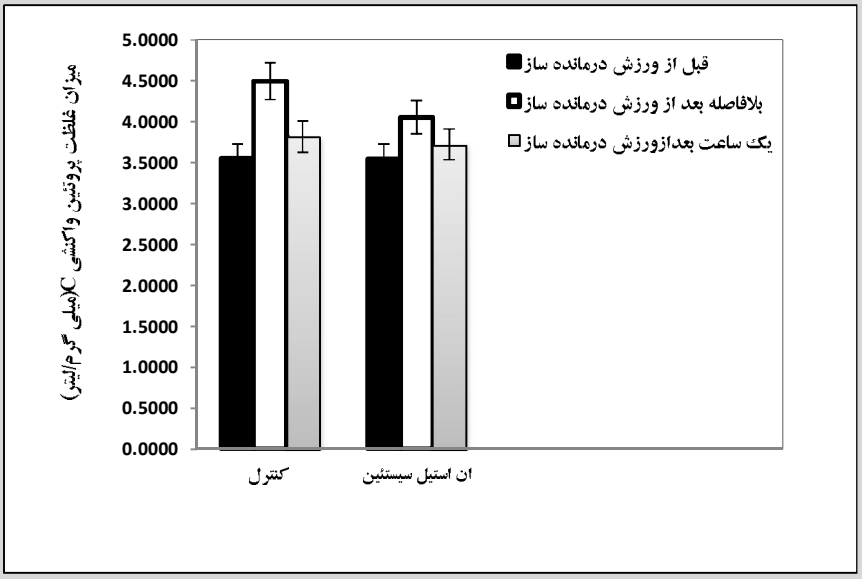
نتایج

میزان غلظت ظرفیت آنتی اکسیدانی تام(TAC) در گروه ان استیل سیستئین در زمان قبل از ورزش درمانده ساز افزایش یافته ولی تفاوت معنی داری وجود ندارد و بلافاصله بعد از ورزش درمانده ساز کاهش یافته ولی تفاوت معنی داری وجود ندارد ولی در زمان یک ساعت بعد از ورزش درمانده ساز کاهش معنی داری با گروه کنترل ورزشی را نشان داد(P<۰/۰۱)(نمودار۱).

نمودار۱ - تفاوت میزان غلظت TAC بین گروه تجربی(مصرف ان- استیل سیستئین) و گروه کنترل در زمان های مختلف(قبل، بلافاصله و بعد از ورزش درمانده ساز). میزان غلظت TAC بین گروه دریافت کننده NAC و گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود دارد(P<۰/۰۱).

میزان غلظت مالون دی آلدهید (MDA) در گروه ان استیل سیستئین در زمان قبل و یک ساعت بعد از ورزش درمانده ساز نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد ولی بلافاصله بعد از ورزش درمانده ساز کاهش معنی داری با گروه کنترل ورزشی را نشان داد (P<۰/۰۰۶)(نمودار ۲). میزان غلظت پروتئین واکنشی C (CRP) در گروه ان استیل سیستئین در سه بازه زمانی قبل، بلافاصله و بعد از ورزش درمانده ساز نسبت به گروه کنترل کاهش یافته ولی تفاوت معنی داری نشان نمی دهد(نمودار ۳).

نمودار۲- تفاوت میزان غلظت MDA بین گروه تجربی(مصرف ان- استیل سیستئین) وگروه کنترل در زمان های مختلف(قبل، بلافاصله و بعد از ورزش درمانده ساز). میزان غلظت MDA بین گروه دریافت کننده NAC و گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود دارد(۰۶/ P<۰).



نمودار ۳- تفاوت میزان غلظت CRP بین گروه تجربی(مصرف ان استیل سیستئین) و گروه کنترل در زمان های مختلف(قبل، بلافاصله و بعد از ورزش درمانده ساز). میزان غلظت CRP بین گروه دریافت کننده NAC و گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود ندارد(۲۸/ ۰<P).

بحث و نتیجه گیری

دراین مطالعه تاثیر یک جلسه ورزش درمانده ساز و مکمل ان استیل سیستئین بر غلظت TAC، MDA و CRP در موش های صحرایی ماده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که در گروه ان استیل سیستئین مقدار غلظت محصول نهایی پراکسیداسیون

