



دانشگاه شهید بهشتی

## فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی

بهار و تابستان ۹۹، دوره ۱۳، شماره ۱، صفحه های ۲۶-۱۶

### تأثیر چهار هفته بارگیری با روغن ماهی بر $TNF-\alpha$ ، نیتریک اکساید و گونه‌های واکنشگر اکسیژن پلاسمایی پس از فعالیت وامانده‌ساز استقامتی

وحید ساری صراف<sup>۱\*</sup>، مریم نورشاهی<sup>۲</sup>، رویا ذکری کندلج<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

<sup>۲</sup>دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

\*نویسنده مسئول: وحید ساری صراف، تلفن: ۳۳۳۹۳۳۹۴ ۰۴۱، رایانامه: sarraf@tabrizu.ac.ir

پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۱/۱۷

ویرایش مقاله: ۱۳۹۶/۱۲/۲۵

دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۵/۱۴

#### چکیده

**هدف:** روغن ماهی عاملی ضدالتهابی است و نقش مؤثری در کاهش التهاب و بهبود عملکرد دارد، با این حال نقش آن بر خستگی محیطی و میانجی‌های دخیل در آن هنوز مشخص نیست.

**روش‌ها:** بدین منظور، ۲۰ آزمودنی مرد سالم (سن:  $26/90 \pm 2/64$  سال، وزن:  $78/33 \pm 10/42$  کیلوگرم، قد:  $175/4 \pm 8/0/89$  سانتی‌متر و درصد چربی:  $18/40 \pm 5/46$ ) انتخاب شدند و به‌طور تصادفی در دو گروه روغن ذرت و روغن ماهی قرار گرفتند و به‌مدت ۴ هفته روزانه ۶ گرم مکمل دریافت کردند. قبل و بعد از مکمل‌دهی، آزمون بروس تعدیل شده تا واماندگی انجام پذیرفت و پیش، بلافاصله و بعد از ۲۰ دقیقه از پایان آزمون نمونه خونی آزمودنی‌ها گرفته و سطوح پلاسمایی عامل نکروز توموری آلفا ( $TNF-\alpha$ )، نیتریک اکساید (NO) و گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS) ارزیابی شد.

**نتایج:** تحقیق حاضر حاکی از کاهش معنادار سطوح پایه  $TNF-\alpha$  و افزایش NO در پاسخ به ۴ هفته مکمل‌دهی بود ( $P < 0/05$ ). همچنین، تفاوت معناداری میان دو گروه در تغییرات NO پس از فعالیت ( $F=5/64, P=0/034$ ) و بازیافت ( $F=8/83, P=0/011$ ) و بازیافت  $TNF-\alpha$  پس از بازیافت ( $F=7/38, P=0/015$ ) مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این تحقیق حاکی از تأثیر مکمل‌دهی بر کاهش سطح پایه  $TNF-\alpha$  بود و به‌نظر می‌رسد که این عامل به افزایش سطح پایه NO منجر شده است. لذا، احتمالاً از این طریق خستگی در آزمودنی‌ها کاهش نشان داده است، ضمن آنکه افزایش اندک NO پس از فعالیت، شاید به‌دلیل کاهش فشار ناشی از فعالیت بر آزمودنی‌ها بوده است.

**واژه‌های کلیدی:** خستگی محیطی، عامل نکروز توموری آلفا، گونه‌های واکنشی اکسیژن، نیتریک اکساید.

## مقدمه

التهاب پاسخ بدن در برابر عوامل بیماری‌زاست که به صورت افزایش در سطوح کموکاین‌ها یا سیتوکین‌ها دیده می‌شود [۱]. علاوه بر این، فعالیت بدنی نیز ممکن است باعث افزایش در سطوح سیتوکین‌ها شود که میزان این التهاب با شدت و مدت زمان فعالیت متناسب است [۲]. اما، یکی از موضوعاتی که در حیطه التهاب و تأثیر آن بر عملکرد بررسی شده است نقش آن در خستگی ناشی از فعالیت است [۳]. فعالیت ورزشی شدید با توجه به فشارهای سوخت‌وسازی و مکانیکی آن ممکن است به ایجاد آسیب در بافت‌های مختلف، همچنین افزایش در سطوح سیتوکین‌های التهابی بینجامد [۴].

