دانشکده ادبیات و علوم انسانی
گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی

تأثیر مصرف متیل سولفونیل متان بر گلوتاتیون پلاسما و پروتئین کربونیل شده متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدید

اساتید راهنما
دکتر بابک نخستین روحی
دکتر شهاب بهلولی

توسط
نسرین واعظی

دانشگاه محقق اردبیلی

دی 1388

نام خانوادگی دانشجو: واعظی نام : نسرین

عنوان پایان نامه: تأثیر مصرف متیل سولفونیل متان بر گلوتاتیون پلاسما و پروتئین کربونیل شده متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدید

اساتید راهنما: دکتر بابک نخستین روحی و دکتر شهاب بهلولی

رشته: تربیت بدنی و علوم ورزشی مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد گرایش: فیزیولوژی ورزش

دانشگاه: محقق اردبیلی دانشکده: ادبیات و علوم انسانی تاریخ فارغ التحصیلی: 88/09/10

تعداد صفحه: 125

کلید واژه ها: استرس اکسیداتیو، متیل سولفونیل متان، گلوتاتیون، پروتئین کربونیل شده، ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال

چکیده:

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر مصرف متیل سولفونیل متان (MSM) بر گلوتاتیون پلاسما و پروتئین کربونیل شده متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدید بود. بدین منظور شانزده مرد سالم و غیر فعال با میانگین سن 0/3 ± 20/5 سال، وزن 3/1 ± 72/36 کیلوگرم و قد 1/2 ± 173/6 سانتی متر، به طور تصادفی به دو گروه مکمل و پلاسبو تقسیم شدند. نمونه های خونی 2 ساعت و بلافاصله قبل و بلافاصله، 2 و 24 ساعت پس از فعالیت جمع آوری شد. پس از اولین خونگیری، گروه مکمل و پلاسبو به ترتیب 100 میلی گرم متیل سولفونیل متان به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن و پلاسبو دریافت کردند. بعد از 2 ساعت، آزمودنی ها به مدت 45 دقیقه و با سرعت معادل 80 درصد VO_{2max} ، بر روی تریدمیل دویدند و سپس با افزایش سرعت به واماندگی رسیدند. گلوتاتیون (GSH) به روش HPLC و پروتئین کربونیل شده (PC)، ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال (TAC) و کراتین کیناز (CK) به روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری گردید. نتایج تجزیه و تحلیل آماری داده ها که با آزمون آنوای دو طرفه با اندازه گیری مکرر با تصحیح بونفرونی انجام گرفت، هیچ تفاوت معنی داری بین دو گروه در اندازه گیری GSH و CK نشان نداد. اما در مورد PC در زمان های 2 و 24 ساعت بعد و در مورد TAC در زمان 24 ساعت پس از فعالیت در بین دو گروه تفاوت معنی دار دیده شد ($P< 0/05$). به نظر می رسد تجویزحاد و یک وهله ای متیل سولفونیل متان، تا حدودی توانست سبب کاهش استرس اکسیداتیو شده ولی تأثیر معنی داری بر شاخص آسیب عضلانی (CK) نداشت.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: کلیات

مقدمه 2

بیان مسئله 3

ضرورت و اهمیت انجام تحقیق 7

اهداف تحقیق 9

هدف کلی 9

اهداف ویژه 9

فرضیات تحقیق 10

محدودیت های تحقیق 10

محدودیت قابل کنترل 10

محدودیت غیر قابل کنترل 10

تعاریف کاربردی واژه ها 11

رادیکال های آزاد 11

متیل سولفونیل متان 11

گلوتاتیون 11

پروتئین کربونبل شده 12

ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال 12

کراتین کیناز 12

فعالیت هوازی شدید 13

افراد غیر فعال 13

مصرف حاد 13

فصل دوم: مبانی نظری و ادبیات تحقیق

مقدمه 15
بخش اول: مبانی نظری 15
فرآیند استرس اکسیداتیو 15
گونه های اکسیژن فعال 16
رادیکال های آزاد 16
منابع تولید رادیکال های آزاد 17
آسیب های ایجاد شده توسط رادیکال های آزاد 18
سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی 18
مواد آنتی اکسیدانی طبیعی اصلی 19
مکمل های آنتی اکسیدانی 20
اندازه گیری استرس اکسیداتیو در انسان 21
وضعیت ردوکس درون سلول 23
فعالیت بدنی و استرس اکسیداتیو 23
مکانیسم های تولید رادیکال های آزاد در جریان ورزش هوازی 24
سولفور 25
اسیدآمینه های آنتی اکسیدانی دارای سولفور 26
تیول ها 27
متیل سولفونیل متان 28
گلوتاتیون 29
هموستاز گلوتاتیون به هنگام ورزش 33
اکسیداسیون پروتئین ها 34
پروتئین کربونیل شده 35
فعالیت بدنی و اکسیداسیون پروتئین ها 36
ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال 37
کراتین کیناز 37
فعالیت بدنی و تغییرات کراتین کیناز 38
بخش دوم: پیشینه تحقیق 39
الف) تحقیقات انجام شده در رابطه با تأثیر فعالیت بدنی بر شاخص های استرس اکسیداتیو و آسیب عضلانی 39

1- تأثیر فعالیت بدنی بر گلوتاتیون 39
2- تأثیر فعالیت بدنی بر پروتئین کربونیل شده 42
3- تأثیر فعالیت بدنی بر ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال
43
4- تأثیر فعالیت بدنی بر کراتین کیناز 45
ب) تحقیقات انجام شده در رابطه با تأثیر مکمل های آنتی اکسیدانی بر شاخص های استرس اکسیداتیو
و آسیب عضلانی 46
1- تأثیر مکمل های آنتی اکسیدانی بر گلوتاتیون 46
2- تأثیر مکمل های آنتی اکسیدانی بر پروتئین کربونیل شده 50
3- تأثیر مکمل های آنتی اکسیدانی بر ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال 51
4- تأثیر مکمل های آنتی اکسیدانی بر کراتین کیناز 53

فصل سوم: روش شناسی تحقیق

مقدمه 56
روش تحقیق 56
جامعه آماری 56
نمونه و روش نمونه گیری 56
معیارهای ورود به طرح 57
متغیرهای تحقیق 57
الف) متغیرهای مستقل 57
ب) متغیرهای وابسته 58
ابزار جمع آوری اطلاعات 58
شیوه اجرای طرح 62
1- مرحله ارزیابی اولیه 62
2- مرحله انتخاب آزمودنی ها 65
3- مرحله ارزیابی نهایی 65
ثبت مواد غذایی 68
کروماتوگرافی 69
روش اندازه گیری گلوتاتیون با HPLC 70
مشخصات دستگاه HPLC 70

اسپکتروفتومتری 71
اجزای دستگاه 71
روش اندازه گیری پروتئین کربونیل شده 72
روش اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال 73
روش اندازه گیری کراتین کیناز 74
روش تجزیه و تحلیل آماری 76

فصل چهارم: نتایج تحقیق
مقدمه 78
تجزیه و تحلیل توصیفی داده ها 78
تجزیه و تحلیل استنباطی داده ها 79
فرضیه اول 79
فرضیه دوم 83
فرضیه سوم 86
فرضیه چهارم 89

فصل پنجم: بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات
مقدمه 95
تغییرات غلظت گلوتاتیون پلاسما 95
تغییرات میزان پروتئین کربونیل شده 98
تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال 100
تغییرات میزان کراتین کیناز 102
نتیجه گیری 104
پیشنهادات 105
پیشنهادات کاربردی 105
پیشنهادات پژوهشی 105
پیوست ها
پیوست 1- فرم رضایت نامه 107
پیوست 2- پرسش نامه وضعیت تندرستی 108

پیوست 3- شرایط حضور در تحقیق 110
پیوست 4- پرسش نامه یادآمد خوراک 24 ساعت 111
پیوست 5- فهرست مواد غذایی مصرفی و واحد مصرف آن ها 112
منابع 114
منابع فارسی 114
منابع انگلیسی 115