چربی‌ها(مالون دی آلدئید) بلافاصله پس از خستگی مفرط ناشی از ورزش درمانده ساز کاهش می یابد و تفاوت معنی داری را نشان می دهد ولی در مدت زمان یک ساعت پس از اتمام فعالیت تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد. توضیح این موضوع بر این اساس استوار می باشد که مصرف ان استیل سیستئین(NAC) که شکل استیله اسید آمینه L- سیستئین بوده و یک منبع عالی برای تولید گروه سولفید می باشد و در بدن تبدیل به متابولیت هایی می شود که توانایی تحریک سنتز گلوتاتیون را داشته و از طریق افزایش سطح گلوتاتیون / سیستئین و پیوند با متابولیت فعال باعث به حداقل رساندن اثرات منفی رادیکال های آزاد در انقباض عضلانی شده و آسیب های سلولی را کاهش می دهند(۱۶، ۴). ویژگی موثر مکمل ان استیل سیستئین کاهش خستگی(۱۵) و تاثیر بر انقباضات زیربیشینه است(۹). مطالعات متعددی در تأیید نتایج این بررسی انجام گرفته است که نشان گر افزایش سطوح خونی TBARS(مواد واکنش دهنده با تیوباربیوتیک اسید) که اختصاصاً همان MDA در افراد غیر ورزشکار که فقط یک بار تحت فشارهای ورزشی درمانده ساز قرار گرفته بودند، می باشد و هم‌چنین مصرف مکمل ان استیل سیستئین به‌صورت خوراکی باعث کاهش غلظت مالون دی آلدهید می گردد که این خود موافق با نتایج مطالعه ما می باشد(۱۴). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان غلظت CRP بین گروه دریافت کننده NAC و گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود ندارد. از طرفی تحقیقات نشان داده که یک رابطه معکوسی بین فعالیت بدنی، آمادگی جسمانی و مقادیر CRP وجود دارد(۳). هر چند به طور کلی ساز و کار واقعی رابطه فعالیت ورزشی و کاهش مقادیر CRP مشخص نیست. این فرآیند به طور مستقیم از طریق افزایش نیتریک اکساید حاصل از اندوتلیال، باعث بهبود عملکرد اندوتلیال و افزایش عوامل آنتی اکسیدانی می-گردد که حاصل آن کاهش التهاب سیستمیک و موضعی و در نتیجه کاهش تولید سایتوکین‌های التهابی از عضلات صاف دیواره اندوتلیال است و تأثیر نهایی آن احتمالاً کاهش تولید شاخص های التهابی CRP می-باشد(۱۲). طالبی و همکاران به بررسی اثر تمرینات مقاومتی بر شاخص های التهابی در موش های دیابتی پرداختند که نتایج نشان داد که در پاسخ به ۴ هفته تمرینات مقاومتی مقادیر CRP، اینترلوکین شش و TNF-α کاهش می یابد(۱۸). این محققان دریافتند که تمرین با شدت و مدت مناسب و هم‌چنین با استراحت کافی بین وهله های تمرین دارای آثار ضد التهابی در موش های دیابتی دارد. از طرفی، لاورا و همکاران(۳) نیز نشان دادند که تمرین استقامتی و مقاومتی میزان CRP را کاهش می دهد. نتایج نشان داد که مقادیر CRP در گروه استقامتی + مقاومتی نسبت به گروه استقامتی و گروه کنترل فعال کاهش معناداری می یابد. دلایل تناقض یافته های پژوهش های مختلف را می توان به تفاوت سطح آمادگی آزمودنی ها نسبت داد. در این مطالعه، میزان مصرف آنتی اکسیدانی تام خون(Total Antioxidant Capacity) در زمان بلافاصله بعد از ورزش درمانده ساز افزایش یافته، اما تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد ولی در زمان یک ساعت بعد از ورزش درمانده ساز در گروه دریافت کننده مکمل ان استیل سیستئین به‌طور معنی داری افزایش یافته است که این خود نقش این ماده را به عنوان یک مکمل غذایی جهت افزایش قدرت آنتی اکسیدانی بدن در ورزشکاران ثابت می نماید. به خوبی معلوم شده که TAC شامل آنزیم هایی مانند سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و ماکرو مولکول هایی مانند آلبومین، سروپلاسمین و فریتین است(۸). اندازه گیری TAC ممکن است اطلاعات بیشتری را نسبت به اندازه گیری تک تک اجزای آن در اختیار ما قرار دهد، زیرا TAC برآیند فعالیت کل آنزیم های آنتی اکسیدانی