تاکنون بیشتر تحقیقات مربوط به عوامل ایجادکننده خستگی در فعالیت ورزشی در حیطه عوامل سوخت‌وسازی و ناقلان عصبی (نروتروسمیتر) مختلف بوده است، ولی در تحقیق خاصی، نقش سیتوکین‌های التهابی و تأثیر تغییرات در سطوح آن‌ها بر خستگی بررسی نشده است. تحقیقات دربارهٔ بیماران نشان داده است که افزایش مزمن در سطوح سیتوکین‌های التهابی باعث افزایش ایجاد خستگی در بیماران و بروز فرایندی به نام سندرم خستگی مزمن می‌شود [۵]. تحقیقات در حیطه مسیر تأثیرگذاری التهاب بر خستگی مزمن در بیماران نشان داده است که افزایش التهاب دستگاهی باعث افزایش مقدار  $^1\text{GTP-CH1}$  می‌شود. این عامل خود باعث کاهش سطوح تتراهیدروبیوپترین<sup>۲</sup> ( $\text{BH4}$ ) می‌شود.  $\text{BH4}$  کوفاکتوری برای سنتز نیتریک اکساید<sup>۳</sup> توسط آنزیم سنتزکننده نیتریک اکساید تحریک‌پذیر<sup>۴</sup> ( $\text{iNOS}$ ) است.

از سوی دیگر، افزایش سطوح سیتوکین‌های التهابی سبب فعالسازی ایندول آمین<sup>۲</sup> و  $^3\text{دی اکسیژناز}$ <sup>۵</sup> می‌شود که این عامل نیز باعث تجزیه تریپتوفان<sup>۵</sup> در طول مسیر کاینورنن<sup>۶</sup> می‌شود. در نهایت، تولید دو محصول نهایی به نام‌های

کوئینولینیک اسید<sup>۷</sup> و  $^3\text{-هیدروکسی کاینورنن}$ <sup>۸</sup> را در پی دارد. هر دوی این ذرات، ذرات بنیان آزاد است [۵]. در نتیجه، دو مورد از اثرهای این مسیر عبارت است از تغییر در سطوح نیتریک اکساید و ذرات بنیان آزاد. در رابطه با تأثیر نیتریک اکساید و سطوح ذرات بنیان آزاد بر عملکرد عضلانی، ابراهیم و همکاران [۶] گزارش کردند که پس از فعالیت، سطح نیتریک اکساید و ذرات بنیان‌های آزاد افزایش می‌یابد. این نیتریک اکساید درونزاد ضداکساینده‌ای است که برای عملکرد مناسب عضله و کمک به بهبود عملکرد عضلانی ضروری است.

از سوی دیگر، به نظر می‌رسد که مهار التهاب در بیماران عملکرد را بهبود می‌بخشد و میزان خستگی را در آنان کاهش می‌دهد [۷، ۸]. هر چند در تحقیقات مختلفی به استفاده از مواد شیمیایی متفاوت برای این کار پرداخته شده است، یکی از راهکارهای کاهش التهاب، استفاده از اسیدهای چرب است. از آنجا که بخش اعظمی از غشای سلول‌های تک‌هسته‌ای دخیل در فرایند التهاب غنی از اسید آراشیدونیک است، همچنین مقادیر اندکی اسیدهای چرب غیراشباع نیز دارد، نشان داده شده است که میزان و سهم هرکدام از این اسیدهای چرب با میزان چربی‌های رژیم غذایی مرتبط است. تحقیقات نشان داده است که افزایش سهم چربی‌های غیراشباع چندگانه<sup>۹</sup> در رژیم غذایی باعث تغییر در سهم آن در غشای سلول‌های تک‌هسته‌ای خون، همچنین تغییر در عملکرد آنان در ترشح سیتوکین‌ها می‌شود [۸-۱۲]. یکی از بهترین منابع برای این اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه روغن ماهی است که به میزان زیادی حاوی دو اسیدچرب ایکوزاپنتا انوئیک اسید<sup>۱۰</sup> ( $\text{EPA}$ ) و دوکوزاهگزا انوئیک اسید<sup>۱۱</sup> ( $\text{DHA}$ ) است [۸]. در تحقیقات همچنین، نشان داده شده است که مصرف مکمل روغن ماهی باعث کاهش التهاب پس از فعالیت ورزشی می‌شود [۱۳].

پیش از شروع تحقیق، کل فرایند به آزمودنی‌ها توضیح داده شده و تمامی آزمودنی‌ها فرم رضایت از شرکت در تحقیق را امضا کردند و در کل فرایند تحقیق، برای خروج از فرایند تحقیق آزاد بودند. آزمودنی‌ها پرسشنامه غذایی را برای ۳ روز در هفته برای اطمینان از مصرف عادی آیزیان در رژیم غذایی خود، پر کردند. همچنین، تمامی افراد دارای هر گونه سابقه بیماری مزمن التهابی، مصرف دارو و مشکلات عصبی، از فرایند تحقیق خارج شدند.