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول 3-1- مراحل اجرای آزمون بروس 64
جدول 4-1- مشخصات فردی آزمودنی ها در دو گروه پلاسبو و مکمل 78
جدول 4-2- مقادیر غذای مصرفی در سه روز قبل، روز آزمون و یک روز پس از آن در دو گروه پلاسبو و مکمل 79
جدول 4-3- غلظت GSH در دو گروه و در هر نوبت اندازه گیری 80
جدول 4-4- تفاوت های درون گروهی در غلظت GSH پلاسما 81
جدول 4-5- تفاوت های بین گروهی غلظت GSH در دفعات مختلف اندازه گیری 82
جدول 4-6- غلظت PC در دو گروه و در هر نوبت اندازه گیری 83
جدول 4-7- تفاوت های درون گروهی در غلظت PC 84
جدول 4-8- تفاوت های بین گروهی غلظت PC در دفعات مختلف اندازه گیری 85
جدول 4-9- غلظت TAC در دو گروه و در هر نوبت اندازه گیری 86
جدول 4-10- تفاوت های درون گروهی در غلظت TAC 87
جدول 4-11- تفاوت های بین گروهی غلظت TAC در دفعات مختلف اندازه گیری 88
جدول 4-12- غلظت CK در دو گروه و در هر نوبت اندازه گیری 90
جدول 4-13- تفاوت های درون گروهی در غلظت CK 91
جدول 4-14- تفاوت های بین گروهی غلظت CK در دفعات مختلف اندازه گیری 92

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل 2-1: چرخه ردوکس تیول ها 28
شکل 2-2: چرخه تبدیل GSH و GSSG به یکدیگر 31
شکل 2-3: تولید NADPH در چرخه پنتوز فسفات 31
شکل 3-1: کالیپر (مدل هارپندن) 60
شکل 3-2: دستگاه سنجش قد و وزن (مدل سکا) 60
شکل 3-3: دستگاه نوارگردان (مدل تکنوجیم) 60
شکل 3-4: پولار 61
شکل 3-5: لوله آزمایش 61
شکل 3-6: دستگاه بن ماری 61
شکل 3-7: دستگاه سانتریفوژ 61
شکل 3-8: وسیله نمونه بردار (سمپلر) 61
شکل 3-9: میکروتیوب و جای میکروتیوب 61
شکل 3-10: دستگاه اسپکتروفتومتر 62
شکل 3-11: دستگاه HPLC 62
شکل 3-12: اندازه گیری چربی زیر پوستی از ناحیه سینه 63
شکل 3-13: اندازه گیری چربی زیر پوستی از ناحیه ران 63
شکل 3-14: اندازه گیری چربی زیر پوستی از ناحیه شکم 63
شکل 3-15: اجرای پروتکل اصلی بر روی دستگاه نوارگردان 67
شکل 3-16: تزریق نمونه توسط سرنگ هامیلتون به دستگاه HPLC 71

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار 4-1- غلظت گلوتاتیون در دو گروه و در هر نوبت اندازه گیری 82

نمودار 4-2- غلظت پروتئین کربونیل شده در دو گروه و در هر نوبت اندازه گیری 85

نمودار 4-3- غلظت ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال در دو گروه و در هر نوبت اندازه گیری 88

نمودار 4-4- غلظت کراتین کیناز در دو گروه و در هر نوبت اندازه گیری 92

فصل اول

کلیات

مقدمه

فعالیت بدنی جزئی جدایی ناپذیر از حیات انسان است. از بازی های کودکانه گرفته تا حرکات ریتمیک و بالاخره ورزش قهرمانی و حرفه ای، همگی از مصادیق عینی فعالیت بدنی به شمار می روند (واربورتون و همکاران[1]، 2006). امروزه ورزش و فعالیت بدنی به عنوان یکی از ابزارهای شناخته شده برای حفظ و ارتقای سطح تندرستی در طول عمر تلقی می شود (راداک[2]، 1383).

از مزایای مهمی که ورزش و فعالیت بدنی برای بدن به همراه دارد، می توان به افزایش آمادگی جسمانی، پیش گیری از بیماری های مختلف و بهبود کیفیت زندگی اشاره کرد (جی و همکاران[3]، 2008). در حالی که فعالیت بدنی منظم، دارای مزایای بسیاری در رابطه با تندرستی است، می توان آن را به عنوان یک عامل استرس زای بدنی شدید در نظر گرفت که احتمالا به دلیل تولید مقادیر فراوان گونه های اکسیژن و نیتروژن فعال، می تواند سلول ها را در معرض آسیب های اکسیداتیو قرار دهد (بلویرانلی و همکاران[4]،2006).

افزایش مصرف اکسیژن طی فعالیت بدنی ممکن است به این نتیجه گیری منجر شود که فعالیت خطرناک است. زیرا رادیکال های آزاد را تولید می کند و باعث آسیب اکسیداتیو می شود. بنابراین آیا فعالیت بدنی واقعا خطرناک است؟ به طور مسلم خیر. یک زندگی فعال همراه با تغذیه متعادل، برای بهبود کیفیت زندگی و تامین تندرستی ضروری است (راداک، 1383). سیستم آنتی اکسیدانی بدن از سلول ها در برابر آسیب های ناشی از گونه های فعال اکسیژن و نیتروژن دفاع کرده و شامل ترکیبات اندوژن و اگزوژن می باشد. ترکیبات اگزوژن در رژیم غذایی وجود داشته و عموما از طریق سبزی ها و میوه ها به بدن می رسند (فیشر و همکاران[5]، 2009). از آن جا که در برخی شرایط ممکن است مقدار آنتی اکسیدان های اندوژن جهت محافظت از بدن در برابر آسیب های ناشی از استرس اکسیداتیو کافی نباشد، لذا استفاده از مکمل های آنتی اکسیدان می تواند در

1. Warburton et al.
2. Radak
3. Ji et al.
4. Belviranli et al.
5. Fisher et al.

راستای کاهش شدت آسیب ها مفید بوده و حاشیه امنیتی بزرگتری را در برابر تاثیرات احتمالی آن به وجود آورد (بونینا و همکاران[6]، 2005).

در سال های اخیر توجه زیادی به موضوع استفاده از آنتی اکسیدان های خوراکی جهت مقابله با پراکسیدهای تولید شده به هنگام فعالیت بدنی شده است (زنگ و همکاران[7]، 2004). لذا در تحقیق حاضر نیز به بررسی خواص آنتی اکسیدانی یکی دیگر از مواد آنتی اکسیدان (که بسیار کم مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است)، در رابطه با شاخص های گوناگون استرس اکسیداتیو پرداخته شده است.

بیان مسئله

سال هاست که اثرات مفید و سودمند فعالیت بدنی منظم و غیر وامانده ساز ثابت شده است. شواهد انکارناپذیری مبنی بر مؤثر بودن فعالیت بدنی در پیش گیری از بسیاری از بیماری های مزمن (مانند بیماری های قلبی عروقی، دیابت، سرطان، فشار خون بالا، چاقی، افسردگی و پوکی استخوان) و مرگ زودرس وجود دارد. با این وجود، زمانی که فعالیت بدنی به صورت شدید و وامانده ساز انجام گیرد، این تاثیرات مفید از بین رفته و چنین فعالیتی منجر به آسیب های ساختاری سلول های عضلانی می شود (گومز و همکاران[8]، 2007)؛ چرا که فعالیت بدنی شدید موجب افزایش تولید گونه های اکسیژن فعال[9] (ROS) در عضلات در حال فعالیت می گردد (نیکولایدیس و همکاران[10]، 2006).

گونه های اکسیژن فعال، یک واژه عمومی است که به مولکول های مشتق از اکسیژن مولکولی که گونه های فعالی هستند و یا به آسانی به گونه های فعال تبدیل می شوند، اطلاق می گردد. 95 تا 98 درصد از اکسیژن مصرف شده طی متابولیسم هوازی به آب احیا می گردد، اما بخش باقی مانده ممکن است تبدیل به محصولات فرعی اکسیداتیو یعنی گونه های اکسیژن فعال شود (لخی و همکاران[11]، 2007). در جریان فعالیت های شدید، افزایش فوق العاده ای در مصرف

---

6. Bonina et al.
1. Zhang et al.
2. Gomez et al.
3. Reactive Oxygen Species
4. Nikolaidis et al.
5. Lekhi et al.

اکسیژن در ارگان های مختلف به ویژه در عضلات اسکلتی رخ می دهد (موریلاس و همکاران[۱۲] ، 2006).

به هنگام فعالیت بدنی، زمانی که مصرف اکسیژن به 10 تا 20 برابر زمان استراحت افزایش می یابد، احتمال این که رادیکال های آزاد به مقدار بسیار زیادی نسبت به حالت استراحت تولید شوند، وجود دارد (لخی و همکاران، 2007). افزایش مصرف اکسیژن، همراه با پدیده ایسکیمی و خون رسانی مجدد و التهاب، از منابع اصلی تولید گونه های اکسیژن فعال به هنگام و پس از فعالیت بدنی می باشد (فیناد و همکاران[۱۳]، 2005).

رادیکال های آزاد از جمله این گونه های اکسیژن فعال و مولکول های دارای الکترون جفت نشده در خارجی ترین لایه الکترونی خود هستند. تولید کنترل نشده گونه های اکسیژن فعال در درون سلول، باعث می شود تا مولکول های زیستی مثل اسیدهای نوکلئیک، پروتئین ها و لیپیدها اکسید و در نتیجه آن اطلاعات ژنتیکی و ماهیت طبیعی پروتئین ها تغییر کند؛ آنزیم ها غیر فعال شوند و غشاهای زیستی دچار اختلال گردند (راداک، 1383).