وآنتی اکسیدانی های موجود در پلاسما و خون می باشد(۳). بررسی ها نشان داد که ان استیل سیستئین محتوای سیستئین مسنول بخشی از افزایش TAC به‌وسیله افزایش در گلوتاتیون است. سازوکار حفاظتی پیشنهاد شده برای اثر حفاظتی ان استیل سیستئین همانند پروتئین وی با افزایش سطح گلوتاتیون / سیستئین در خون و بافت مربوط می شود که این موجب از بین بردن تولیدات رادیکال های آزاد می گردد(۶) که با یافته های به‌دست آمده از تحقیق حاضر هماهنگی دارد. بررسی هایی که تحت شرایط ورزش شدید انجام گرفته است نشان می دهد که مصرف NAC به‌صورت تزریقی باعث کاهش شاخص های اکسیدانی در خون گردیده ولی هیچ‌گونه تغییری در زمان خستگی ایجاد نمی نماید(۱۳). نتایج از مطالعه حاضر نشان می دهد که میزان غلظت ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در گروه دریافت کننده ان استیل سیستئین در زمان یک ساعت بعد از ورزش درمانده ساز کاهش معنی داری مشاهده گردید. غلظت مالون دی آلدهید درگروه دریافت کننده ان استیل سیستئین بلافاصله بعد از ورزش درمانده ساز کاهش معنی داری را نشان داد. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می دهد که مصرف ان استیل سیستئین به‌صورت خوراکی و چهار ساعت قبل از انجام ورزش درمانده ساز میه تواند به طور معنی داری ظرفیت آنتی اکسیدانی را کاهش دهد.

منابع

1. Alessio, HM., Hagerman, AE., Fulkerson, BK., Ambrose, J., Rice, RE. (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. Med Sci Sports Exerc, 32; 1576–1581.

2. Boulc, N., Kenny, G., Haddad, E., Wells, G., Sigal, R. (2003). Effect of exercise on glycemic controland body mass in type 2 diabetes mellitus. Diabetologia, 46(8); 1071-1081.

3. Daray, L. A., Henagan, T. M., Zanovec, E. M., C. P., Johnson, L. G., Winchester, J., Stewart, G. T. L. K. (2011). Endurance and resistance training lowers C-reactive protein in young, healthy females. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism, 36(5); 660-670.

4. Diniz, YS., Rocha, KK., Souza, GA. (2006). Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. Eur J Pharmacol, 14(1-3); 151-7.

.Dixon, NC

5. ., Hurst, TL., Talbot, DC., Tyrrell, RM., Thompson, D. (2012). Effect of short-term reduced physical activity on cardiovascular risk factors in active lean and overweight middle-aged men. Metabolism - Clinical and Experimental, 20(3);51-62.

6.Fogarty, MC., Hughes, CM., Burke, G., Brown, JC., Trinick, TR. (2011). Exercise-induced lipid peroxidation: Implications for deoxyribonucleic acid Damage and systemic free radical generation. Environ Mol Mutagen, 52; 35–42.

7. Gad, A.S., Khadrawy, Y.A., El-Nekeety, A.A., Mohamed, S.R., Hassan,N.S., Abdel-Wahhab, M.A. (2011). Antioxidant activity and hepato protective effects of whey protein and Spirulina in rats. Nutrition, 27(5); 582-9.

8. Gobatto, CA., de Mello, MA., Sibuya, CY., de Azevedo, JR., dos Santos, LA. (2001). Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. Comp Biochem. Physiol A Mol Integr Physiol, 130; 21–27.

9. Hernández, A., Cheng, A., Westerblad, H. (2012). Antioxidants and skeletal muscle performance: Common knowledge vs. experimental evidence. Front Physiol, 3(46);45-50.

10. Hoene, M., Franken, H., Fritsche, L., Lehmann, R., Pohl, AK. (2010). Activation of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signalling pathway in the liver of mice is related to plasma glucose levels after acute exercise. Diabetologia, 53;1131–1141.

11. Lenton, K.J., Sané, A.T., Therriault, H., Cantin, A.M., Payette, H., Wagner,J.R. (2003). Vitamin C augments lymphocyte glutathione in subjects with ascorbate deficiency. Am J Clin Nutr, 77(1); 189-95.

12. Liu, T. M., Zhang, Y. L. (2012). Experimental study on the glutamine's intervention effect on the opening of permeability transition pore in myocardial mitochondrial membrane. Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi, 28(1); 34–37.

13. Mastorakos, G., Pavlatou, M. (2005). Exercise as a stress model and the inter play between the hypothalamus–pituitary–adrenal and the hypothalamus–pituitary–thyroid axes. Horm Metab Res, 37; 577–584.

14. Medved, I., Brown, M.J., Bjorksten, A.R., McKenna, M.J. (2004a). Effects of intravenous N-acetylcysteine infusion on time to fatigue and potassium regulation during prolonged cycling exercise. J. Appl.Physiol, 96; 211–217.

15. Powers, S. K., Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. Physiological Reviews, 88; 1243-1276.

16. Rana, SV., Attri, S., Vaiphei, K., Pal, R., Attri, A., Singh, K. (2006). Role of N-acetylcysteine in rifampicin-induced hepatic injury of young rats. World J Gastroenterol, 12(2); 287-291.

17. Powers, S. K., Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production, Physiological Reviews, 88(4); 1243–1276.

18. Talebi-, E., Safarzade, A. (2012). Resistance training decreases serum inflammatory markers in diabetic rats. Springer, Endocrine, 10; 108-120.