در تحقیقات گذشته، دوز مؤثر مکمل اسیدهای چرب غیراشباع n3 (n3-PUFAs) برای اثرگذاری بر سطح التهاب در حدود ۲ میلی‌گرم در روز و برای مدت زمان ۴ هفته گزارش شده است [۸]. همچنین، مقدار روغن ماهی موجود در هر کپسول که معادل ۳۰ درصد از وزن هر کپسول بود، ۶ گرم در روز برای آزمودنی‌ها در نظر گرفته شد. این دوز به میزان ۳ بار در روز (هر وعده ۲ گرم) و همراه با وعده‌های غذایی استفاده شد.

### پروتکل پژوهش

نخست، از آزمودنی‌ها خواسته شد تا در روز تعیین شده به آزمایشگاه مراجعه کنند و در آن روز با فرایند کلی تحقیق آشنا شوند. سپس، اندازه‌گیری‌های ترکیب بدنی در وضعیت ناشتا انجام پذیرفت و در جلسه آزمون، همه آزمون‌ها در پنجره زمانی بین ساعت ۹-۱۲ انجام پذیرفت. نحوه انجام آزمون‌ها نیز بدین ترتیب بود که ابتدا خون‌گیری از ورید بازویی آزمودنی‌ها انجام شد. سپس، آزمودنی‌ها آزمون وامانده‌ساز بروس تعدیل‌شده را روی نوارگردان (تکنوجیم<sup>۱۲</sup>، ایتالیا) تا رسیدن به واماندگی اجرا کردند. در انتهای آزمون نیز مجدداً اندازه‌گیری‌های اولیه به همان ترتیب و بلافاصله انجام پذیرفت. سپس، آزمودنی‌ها ۲۰ دقیقه بازیافت غیرفعال داشتند و مجدداً خون‌گیری از آنان انجام پذیرفت. پس از آن آزمودنی‌های دو گروه میزان روزانه ۶ گرم مکمل را (۲ گرم با هر وعده غذایی) برای ۴ هفته دریافت کردند و مجدداً پس

از سوی دیگر، در تحقیقات متعددی نشان داده شده است که پس از فعالیت ورزشی نیز افزایش قابل‌ملاحظه‌ای در سطوح میانجی‌های التهابی اتفاق می‌افتد؛ برای مثال، افزایشی ۱۰۰ برابری در سطوح IL-6 گزارش شده است [۱۴]. از طرفی، با توجه به رابطه نزدیک مشاهده‌شده میان سندرم خستگی مزمن در بیماران و سطوح التهاب در آنان [۵]، همچنین نتایج حاصل از کاهش التهاب پس از فعالیت در اثر مصرف مکمل روغن ماهی [۸]، به نظر می‌رسد که روغن ماهی به واسطه کاهش سطح التهاب به کاهش خستگی بینجامد؛ با این حال، تا کنون تحقیق خاصی در رابطه با تأثیر افزایش سطح التهاب حین فعالیت ورزشی بر خستگی ناشی از فعالیت انجام نشده است. لذا، تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر ۴ هفته بارگیری روغن ماهی بر التهاب، و سطوح نیتریک اکساید و ذرات بنیان‌های آزاد انجام پذیرفت.

### روش پژوهش

#### نمونه‌های پژوهش

تحقیق حاضر از نوع تحقیقات تجربی و به صورت پیش‌آزمون-پس‌آزمون بود. جامعه تحقیق حاضر عبارت بود از مردان جوان سالم با بازه سنی ۲۰-۳۵ سال. پیش از شروع تحقیق، مجوز اخلاق در پژوهش از دانشگاه شهید بهشتی اخذ شد. بیست مرد جوان سالم بدون سابقه هرگونه بیماری مزمن، مشکلات عصبی و عضلانی، مشکل در غدد درون‌ریز و مشکلات سوخت‌وسازی، به صورت نمونه در دسترس در دو گروه تجربی (روغن ماهی: ۱۰ نفر) و کنترل (روغن ذرت: ۱۰ نفر) قرار گرفتند.

علت انتخاب روغن ذرت برای گروه کنترل نیز با توجه به تحقیقات گذشته بود. در مجموع تحقیقات مختلف به نظر می‌رسد که روغن ذرت بهترین گزینه برای استفاده به‌منزله کنترل روغن ماهی است. در تحقیقات نشان داده شده است که این روغن تأثیر چندانی ندارد [۱۵].