منبع اصلی تولید گونه های اکسیژن فعال در جریان فعالیت بدنی شدید، نشت الکترون از زنجیره انتقال الکترونی در میتوکندری است. دیگر منابع مهم عبارتند از: نوتروفیل های فعال، ماکروفاژهای فراخوانده شده به منظور ترمیم بافت های آسیب دیده، تغییرات متابولیسم پروستانوئید و کاتکولامین و تغییرات به وجود آمده در سطح فعالیت آنزیم های اگزانتین اکسیداز و نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADPH) اکسیداز (تساکریس و همکاران[۱۴]، 2006).

برای برطرف کردن آسیب های ناشی از رادیکال ها، ارگانیسم های مختلف هم به دفاع آنتی اکسیدانی و هم به وجود مکانیسم های ترمیمی آسیب های اکسیداتیو نیازمندند (سکندری و همکاران[۱۵]، 2008). در سلول دفاع های آنتی اکسیدانی معمولاً به دو دسته تقسیم می شوند: آنزیمی و غیر آنزیمی. آنزیم های آنتی اکسیدانی شامل سوپراکسید دسمیوتاز[۱۶] (SOD)، گلوتاتیون

---

6. Morillas et al.

1. Finaud et al.

2. Tsakiris et al.

3. Skenderi et al.

4. Superoxide dismutase

پراکسیداز[۱۷] (GPX) و کاتالاز[۱۸] (CAT) هستند. اصلی ترین آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی عبارت است از گلوتاتیون احیا شده (GSH)، ویتامین C و E (تساکریس و همکاران، 2006).

چنان چه تولید رادیکال های آزاد به اندازه ای باشد که بتواند بر سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی بدن غلبه نماید، استرس اکسیداتیو به وجود خواهد آمد (پندلتون و همکاران[۱۹]، 2008 و اسکولپیس و همکاران[۲۰]، 2006).

میزان آسیب های ایجاد شده توسط استرس اکسیداتیو، به وسیله شاخص های مختلفی اندازه گیری می شود. به عنوان مثال نسبت غلظت گلوتاتیون احیا شده (GSH) به گلوتاتیون اکسید شده (GSSG)، می تواند به عنوان شاخصی از استرس اکسیداتیو استفاده شود، زیرا گلوتاتیون احیا شده یکی از فراوان ترین آنتی اکسیدان های موجود در سیستم های بیولوژیکی است (راداک، 1383). تبدیل GSSG به GSH، توسط آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز[۲۱](GR) انجام می گردد که برای این کار به کوفاکتور NADPH نیاز دارد. NADPH توسط مسیر پنتوز فسفات[۲۲] که در گلبول های قرمز فعال است، تولید می گردد (هارپر[۲۳]، 1382).

میزان پروتئین های اکسید شده در اثر استرس اکسیداتیو نیز، اغلب از طریق کربونیل های فعال اندازه گیری می شود (آدامز و همکاران[۲٤]، 2001). افزایش فعالیت آنزیم های عضلانی مانند کراتین کیناز، یکی از شاخص هایی است که حاکی از آسیب عضلانی در اثر استرس اکسیداتیو می باشد (راداک، 1383). اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال نیز، یکی از رایج ترین روش های به کار گرفته شده جهت اندازه گیری میزان آنتی اکسیدان های محلول در آب موجود در مایعات بیولوژیکی است (موریلاس و همکاران، 2006).

فعالیت بدنی شدید، تعادل فیزیولوژیکی بهینه موجود بین واکنش های اکسیداتیو و ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن را مختل می گرداند (موریلاس و همکاران، 2006). به دلیل آنکه در برخی شرایط، مقدار آنتی اکسیدان های اندوژن ممکن است جهت محافظت از بدن در برابر استرس اکسیداتیو کافی نباشد، استفاده از مکمل های آنتی اکسیدانی می تواند جهت کاهش شدت استرس

---

5. Glutathione peroxidase
6. Catalase
1. Pendleton et al.
2. Schulpis et al.
3. Glutathione reductase
4. Pantose Phosphate Pathway
5. Harper
6. Adams et al.

اکسیداتیو مفید بوده و حاشیه امنیتی بزرگتری را در برابر تاثیرات احتمالی آن به وجود آورد (بونینا و همکاران، 2005).

این موضوع مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است. برخی از محققین به بررسی تاثیر مصرف آنتی اکسیدان های سولفوردار بر شاخص های استرس اکسیداتیو و آسیب عضلانی پرداخته اند. به عنوان مثال، تساکریس و همکاران (2006) و اسکولپیس و همکاران (2006) با مکمل ال- سیستئین، پندلتون و همکاران (2008) و خانا و همکاران[۲۵] (1999) با مکمل آلفا لیپوئیک اسید، و مدود و همکاران[۲۶] (2004) با استفاده از مکمل ان- استیل سیستئین، تاثیر این آنتی اکسیدان های سولفوردار را بر استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت بدنی مورد مطالعه قرار داده اند.

برخی دیگر از پژوهش ها با استفاده از سایر آنتی اکسیدان ها (مانند ویتامین C و ویتامین E) انجام یافته و اثر آن ها بر شاخص های استرس اکسیداتیو و آسیب عضلانی بررسی شده است (نخستین روحی و همکاران، 2008 و تساکریس و همکاران، 2006).

سولفور به علت ترکیب با اسیدهای آمینه، پروتئین ها، آنزیم ها، ویتامین ها و دیگر بیومولکول ها، عنصر مهمی برای تمام جانداران است. اصطلاح تیول[۲۷] اشاره به ترکیبات حاوی سولفور دارد.

تیول های موجود در پلاسما، معمولا به عنوان آنتی اکسیدان در نظر گرفته می شوند (آتماکا[۲۸]، 2004 و پارسل و همکاران[۲۹]، 2002). ترکیبات آنتی اکسیدانی حاوی سولفور، برای مقابله با بسیاری از شرایط ایجاد کننده استرس اکسیداتیو، می توانند مفید واقع گردند. اسیدآمینه های آنتی اکسیدانی حاوی سولفور عبارتند از: سیستئین، متیونین، تائورین، گلوتاتیون (GSH)، لیپوئیک اسید (LA)، ان- استیل سیستئین (NAC) و ... تخلیه ذخایر GSH، که مهم ترین آنتی اکسیدان درون سلولی است، منجر به افزایش میزان آسیب پذیری سلول در برابر استرس اکسیداتیو می گردد. استفاده از اسید آمینه های سولفوردار، مؤثرترین روش جهت بازسازی ذخایر GSH می باشد (آتماکا، 2004).

---

1. Khana et al.
2. Medved et al.
3. Thiol
4. Atmaca
5. Parcell et al.

در ورزشکاران گیاه خوار و کودکان یا بیماران مبتلا به ایدز، به دلیل افزایش احتمال کمبود اسیدآمینه های دارای سولفور، مصرف این اسیدآمینه ها یا مکمل های پروتئینی حاوی آن ها، می تواند حائز اهمیت باشد. کاهش GSH پلاسما در ورزشکاران در اثر فشار بدنی زیاد در حین فعالیت بدنی، امری اجتناب ناپذیر است. در نتیجه برای جبران از دست رفتن ذخایر گلوتاتیون، می توان از اسیدآمینه های حاوی سولفور مانند متیونین و سیستئین استفاده نمود (آتماکا، 2004 و پارسل و همکاران، 2002).

متیل سولفونیل متان[30](MSM) یکی از ترکیبات حاوی سولفور است. این ماده به راحتی در آب حل شده و 34 درصد از آن را عنصر سولفور تشکیل می دهد (پارسل و همکاران، 2002). مکمل های رژیم غذایی دارای سولفور مانند MSM ، پس از جذب شدن، می توانند میزان پایین GSH موجود در بدن را که ناشی از کمبود آن در رژیم غذایی است، جبران کنند (نیم نی و همکاران[31]، 2007). محققین در پژوهشی تاثیر مصرف متیل سولفونیل متان را در افزایش میزان ذخایر سولفوری اسید های آمینه، بر روی خوکچه های هندی مشاهده نمودند (ریچموند[32]، 1986).

در اینجا سؤالی که مطرح می شود این است که آیا MSM با دارا بودن چنین خواصی می تواند سبب افزایش میزان آنتی اکسیدان های درون سلولی (از جمله GSH) و در نتیجه کاهش شدت آسیب های ناشی از استرس اکسیداتیو گردد؟

ضرورت و اهمیت انجام تحقیق

فعالیت بدنی منظم و ورزش برای بدن مفید است (اسکولپیس و همکاران، 2006). با وجود این، فعالیت بدنی شدید، به دلیل تولید مقادیر فراوان رادیکال های آزاد و به موجب آن ایجاد استرس اکسیداتیو، ممکن است تهدید کننده سلامت ورزشکار باشد (سکندری و همکاران، 2008).