بر لیتر) با استفاده از روش الایزا و با استفاده از کیت الایزای دیاکلون<sup>۱۳</sup> (ساخت فرانسه) انجام پذیرفت. از سوی دیگر، اندازه‌گیری نیتریک اکساید (با دقت ۲ میکرولیتر، دامنه ۳/۱۲ تا ۱۰۰ میکرولیتر) و ذرات بنیان آزاد<sup>۱۵</sup> (ROS) (با دقت دو واحد بر لیتر، دامنه ۱۵۰ تا ۴۸۰۰ واحد بر لیتر) نیز به صورت پلاسمایی و به روش الایزا<sup>۱۶</sup> (ELISA) و با استفاده از کیت‌های زلبایو<sup>۱۷</sup> (ساخت آلمان) انجام پذیرفت. در اندازه‌گیری متغیرهای تعیین شده با استفاده از روش الایزا، نخست در مرحله جذب سطحی آنتی‌بادی یا آنتی‌ژن به صورت محلول در بافر اضافه گردید که به طور تهاجمی به فاز جامد در حالت انکوبه حمله می‌کند. سپس، در مرحله شستشو، چاهک‌ها پر از محلول‌های بافری شد. بنابراین، آنتی‌بادی‌ها به طور اختصاصی با آنتی‌ژن‌ها واکنش داد. سپس، آنزیم‌های ویژه‌ای برای اتصال به ماده خاصی ایجاد واکنش کرد و این واکنش‌ها سیگنال‌هایی مانند تغییر رنگ خوانش پذیر ایجاد کرد. پس از این مرحله، اندازه‌گیری رنگ تولیدشده در ELISA با خوانش اختصاصی در اسپکتوفتومتری در ولتاژ مخصوص برای رنگ‌های خاص به دست آمده با آنزیم‌های خاص انجام پذیرفت.

### تحلیل آماری

نخست، برای بررسی وضعیت توزیع داده‌ها، از آزمون آماری کلموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. برای آمار توصیفی داده‌ها از میانگین و انحراف معیار و سپس از آزمون تحلیل دوطرفه واریانس با عامل بین گروهی برای بررسی تفاوت میان دو گروه در تغییرات مقادیر اندازه‌گیری شده نسبت به پیش‌آزمون استفاده شد. برای تعیین تغییرات احتمالی در تغییرات مقادیر پیش‌آزمون گروه‌ها نیز از آزمون تی مستقل استفاده شد. سطح معناداری معادل  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

از ۴ هفته مکمل‌دهی، آزمون‌ها با همان ترتیب پیش از مکمل‌دهی انجام شد. همچنین، با توجه به آنکه هدف تحقیق حاضر بررسی پاسخ به میزان یکسانی از فعالیت بود، پس از هر فعالیت وامانده‌ساز، زمان رسیدن تا واماندگی ثبت شد. پس از دوره مکمل‌دهی نیز مجدداً آزمون با همان زمان گذشته ثبت گردید.

برای ایجاد واماندگی در آزمودنی‌ها از برنامه وامانده‌ساز بروس تعدیل شده روی دستگاه نوارگردان استفاده شد [۱۶]. نحوه انجام این برنامه بدین ترتیب بود که آزمودنی‌ها نخست با سرعت ۲/۷۴ کیلومتر بر ساعت شروع به پیاده‌روی کردند و پس از ۳ دقیقه، ۵ درجه شیب به دستگاه اضافه شد. پس از ۳ دقیقه دیگر و پایان این مرحله، مجدداً ضمن ثبات در سرعت، شیب نوارگردان تا ۱۰ درجه افزایش یافت و از این مرحله به بعد به تدریج، شیب و سرعت نوارگردان افزایش یافت تا جایی که آزمودنی‌ها خود اعلام واماندگی کردند [۱۷]. در این لحظه زمان ثبت شد تا مجدداً پس از دوره مکمل‌دهی آزمون با همین زمان اجرا شود. نحوه کامل انجام برنامه به شرح زیر بود.

### روش‌های آزمایشگاهی

پس از گرفتن نمونه‌های خونی به میزان ۵ میلی‌لیتر از ورید بازویی آزمودنی‌ها، این نمونه‌ها در لوله EDTA ۱۰ میلی‌لیتری قرار گرفت و بلافاصله پس از انتقال به آزمایشگاه، برای مدت ۱۰ دقیقه با ۲۵۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دستگاه سانتریفیوژ اپندورف ساخت آلمان (Ependorf 541r) سانتریفیوژ شد. در نهایت، پلاسمای آن جمع‌آوری شد و در میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری قرار گرفت و تا زمان ارزیابی‌های آزمایشگاهی، در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گرادی نگهداری شد.

ارزیابی مقادیر عامل کشنده توموری  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (با دقت کمتر از ۱۰ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، دامنه ۲۵ تا ۸۰۰ پیکوگرم

## نتایج

مقادیر توصیفی مربوط به ویژگی‌های جسمانی آزمودنی‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد ویژگی‌های جسمانی آزمودنی‌های حاضر در تحقیق

تعداد آزمودنی‌ها	سن (سال)	قد (سانتی‌متر)	وزن (کیلوگرم)	درصد چربی (%)
۲۰	۲۶/۹۰ $\pm$ ۲/۶۴	۱۷۵/۸۰ $\pm$ ۴/۸۹	۷۸/۳۳ $\pm$ ۱۰/۴۲	۱۸/۴۰ $\pm$ ۵/۴۶

**TNF- $\alpha$**   
نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه میان تغییرات دو گروه پس از فعالیت در پاسخ به مکمل‌دهی حاکی از نبود تفاوت معنادار میان دو گروه بود ( $F=۱/۹۵$ ,  $P>۰/۰۵$ ). این در حالی بود که تفاوت معناداری میان تغییرات مقادیر دو گروه پس از ۲۰ دقیقه بازیافت مشاهده شد ( $P=۰/۰۱۵$ ).  $F=۷/۳۸$  که به صورت افزایش در تغییرات مقادیر TNF- $\alpha$  در گروه روغن ماهی در مقایسه با گروه روغن ذرت، ۲۰ دقیقه پس از فعالیت و پس از مکمل‌دهی بود. در رابطه با تغییرات در مقادیر پایه TNF- $\alpha$  در آزمودنی‌های دو گروه، نتایج آزمون t مستقل حاکی از وجود تفاوت معنادار میان تغییرات در مقادیر پایه دو گروه بود ( $P=۰/۰۳۸$ ). مقادیر میانگین  $\pm$  انحراف معیار این متغیر در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲. میانگین  $\pm$  انحراف معیار مقادیر TNF- $\alpha$ ، NO و ROS در پاسخ به فعالیت و ۲۰ دقیقه بازیافت پس از ۴ هفته مکمل‌دهی

متغیر/ زمان	گروه	قبل از مکمل‌دهی			بعد از مکمل‌دهی		
		قبل از فعالیت	بعد از فعالیت	۲۰ دقیقه بازیافت	قبل از فعالیت	بعد از فعالیت	۲۰ دقیقه بازیافت
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	روغن ذرت	۷/۶۵ $\pm$ ۲/۲۵	۶/۶۰ $\pm$ ۲/۹۰	۱۱/۶۳ $\pm$ ۴/۲۱	۹/۰۶ $\pm$ ۱/۷۴	۱۰/۶۱ $\pm$ ۳/۰۶	۹/۴۳ $\pm$ ۲/۶۷
	روغن ماهی	۱۳/۲۴ $\pm$ ۴/۸۹ <sup>o</sup>	۱۹/۵۱ $\pm$ ۱۲/۹۱	۱۱/۷۳ $\pm$ ۴/۵۶	۹/۲۳ $\pm$ ۳/۳۵ <sup>o</sup>	۸/۷۴ $\pm$ ۱/۱۸	۱۰/۹۱ $\pm$ ۳/۳۴
NO (pg/ml)	روغن ذرت	۴۶/۵۶ $\pm$ ۵/۸۹	۸۶/۵۳ $\pm$ ۳۵/۳۲	۴۷/۴۱ $\pm$ ۹/۱۲	۴۱/۴۳ $\pm$ ۳/۴۹	۴۳/۴۶ $\pm$ ۵/۵۱	۴۸/۸۰ $\pm$ ۷/۵۲
	روغن ماهی	۴۸/۲۶ $\pm$ ۵/۰۴*	۶۵/۹۵ $\pm$ ۸/۵۴	۵۹/۵۷ $\pm$ ۷/۱۷	۵۶/۷۸ $\pm$ ۸/۱۸*	۵۸/۲۸ $\pm$ ۸/۷۶ <sup>oo</sup>	۴۸/۵۷ $\pm$ ۷/۱۳ <sup>oo</sup>
ROS (pg/ml)	روغن ذرت	۶۰۲/۸۲ $\pm$ ۲۰۷/۰۰	۷۰۱/۸۶ $\pm$ ۲۵۱/۴۸	۴۸۹/۰۳ $\pm$ ۲۱۴/۷۶	۶۳۷/۴۶ $\pm$ ۴۱۱/۱۶	۵۹۵/۵۰ $\pm$ ۳۹۵/۱۵	۵۹۹/۸۳ $\pm$ ۴۷۰/۲۱
	روغن ماهی	۶۳۹/۵۰ $\pm$ ۲۷۳/۵۴	۶۵۵/۸۱ $\pm$ ۲۸۳/۲۷	۵۷۲/۲۷ $\pm$ ۳۲۴/۰۴	۵۰۲/۲۵ $\pm$ ۳۸۰/۶۱	۴۶۴/۰۶ $\pm$ ۳۷۱/۲۷	۴۴۹/۵۵ $\pm$ ۳۵۵/۳۵