افزایش میزان آنتی اکسیدان های موجود در سلول، می تواند از بخش های اکسید شده محافظت بیشتری به عمل آورد (گومز و همکاران، 2007) و به این ترتیب استفاده از مکمل های

---

1. Methylsulfonylmethane
2. Nimni et al.
. Richmond et al.[32]

آنتی اکسیدان، می تواند شدت پاسخ استرسی بدن را نسبت به فعالیت بدنی کاهش دهـد (نخسـتین روحی و همکاران، 2008).

سال هاست که پژوهشگران حیطه ورزش، تاثیرات بالقوه آنتی اکسیدان ها را جهت مقابلـه با آثار گونه های اکسیژن فعال، در زمینه های آسیب عضلانی، خسـتگی عضـلانی، پراکسیداسـیون چربی و آسیب پروتئین ها و DNA سلول در جریان ورزش مورد بررسی قـرار داده انـد (پیـک و همکاران[۳۳]، 2006) و تفاوت های احتمالی موجود در یافته های آن ها ممکن است بـه نـوع آنتـی اکسیدان استفاده شده، دوز مصرفی و زمان بندی تجویز آن و هم چنین سطح اسـترس ایجـاد شـده توسط فعالیت بدنی و نیز جمعیت ویژه مورد مطالعـه بسـتگی داشـته باشـد (بلـومر و همکـاران[۳٤]، 2007).

از جمله مکمل های آنتی اکسیدانی، مکمل های دارای سولفور می باشند. تا کنون پژوهش هایی در مورد تاثیرات آنتی اکسیدانی مکمل های سولفوردار مانند ال- سیستئین، آلفا لیپوئیک اسید، ان- استیل سیستئین و ... انجام شده است. اثر ضد التهاب و ضد درد متیل سولفونیل متان در مـورد حیوانات (ریچموند، 1986 و پارسل و همکاران، 2002) و بیماران (کیم و همکـاران[۳۵]، 2006) بررسی شده است، اما به نظر می رسد تحقیقی در مورد تاثیر MSM (که یک مکمـل دارای گـروه سولفور می باشد) به عنوان یک آنتی اکسیدان، بر استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت بدنی در رابطه با انسان صورت نگرفته است (با توجه به جستجو هایی که به زبـان فارسـی و انگلیسـی از طریـق رایانه انجام شد).

MSM از منابع مهم حاوی سولفور در رژیم غذایی اسـت و یکـی از مـوادی اسـت کـه حداقل خاصیت سمی را داشته و سمیت آن در حد آب است. این ماده دارای خاصیت ضـدالتهاب و ضد درد بوده و توانایی مقابله با رادیکال های آزاد و از بین بردن آن ها را نیز داراست (پارسل و همکاران، 2002). MSM یک متابولیت سلولی اندوژن می باشد که قادر است به عنـوان دهنـده سولفور در بسیاری از واکنش های ترانس متیلاسیون عمل کرده و هم چنین می توانـد نقـش آنتـی اکسیدانی و از بین برنده رادیکال های آزاد را داشته باشد. بنابراین بررسی اثر محافظتی این مولکول

1. Peake et al.
2. Bloomer et al.
3. Kim et al.

بر تاثیرات فعالیت بدنی شدید که باعث تشکیل رادیکال های آزاد می گردد، به نظر جالب است (مارانون و همکاران[۳۶]، 2008).

لذا با توجه به مطالب عنوان شده در مورد خواص MSM ، ضرورت تحقیق در رابطه با بررسی تاثیرات آنتی اکسیدانی این ماده احساس می شود. در این راستا، در تحقیق حاضر چگونگی تاثیر MSM به عنوان یک آنتی اکسیدان، بر میزان گلوتاتیون پلاسما و دیگر شاخص های استرس اکسیداتیو مانند پروتئین کربونیل شده و ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال مورد بررسی قرار خواهد گرفت. MSM، به دلیل دارا بودن گروه سولفور، احتمالا می تواند موجب افزایش سطوح GSH (که مهم ترین آنتی اکسیدان درون سلولی است) و در نتیجه کاهش میزان پروتئین کربونیل شده و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال گردد، و به این ترتیب احتمالا می تواند به عنوان یک مکمل غذایی آنتی اکسیدان، جهت کاهش شدت استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت بدنی، مورد استفاده ورزشکاران، مربیان و دست اندرکاران ورزشی قرار گیرد.

اهداف تحقیق

هدف کلی:

هدف کلی این طرح، بررسی تاثیر مصرف حاد MSM بر شاخص های گلوتاتیون پلاسما (GSH)، پروتئین کربونیل شده (PC)، ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال (TAC) و کراتین کیناز (CK) در مردان غیر فعال متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدید می باشد.

اهداف ویژه :

اهداف ویژه این پژوهش، شامل موارد زیر خواهد بود :

1. بررسی تاثیر مصرف حاد MSM بر GSH پلاسما، متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدید، در مردان غیر فعال
2. بررسی تاثیر مصرف حاد MSM بر PC ، متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدید، در مردان غیر فعال

4. Maranon et al.

3. بررسی تاثیر مصرف حاد MSM بر TAC ، متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدید، در مردان غیر فعال

4. بررسی تاثیر مصرف حاد MSM بر CK ، متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدی، در مردان غیر فعال

فرضیات تحقیق :

1. مصرف حاد MSM تاثیر معنی داری بر گلوتاتیون پلاسما، متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدید دارد.

2. مصرف حاد MSM تاثیر معنی داری بر پروتئین کربونیل شده، متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدید دارد.

3. مصرف حاد MSM تاثیر معنی داری بر ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال، متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدید دارد.

4. مصرف حاد MSM تاثیر معنی داری بر کراتین کیناز، متعاقب یک جلسه فعالیت هوازی شدید دارد.

محدودیت های تحقیق

الف) محدودیت های قابل کنترل :

- ویژگی های جسمانی آزمودنی ها
- شرایط تمرین آزمودنی ها
- وضیت سلامتی آزمودنی ها (دو ماه پیش از اجرای پروتکل تمرینی)
- تغذیه آزمودنی ها (سه روز قبل، روز اجرای پروتکل و یک روز پس از اجرای پروتکل تمرینی)
- میزان فعالیت آزمودنی ها
- مصرف مکمل های آنتی اکسیدان و داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی
- مصرف سیگار

- مصرف الکل
- زمان
- مکان

ب) محدودیت های غیر قابل کنترل :

- عدم اندازه گیری مستقیم رادیکال های آزاد
- عدم کنترل آنزیم های آنتی اکسیدان خون
- وضعیت روانی آزمودنی ها
- عدم کنترل استراحت و خواب شب پیش از فعالیت
- روش زندگی آزمودنی ها

تعاریف کاربردی واژه ها

رادیکال های آزاد

مولکول های ناپایداری هستند که در اوربیتال خارجی آن ها الکترون جفت نشده وجود دارد (راداک، 1383).

متیل سولفونیل متان (MSM)

یکی از ترکیبات حاوی سولفور بوده (پارسل و همکارش، 2002) و قادر است به عنوان دهنده سولفور در بسیاری از واکنش های ترانس متیلاسیون عمل کرده و هم چنین می تواند نقش آنتی اکسیدانی و از بین برنده رادیکال های آزاد را نیز داشته باشد(مارانون و همکاران، 2008).

گلوتاتیون (GSH)

تری پپتیدی است که از گلوتامین، سیستئین و گلایسین تشکیل شده و اصلی ترین ترکیب غیر آنزیمی سیستم آنتی اکسیدانی سلول است که در سم زدایی زنوبیوتیک ها و از بین بردن گونه های اکسیژن فعال و رادیکال های آزاد نقش مهمی دارد. تخلیه ذخایر گلوتاتیون که مهم ترین آنتی

اکسیدان سلولی است، موجب افزایش احتمال آسیب دیدن سلول در برابر استرس اکسیداتیو می گردد (آتماکا، 2004). این ماده در تحقیق حاضر با روش کروماتوگرافی با عملکرد بالا[37] (HPLC) اندازه گیری شد که روش استاندارد طلایی برای اندازه گیری آن می باشد.

پروتئین کربونیل شده (PC)

تغییرات ایجاد شده در پروتئین ها به دو حالت است: آسیب مستقیم اکسیداتیو به لیزین، آرژینین، پرولئین و ترئونین و یا واکنش های ثانویه باقیمانده های سیستئن، هیستیدین و لیزین با ترکیبات کربونیل فعال. این تغییرات به وجود آمده می تواند منجر به تشکیل مشتقات پروتئین کربونیل گردد. اندازه گیری میزان پروتئین کربونیل شده اصلی ترین و کاربردی ترین مارکر جهت تشخیص آسیب های شدید وارد آمده به پروتئین هاست (دال-دون و همکاران[38]، 2003). در تحقیق حاضر این ماده با روش اسپکتروفتومتری[39] اندازه گیری شد.

ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال (TAC)

توانایی مقاومت بافت و یا نمونه خونی در مقابل استرس اکسیداتیو را گویند (اورسو و همکاران[40]،2003) که با اندازه گیری میزان تبدیل یون فرو به فریک و با استفاده از روش اسپکتروفتومتری مورد اندازه گیری قرار گرفت.

کراتین کیناز (CK یا CPK)

این آنزیم واکنش قابل برگشت کراتین به کراتین فسفات را کاتالیز می کند. نام دیگر این آنزیم، ATP-کراتین- ان- فسفوترانسفراز است؛ این آنزیم می تواند در حضور ATP واکنش قابل برگشتی را که منجر به اضافه شدن یک مولکول فسفات به کراتین می شود، باعث شود

1. High Performance Liquid Chromatography
1. Dalle- Donne et al.
2. Spectrophotometer
3. Urso et al.

(اورسو و همکاران،2003). جهت اندازه گیری این ماده از دستگاه اسپکتروفتومتری و محاسبه اختلاف جذب نوری استفاده شد.

فعالیت هوازی شدید

منظور از فعالیت هوازی شدید در این پژوهش، فعالیتی است که بر روی نوارگردان، با سرعت معادل 80 درصد VO_{2max} شروع شده و به مدت 45 دقیقه با همان سرعت ادامه یافته و پس از آن با افزایش سرعت به میزان 0/5 کیلومتر در ساعت درهر دو دقیقه تا سر حد واماندگی اجرا شد.

افراد غیر فعال

افرادی که در مدت دو ماه قبل از اجرای پروتکل، فعالیت ورزشی نداشته و دارای VO_{2max} پایین تر از 45 ml/kg/min باشند. این افراد پس از بررسی پرسشنامه ها و اجرای تست بروس انتخاب شدند.

مصرف حاد

به یک بار مصرف آنتی اکسیدان دو ساعت قبل از اجرای فعالیت منتخب اطلاق می شود (تامپسون و همکاران[1]، 2001).

1. Thampson et al.

فصل دوم

مبانی نظری و ادبیات

تحقیق

مقدمه

در سال های اخیر توجه زیادی به موضوع استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت بدنی شده است. یک جلسه فعالیت بدنی هوازی و بی هوازی می تواند استرس اکسیداتیو شدیدی را ایجاد کند که با افزایش مقدار مولکول های اکسید شده در بافت های مختلف نشان داده می شود. استفاده از مکمل های آنتی اکسیدانی می تواند بر نتایج به دست آمده تأثیر گذار باشد (فیشر و همکاران، 2009).

با توجه به اهداف تحقیق حاضر، که اثر MSM را بر شاخص های استرس اکسیداتیو و آسیب عضلانی ارزیابی می کند، در بخش اول این فصل مبانی نظری در خصوص استرس اکسیداتیو، آسیب عضلانی و مکمل های آنتی اکسیدانی ارائه خواهد شد. سپس در بخش دوم، مروری بر تحقیقات انجام گرفته در این زمینه ها صورت خواهد گرفت.

بخش اول: مبانی نظری

فرآیند استرس اکسیداتیو

فعالیت بدنی بخشی جدائی ناپذیر از زندگی انسان و حیوان است. برجسته ترین تغییر زیستی که به هنگام فعالیت بدنی رخ می دهد، افزایش مقدار متابولیسم است که با افزایش مقدار مصرف اکسیژن هم سو است. جابجایی و سرعت زیاد اکسیژن در داخل میتوکندری ممکن است نشت الکترون را افزایش دهد و اجزاء و اندامک های حیاتی برای عملکرد سلول را در معرض فشار (استرس) اکسایشی قرار دهد (راداک، 1383).

استرس اکسیداتیو وضعیتی است که در آن تعادل بهینه موجود بین تولید پرواکسیدان ها (رادیکال های آزاد) و پاک سازی آن ها توسط سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، از بین رفته و کفه ترازو به نفع تولید رادیکال های آزاد پایین می آید. تولید و یا تشکیل رادیکال های آزاد در بدن موجود زنده، عموماً با مصرف اکسیژن مولکولی آغاز می گردد که با توجه به ساختارش، در حقیقت خود یک گونه رادیکالی است (فیشر و همکاران، 2009).

استرس اکسیداتیو در اثر استرس زاهای مختلفی ایجاد می شود، مانند قرار گرفتن در معرض آلودگی های محیطی، مصرف بیش از اندازه مواد غذایی و یا فعالیت بدنی. به بیان ساده، هر وضعیتی که موجب افزایش مصرف اکسیژن گردد (مثل فعالیت بدنی)، می تواند منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو گردد (فیشر و همکاران، 2009).

استرس اکسیداتیو می تواند سبب آسیب بافت ها، سلول ها و ماکرومولکول های سلولی همانند لیپیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک گردد. از این رو استرس اکسیداتیو با کاهش عملکرد بدنی، خستگی عضلانی، آسیب عضله و بیش تمرینی همراه است (بونینا و همکاران، 2005).

گونه های اکسیژن فعال (ROS)

گونه های اکسیژن فعال (واکنش پذیر) یک واژه عمومی است که به مولکول های مشتق از اکسیژن مولکولی که گونه های فعالی هستند و یا به آسانی به گونه های فعال تبدیل می شوند، اطلاق می گردد (راداک،1383). افزایش مصرف اکسیژن در جریان فعالیت های هوازی، با افزایش تولید ROS همراه است (پندلتون و همکاران، 2008).

رادیکال های آزاد

یک رادیکال آزاد، مولکولی است که دارای یک الکترون جفت نشده در خارجی ترین لایه خود می باشد. اکسیژن مولکولی یک دی رادیکال است، چرا که دارای دو الکترون جفت نشده با جهت های موازی می باشد. از آن جا که الکترون ها باید جهت های متضادی داشته باشند تا بتوانند یک اوربیتال را اشغال نمایند، الکترون هایی که به هنگام احیا شدن اکسیژن مولکولی، به آن افزوده می شوند، باید یکی یکی انتقال یابند، که این روند موجب تولید واسطه های بسیار فعالی می گردد.

احیای کامل اکسیژن به آب دارای چهار مرحله بوده و منجر به تولید رادیکال های آزاد مختلف و هم چنین H_2O_2 می گردد که به تنهایی یک رادیکال آزاد نمی باشد، چرا که هیچ الکترون جفت نشده ای ندارد. با این وجود H_2O_2 به عنوان یک گونه اکسیژنی فعال (ROS) در

نظر گرفته می شود، چون قابلیت تولید رادیکال های آزاد هیدروکسیلی بسیار فعالی را از طریق واکنش با فلزات انتقالی فعال، دارا می باشد. مراحل احیای کامل اکسیژن، در واکنش های زیر خلاصه شده است:

رادیکال سوپراکسید	1) $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{-0}$
رادیکال هیدرو پراکسیل	2) $O_2^{-0} + H_2O \rightarrow HO_2^0 + OH^-$
پراکسید هیدروژن	3) $HO_2^0 + e^- + H \rightarrow H_2O_2$
رادیکال هیدروکسیل	4) $H_2O_2 + e^- \rightarrow {}^0OH + OH^-$

هرکدام از این واسطه های ایجاد شده توسط اکسیژن ، بسیار فعال هستند؛ چرا که شکل الکترونی ناپایدارشان، امکان ورود الکترون های دیگر مولکول ها را ایجاد کرده و موجب تشکیل رادیکال های آزاد دیگری می شود که قابلیت واکنش با سایر مولکول ها را دارا می باشد (کلارکسون و همکاران[۴۲]، 2000).

اگرچه رادیکال های آزاد مختلفی وجود دارد [مانند اتم های هیدروژن، یون های فلزی انتقالی، رادیکال های کربن محور (مثل تری کلرومتیل)، رادیکال های سولفور محور (مثل تیل)]، رادیکال هایی که از دیگر اکسیژن ها یا نیتروژن ها به وجود می آیند، دسته مهمی از رادیکال های ایجاد شده در بدن موجودات زنده می باشند. هم خود رادیکال ها و هم گونه های غیر رادیکالی به وجود آمده از طریق واکنش با رادیکال های آزاد، گونه های اکسیژن یا نیتروژن فعال نامیده می شوند (RONS) (فیشر و همکاران، 2009).

منابع تولید رادیکال های آزاد

رادیکال های آزاد از جمله موادی هستند که منابع اولیه و ثانویه دارند. منابع اولیه اصلی عبارتند از: نشت الکترون از میتوکندری به هنگام تنفس هوازی، واکنش اگزانتین اکسیداز، متابولیسم پروستانوئید، فعالیت NADPH اکسیداز و کاتکولامین ها.

1. Clarkson et al.

منابع ثانویه تولید رادیکال ها شامل فرآیندهای فاگوسیتوزی سلول های سفید خون که متعاقب آسیب عضلانی رخ می دهد، تخریب پروتئین های حاوی آهن و تجمع بیش از اندازه کلسیم می باشد (راداک، 1383 و بلویرانلی و همکاران، 2006).

آسیب های ایجاد شده توسط رادیکال های آزاد

آسیب های مولکولی ناشی از ROS عبارتند از : شکسته شدن رشته DNA، اکسیداسیون اسید آمینه های دارای زنجیره های جانبی، از هم گسیختن پلی پپتیدها و تخریب اسیدهای چرب اشباع نشده و فسفولیپیدها از طریق پراکسیداسیون چربی (پندلتون و همکاران، 2008).

پراکسیداسیون چربی یکی از پیامدهای اصلی تولید رادیکال های آزاد می باشد. در محیط آزمایشگاهی، واکنش بین رادیکال های آزاد و چربی ها شامل 3 مرحله است: مرحله آغازین، مرحله تکثیر (انتشار) و مرحله پایانی. در مرحله آغازین، داین های مزدوج[43] از طریق جداسازی اتم هیدروژن از یک گروه بنیان متیلن چربی تشکیل می شود. در مرحله تکثیر، داین های مزدوج باعث واکنش اکسیژن مولکولی با رادیکال های آزاد و تشکیل هیدروپراکسید چربی می گردد. برآیند تجزیه هیدروپراکسیدهای چربی، الکوکسیل یا رادیکال های پراکسیل است که در مرحله تکثیر ایجاد می شوند. اسید های چرب اشباع نشده (نظیر آن هایی که در غشای سلول هستند) به علت نقاط اشباع نشده چندگانه ای که در بنیانشان وجود دارد، مستعد این فرآیند هستند. آسیب غشاء ناشی از استرس اکسیداتیو منجر به سیالیت بیشتر غشاء، ادغام شدن یا از دست رفتن قوام و غیر فعال شدن گیرنده ها و آنزیم های غشاء می شود.

رادیکال های آزاد می توانند به DNA نیز آسیب بزنند. فرآیند این آسیب به خوبی توضیح داده نشده و اندازه گیری مستقیم چنین آسیب هایی مقدور نیست. ضمناً، پروتئین ها نیز وقتی که در معرض رادیکال های آزاد قرار بگیرند، دچار تغییر و تحول می شوند. اکسیداسیون اسید های آمینه منجر به تغییرات فیزیکی نظیر تجزیه پروتئین ها می گردد. تغییرات ساختاری واضح پروتئین، ممکن است آن ها را مستعد به تجزیه بیشتر از طریق عوامل وابسته به ATP و مسیرهای اوبیکنیون کند. (راداک،1383 وکلارکسون و همکاران، 2000).

---

1. Conjucated Dians

سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی

همراه با تکامل اکسیژن به عنوان یک عامل حیاتی زندگی، گونه های اکسیژن فعال با زندگی ناسازگار شدند. این اثر زیانبار اکسیژن با تکامل طبیعی تعداد زیادی از سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی روبرو شد. این سیستم ها با توجه به ویژگی های شیمیایی و زیست شناختی بی نظیرشان برای مقابله با عرض اندام اکسیداتیو در همه ابعاد و شکل های حیات انتخاب شدند (راداک، 1383).

مواد آنتی اکسیدانی طبیعی اصلی

طبق تعریف، یک ماده آنتی اکسیدان، ماده ای است که در مقایسه با ماده اکسایش پذیر، غلظت کمی دارد، ولی اکسیداسیون ماده اکسایش پذیر را تا حد زیادی به تأخیر انداخته یا مهار می کند. طبق تعریف کلی تر دیگری، به ترکیباتی گفته می شود که سیستم های بیولوژیک را در برابر فرآیندها یا واکنش هایی که می توانند باعث اکسیداسیون بیش از حد شوند، محافظت کند.

مواد آنتی اکسیدانی طبیعی اصلی می توانند بیشتر گونه های اکسیژن فعال را خنثی و لاشه برداری کنند، پراکسیداسیون چربی را متوقف کنند و از پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک در مقابل اکسیداسیون و آسیب محافظت نمایند. به طور کلی آنتی اکسیدان ها را می توان به دو طبقه اصلی تقسیم کرد:

1- آنتی اکسیدان های موجود در سیستم های درون سلولی

2- آنتی اکسیدان های موجود در مایعات برون سلولی

آنتی اکسیدان های درون سلولی خود به دو طبقه تقسیم می شوند:

الف) مواد ضد اکسایشی محلول در چربی که در غشاء قرار دارند و عبارتند از: ویتامین E و A، اوبیکنیون (O_{10}) و چندین کاروتنوئید و یک بتاکاروتن اصلی. این آنتی اکسیدان ها ذاتاً چربی دوست هستند و ویتامین E به عنوان مهم ترین آنتی اکسیدان محلول در چربی محسوب می شود.

ب) آنتی اکسیدان های درون سلولی (سیتوزولی) که در سیتوپلاسم وجود دارند و اصولاً در آب محلول می باشند. این آنتی اکسیدان ها به سه طبقه تقسیم می شوند:

1- مولکول های زیستی کوچک مانند گلوتاتیون

2- آنزیم های ضد اکسایشی مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز

3- پروتئین های متصل به آهن مانند فریتین

چند آنزیم در تامین مواد اولیه و توان احیا کنندگی (نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات) آنزیم های آنتی اکسیدانی اصلی نقش دارند که عبارتند از: گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و گلوکز- 6- فسفات دهیدروژناز[44] (G6PDH) که نمی توانند گونه های اکسیژن فعال را بطور مستقیم دفع کنند، گلوتاتیون سولفور ترانسفراز[45] (GST)، گلوتاتیون را با بیگانه زیست ها و زهرابه ها به هم پیوند می زند که قابلیت آن را دارد تا گونه های اکسیژن فعال را تولید کند.

از آنجا که آسیب اکسیداتیو در ابتدا و بطور عمده در غشای میتوکندیایی و نیز در دیگر غشاهای سلولی ایجاد می شود، لذا آنتی اکسیدان های محلول در چربی، به عنوان اولین خط دفاعی محسوب می شوند. در صورتی که آنتی اکسیدان های محلول در آب، به عنوان خط دفاعی دوم عمل می کنند.

آنتی اکسیدان های موجود در مایع برون سلولی، در بیشتر مایعات بدن مثل پلاسما، بزاق، مایعات احشایی و مایعات سینوویال یافت می شوند. آنتی اکسیدان های مایعات برون سلولی را می توان به صورت خالص در شرایط محلول یا به صورت ناخالص در داخل لیپوپروتئین های پلاسما پیدا کرد (راداک، 1383).

مکمل های آنتی اکسیدانی

شواهد فراوانی نشان می دهد که تحت شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک گوناگونی از جمله فعالیت بدنی شدید، تمرین در ارتفاع زیاد، عدم تحرک و بسیاری از بیماری ها، مواد آنتی اکسیدانی اندوژنوس نمی توانند به طور کلی از آسیب اکسایشی جلوگیری کنند. به لحاظ اکسایشی این شرایط می تواند منجر به وارد آمدن آسیب به پروتئین ها، DNA و لیپیدها شود که در نتیجه این امکان وجود دارد که تعادل بین اکسیدان ها و مواد آنتی اکسیدانی به نفع اکسیدان ها تغییر یابد و مواد آنتی اکسیدانی اندوژن، دیگر قادر نباشند که آثار اکسیدان ها را خنثی کنند (جکسون[46]، 2000 و تامپسون و همکاران، 2001).

1. Glocuse-6-phosphate dehydrogenase
2. Glutathione sulfur transferase
3. Jackson et al.

به دلیل این که مقدار آنتی اکسیدان های اندوژن ممکن است جهت محافظت از استرس اکسیداتیو کافی نباشد، لذا استفاده از مکمل های آنتی اکسیدانی می تواند به منظور کاهش شدت استرس اکسیداتیو مفید بوده و حاشیه امنیتی بزرگتری را در برابر تأثیرات احتمالی آن ها بوجود آورد (بونینا و همکاران، 2005).

در بدن انسان، تقابل بالایی بین آنتی اکسیدان های اندوژن و اگزوژن وجود دارد که با در نظر گرفتن پتانسیل ردوکس متشابه آن ها، تبدیل یک آنتی اکسیدان به شکل دیگر اکسید شده آن، متداول می باشد. آنتی اکسیدان ها می توانند موجب تخریب رادیکال های آزاد گشته و مکمل های آنتی اکسیدانی ممکن است سد محافظتی قویتری را در مقابل آسیب های اکسیداتیو ایجاد نمایند (آتماکا، 2004).

در سال های اخیر توجه زیادی به موضوع استفاده از آنتی اکسیدان های خوراکی جهت مقابله با پراکسیدهای تولید شده به هنگام فعالیت بدنی شده است (زنگ و همکاران، 2004). شواهد کمی مبنی بر این که استفاده از مکمل های آنتی اکسیدانی می تواند موجب بهبود عملکرد شود، وجود دارد. اما بخش اعظمی از تحقیقات انجام یافته نشان داده اند که کمک به سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی بدن می تواند آسیب های ناشی از فعالیت های بدنی را کاهش دهد (مارانون و همکاران، 2008؛ کلکار و همکاران[47]، 2008 و لخی و همکاران، 2007).

اندازه گیری استرس اکسیداتیو در انسان

به طور کلی، شناسایی مستقیم آن دسته از گونه های فعال اکسیژنی که در سیستم های بیولوژیکی تولید می شوند، کار بسیار دشواری است. دلیل این امر آن است که در شرایط طبیعی، غلظت گونه های اکسیژن فعال، فوق العاده ناچیز است و از این رو در جایگاه تشکیل شدنشان تقریباً بلافاصله وارد واکنش می شوند. بنابراین انباشت آن ها به مقدار زیاد امکان پذیر نیست. معمولاً میزان گونه های اکسیژن فعال با اندازه گیری گونه های به دام افتاده با معرف های تله مانند برون زا (با منشأ خارجی) و یا از راه سنجش مولکول های زیستی اکسید شده توسط آن ها، برآورد می شود (راداک، 1383).

1. Kelkar et al.

برای ارزیابی استرس اکسیداتیو در پاسخ به فعالیت بدنی، محققین شاخص های مختلفی را در خون و ادرار اندازه گیری کرده اند. در تعداد قلیلی از این تحقیقات، این شاخص ها در عضله اندازه گیری شده اند.

روش ESR[48] یک روش مستقیم برای اندازه گیری رادیکال های آزاد است که عمدتاً در مطالعات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می گیرد. اما اخیراً برای اندازه گیری رادیکال های آزاد موجود در خون استفاده شده است (اورسو و همکاران، 2003).

به دلیل آن که روش های اندازه گیری مستقیم RONS، یعنی ESR نیازمند تجهیزات گران قیمت هستند، اکثر پژوهشگرانی که در حیطه رادیکال های آزاد تولید شده در اثر فعالیت بدنی پژوهش می کنند، از روش های غیر مستقیم جهت ارزیابی استرس اکسیداتیو ایجاد شده، استفاده می نمایند. ارزیابی غیر مستقیم استرس اکسیداتیو عبارت است از اندازه گیری مقدار مولکول های پایدار تولید شده در نتیجه واکنش RONS با بیومولکول های ویژه. این محصولات مولکولی متداول شامل متابولیت های پایدار (یعنی نیترات/ نیتریت) و مواد حاصل از اکسیداسیون بافت های هدف می باشد. این بافت های هدف عبارتند از:

1- محصولات نهایی پراکسیداسیون چربی [ایزو پروستان ها، مالون دی آلدئید (MDA)، TBARS، هیدروپراکسیدهای چربی (LOOH)، داین های مزدوج (CD) و لیپوپروتئین های اکسید شده با وزن مولکولی پایین (oxLDL)]

2- پروتئین های اکسید شده [پروتئین کربونیل شده (PC)، اسید آمینه های اکسید شده ویژه و نیتروزین (NT)]

3- اسیدهای نوکلئیک [8- هیدورکسی- 2- داکسی گوآنوزین (8 -OHdG) و DNA اکسید شده]

میزان استرس اکسیداتیو ایجاد شده را می توان با بررسی تغییرات بوجود آمده در سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی بدن نیز اندازه گیری نمود که به عنوان مثال از طریق اندازه گیری تغییرات ردوکس در اصلی ترین آنتی اکسیدان اندوژن یعنی گلوتاتیون و همچنین میزان ویتامین E و C موجود در گردش خون، امکان پذیر می باشد.

---

1. Electron Spin Resonance

علاوه بر این ها، میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی خاص [یعنی سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) ، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR)] می تواند به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو ایجاد شده در بافت، مورد ارزیابی قرار گیرد.

هم چنین روش های مختلفی نیز برای ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن وجود دارد که عبارتند از:

1- ظرفیت آنتی اکسیدانی معادل ترولوکس [49](TEAC)

2- وضعیت آنتی اکسیدانی توتال [50](TAS)

3- قابلیت احیای فریک پلاسما [51](FRAP)

4- پارامتر آنتی اکسیدانی شکار رادیکال های توتال [52](TRAP)

5- ظرفیت شکار رادیکال های اکسیژن محور [53](ORAC) (فیشر و همکاران، 2009).

وضعیت ردوکس دورن سلول

همواره حدود پایه ای برای تولید و تخریب RONS برقرار است که تأثیرات مثبت ومنفی بر عملکردهای فیزیولوژیکی می گذارد. در سیستم های زنده، تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و دفاع آنتی اکسیدانی، وضعیت ردوکس درون سلول را تعیین می کند که نقش مهمی در بهبود عملکردهای سلولی دارد. وضعیت ردوکس یا تعادل ردوکس، نشان دهنده پتانسیل اکسیداسیون/احیای[54] موجود در درون سلول بوده و همانند PH تنظیم می گردد و معمولاً از طریق اندازه گیری نسبت بین گلوتاتیون احیا شده (GSH) و اکسید شده (GSSG) (که اصلی ترین آنتی اکسیدان غیر آنزیمی است)، یا دیگر ترکیبات تیولی یا دی سولفیدی، ارزیابی می شود (فیشر و همکاران، 2009).

---

1. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
2. Total Antioxidant Status
3. Ferric Reducing Ability of Plasma
4. Total Radical Trapping Antioxidant Parameter
5. Oxygen Radical Absorbancec Capacity

6- واکنش بین دو عنصر یا دو مولکول را که یکی الکترون می گیرد و دیگری الکترون می دهد، واکنش اکسیداسیون/ احیا می گویند.

فعالیت بدنی و استرس اکسیداتیو

مصرف اکسیژن به هنگام فعالیت بدنی افزایش می یابد، 95 تا 98 درصد از اکسیژن مصرف شده در جریان متابولیسم هوازی به آب احیا می شود، اما بخش باقیمانده ممکن است به محصولات ثانویه اکسیداتیو، یعنی گونه های اکسیژن و نیتروژن فعال (RONS) تبدیل گردد. به هنگام فعالیت بدنی، احتمال این که رادیکال های آزاد در مقادیر بیشتری نسبت به حالت استراحت تولید شوند، وجود دارد. چنان چه تولید RONS به دقت کنترل نشود، این ترکیبات می توانند به بافت های مختلف بدن آسیب برسانند (لخی و همکاران، 2007).

فعالیت بدنی مزایای مهمی برای بدن دارد که شامل افزایش آمادگی جسمانی، جلوگیری از ابتلاء به بیماری ها و بهبود کیفیت زندگی می باشد. اما فعالیت بدنی سنگین موجب تولید گونه های اکسیژن و نیتروژن فعال می گردد که به صورت جدی تهدید کننده فرآیندهای ساختاری و عملکردی سلول ها، ارگان ها و سیستم های مختلف بدن است (جی و همکاران، 2008).

اگرچه فعالیت بدنی کارایی سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن را افزایش و استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت را کاهش می دهد، اما برخی پژوهش ها نشان داده اند که تمرینات شدید می توانند منجر به آثار معکوس شوند که این آثار به دلیل اکسیداسیون شدید آنتی اکسیدان ها جهت جلوگیری از اعمال مخرب RONS می باشد (فیناد و همکاران، 2005). هم اکنون به خوبی پذیرفته شده است که در جریان فعالیت های ورزشی شدید، تولید رادیکال های آزاد افزایش می یابد (لخی و همکاران، 2007).

مکانیسم های تولید رادیکال های آزاد در جریان ورزش هوازی

مکانیسم های احتمالی بسیاری برای تشکیل رادیکال های آزاد به هنگام فعالیت بدنی وجود دارد. اولین مورد، آسیب مربوط به اکسیژن بیش از حد است که احتمالاً در جریان ورزش هوازی بسیار شدید به وقوع می پیوندد. به هنگام چنین فعالیتی، مصرف اکسیژن 10 تا 20 برابر بیشتر از زمان استراحت است که می تواند منجر به ورود اکسیژن به درون عضلات فعال گردد تا جایی که این عضلات 100 تا 200 برابر بیشتر از حالت استراحت خود اکسیژن دریافت کنند. همان طور که قبلاً ذکر شد میتوکندری یا به صورت دقیق تر، زنجیره انتقال الکترونی، محل

احتمالی تولید رادیکال های آزاد در بدن است. رادیکال های سوپراکسید در درون میتوکندری که در معرض جریان شدید اکسیژن قرار دارد، تشکیل می شوند که می تواند موجب تشکیل دیگر رادیکال های مخرب نیز گردد. هم چنان که میزان اکسیژن موجود در درون سلول افزایش می یابد، سرعت تراوش الکترون به اکسیژن نیز بیشتر می شود.

مورد بعد، احتمالاً مربوط به شدت های ورزش بالاتر از 100 ٪ حداکثر اکسیژن مصرفی است. فعالیت در چنین شدت هایی می تواند منجر به کمبود ATP و افزایش سرعت تولید آدنوزین دی فسفات (ADP) گردد که این امر تولید رادیکال های آزاد را از طریق مکانیسم گزانتین اکسیداز، تحریک می کند.

محتمل ترین مکانیسم تشکیل رادیکال های آزاد در جریان فعالیت های هوازی، وضعیتی به نام آسیب ایسکیمی و خونرسانی مجدد می باشد. به هنگام ورزش، اندام های مختلفی هم چون کبد و کلیه ها ممکن است دچار کمبود اکسیژن شوند که در نتیجه انحراف خون از بخش های غیر فعال به سمت عضلات در حال فعالیت اتفاق می افتد. پس از اتمام ورزش، جریان خون به حالت طبیعی رسیده و این اندام ها خونرسانی مجدد شده و اکسیژن دریافت می کنند. این وضعیت موجب تشکیل رادیکال های آزاد و محصولات حاصل از پراکسیداسیون لیپیدها می گردد (مک برید و همکاران[۵۵]، 1999).

سولفور

سولفور یکی از مواد غذایی متابولیکی اصلی و عنصری غیر فلزی است که بر اساس درصدی از وزن کل بدن، بعد از کلسیم و فسفر، سومین ماده معدنی فراوان موجود در بدن و ششمین ماده معدنی درشت مولکول فراوان موجود در شیر می باشد. سولفور به عنوان یک عنصر غیر آلی مهم و به علت ترکیب با اسیدهای آمینه، پروتئین ها، آنزیم ها، ویتامین ها و دیگر بیومولکول ها، عنصری حیاتی برای تمام جانداران است.

برخلاف انسان و حیوانات تک معدی، گیاهان می توانند از سولفور غیرآلی جهت سنتز اسیدهای آمینه حاوی سولفور، مانند متیونین و سیستئین استفاده نمایند و از این رو منبع مهم

1. McBride et al.

سولفور برای انسان و بسیاری از حیوانات می باشند. اسید آمینه های حاوی سولفور، در پروتئین های حیوانی و حبوبات در مقایسه با پروتئین های گیاهی به مقدار فراوان تری وجود دارند.

سولفور بدن با مصرف مواد غذایی تأمین می گردد. اسیدآمینه های سولفوردار را به عنوان منبع اولیه سولفور در رژیم غذایی در نظر می گیرند. این ماده تقریباً تنها از پروتئین ها مشتق می شود. در حدود 2 تا 20 اسید آمینه تشکیل دهنده پروتئین ها، حاوی سولفور می باشد (نیم نی و همکاران 2007؛ آتماکا، 2004 و پارسل و همکاران، 2002).

اسید آمینه های آنتی اکسیدانی دارای سولفور

اسیدآمینه های آنتی اکسیدانی و ترکیبات حاوی سولفور عبارتند از: سیستئین، متیونین، تائورین، گلوتاتیون (GSH)، لیپوئیک اسید (LA)، ان استیل سیستئین (NAC)، آلفا-مرکاپتوپروپیونیل گلایسین، (MPG) و...

سیستئین یک اسید آمینه ضروری برای سنتز گلوتاتیون و حاوی سولفور است که نقش مهمی به عنوان یک عامل احیا کننده اگزوژنوس دارد. این ماده یک پیش ساز مهم جهت سنتز پروتئین می باشد.

متیونین اسید آمینه دارای سولفور و یکی از منابع اصلی سولفور در بدن است. میتونین یکی از اسید آمینه های ضروری می باشد؛ چرا که بدن انسان قادر به سنتز متیونین از سولفور غیر آلی نبوده و برای فراهم کردن آن به منابع غذایی وابسته است.

تائورین، یک اسید آمینه سولفور دار غیر پروتئینی و فراوان ترین اسید آمینه آزاد موجود در بدن بوده و نقش مهمی در بسیاری از روندهای بیولوژیکی حیاتی دارد. تائورین در بدن موجودات زنده، از متابولیسم متیونین و سیستئین به وجود آمده و بنابراین از طریق رژیم غذایی به سرعت جذب می گردد.

گلوتاتیون یک تری پپتید حاوی سیستئین و اصلی ترین ترکیب سیستم آنتی اکسیدانی سلول بوده و در سم زدایی ترکیبات زنوبیوتیک و از بین بردن گونه های اکسیژن فعال و رادیکال های آزاد نقش مهمی دارد.

Surname: Vaezi	Name: Nasrin
Title of thesis: Effect of Methylsulfonylmethane supplementation on plasma glutathione and protein carbonyl after a single bout strenuous exercise	
Supervisors: Nakhostin Roohi, B. Ph.D., Bohlooli, S. Ph.D.	
Graduate Degree: M.SC. Specialty: Sport Physiology University of Mohaghegh Ardabili Graduation date: 30/Dec /2009	Major: Physical Education Faculty: Literature and Human Science Number of pages: 125
Keywords: Oxidative Stress, Methylsulfonylmethane, Glutathione, Protein Carbonyl, Total Antioxidant Capacity	

Abstract: Exercise appears to increase reactive oxygen species, which can result in damage to cells. Methyl Sulphonyl Methane, better known as MSM, is a naturally occurring sulphur compound with well-known antioxidant properties. Aim: The purpose of this study was to examine the effect of MSM supplementation on plasma glutathione and protein carbonyl after a single bout strenuous exercise. Method: Sixteen untrained, healthy male (age: 20.5±0.3Yrs, weight: 72.36±3.1 kg & height: 173.6±1.2 cm) were randomly assigned to supplement (S) and placebo (P) groups. Blood samples were drown 2h and immediately before, immediately, 2h and 24h after exercise. Following the first sampling, the S and P groups supplemented 100 mg/kg of body weight MSM and placebo, respectively. Subjects ran for 45 minutes with speed equal 80%VO_{2max} and allowed to exhaustion on treadmill. Glutathione (GSH) by HPLC, Protein Carbonyl (PC), Total Antioxidant Capacity (TAC) and Creatine Kinase by Spectrophotometry were measured. Data were analyzed using repeated measures analysis of variance (ANOVA) with Bonferoni correction and t student. Results: There were no significant differences between two groups in GSH and CK, but there were significant differences in PC at 2h and 24h after exercise and in TAC at 24h after exercise ($P<0.05$). Conclusions: It appears that acute supplementation of MSM may has effect on reduction of oxidative stress but has not significant effect on muscle damage marker (CK).

Effect of Methylsulfonylmethane supplementation on plasma glutathione and protein carbonyl after a single bout strenuous exercise

By:

Nasrin Vaezi

Thesis

SUBMITTED TO GRADUATE STUDIES FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (M.SC.)

IN

PHYSICAL EDUCATION AND SPORT SCIENSE

University of Mohaghegh Ardabili

ARDABIL-IRAN

Evaluated And Approved By Thesis Committee As:

B. Nakhostin-Roohi, Ph.D., Assist. Prof. Of Exercise Physiology (Chairman)

S. Bohlooli, Ph.D., Prof. Of Pharmacology

L. Bolboli, Ph.D., Assist. Prof. Of Physical Education and Sport Science.

M.T. Aghdasi, Ph.D., Assist. Prof. Of Physical Education and Sport Science

December - 2009

Faculty of Literature and Human Science

Department of Physical Education and Sport Sience

Effect of Methylsulfonylmethane supplementation on plasma glutathione and protein carbonyl after a single bout strenuous exercise

Supervisors:

Babak Nakhostin Roohi (Ph.D.)

Shahab Bohlooli (Ph.D.)

By:

Nasrin Vaezi

University of Mohaghegh Ardabili

2009,December