\* تفاوت معنادار با مقادیر پیش از مکمل‌دهی

# تفاوت معنادار میان تغییرات دو گروه پس از مکمل‌دهی

نتایج حاصل از مقایسه مقادیر پایه نیتریک اکساید دو گروه پس از مکمل‌دهی نیز حاکی از وجود تفاوت معنادار بود ( $P=۰/۰۰۸$ ). مقادیر توصیفی نیتریک اکساید در جدول ۲ ارائه شده است.

## نیتریک اکساید (NO)

نتایج آزمودنی‌های دو گروه در پاسخ به مکمل‌دهی حاکی از وجود تفاوت معنادار میان تغییرات مقادیر نیتریک اکساید پس از تمرین ( $F=۵/۶۴$ ,  $P=۰/۰۳۴$ ) و پس از بازیافت بود

### ذرات بنیان‌های آزاد (ROS)

نتایج حاصل از مقایسه تغییرات ایجاد شده در مقادیر ذرات بنیان‌های آزاد در پاسخ به فعالیت وامانده‌ساز و بازیافت نیز حاکی از نبود تفاوت معنادار میان دو گروه بود ( $P > 0/05$ ). مقادیر توصیفی بنیان‌های آزاد در جدول ۲ ارائه شده است. همچنین، نتایج حاصل از مقایسه تغییرات مقادیر پایه ذرات بنیان‌های آزاد حاکی از نبود تفاوت معنادار میان دو گروه بود ( $P > 0/05$ ).

### بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن بود که ۴ هفته بارگیری روغن ماهی باعث کاهش سطوح پایه  $TNF-\alpha$  می‌شود. از سوی دیگر، مقایسه تغییرات  $TNF-\alpha$  پس از فعالیت و بازیافت در پاسخ به مکمل‌دهی حاکی از آن بود که تفاوت معنادار تنها میان تغییرات دو گروه پس از بازیافت وجود داشت. این تفاوت به‌صورت افزایش در میزان سطح پایه گروه روغن ماهی به‌همراه افزایش در میزان تفاوت ایجاد شده پس از بازیافت تمرین بود.

نکته جالب توجه در رابطه با تغییرات سطوح  $TNF-\alpha$  آن بود که هر چند پس از مکمل‌دهی روغن ماهی، تغییرات نسبت به پیش از مکمل‌دهی افزایش داشت، همه سطوح مربوط به گروه روغن ماهی در پاسخ به مکمل‌دهی کاهش داشت که به‌نظر می‌رسد با توجه به درصد تغییرات بیشتر سطح پایه  $TNF-\alpha$  در پاسخ به مکمل‌دهی، این عامل به افزایش پاسخ به تمرین در سطوح  $TNF-\alpha$  منجر شده است.

در رابطه با تأثیر روغن ماهی بر تغییرات سطوح  $TNF-\alpha$  پس از فعالیت، سانتوس و همکاران [۱۸] بیان کرده‌اند که در پاسخ به ۶۰ روز مکمل‌دهی با میزان ۱۸۰۰ میلی‌گرم در روز روغن‌های اشباع چندگانه (EPA+DHA) کاهش معناداری در سطوح پایه  $TNF-\alpha$ ، IL-10 و IL-2 اتفاق افتاد [۱۸]. در رابطه با تغییرات مشاهده شده در تغییرات سطوح  $TNF-\alpha$

پس از دوره بازیافت نیز یکی از علل اندازه‌گیری  $TNF-\alpha$  در دوره بازیافت در تحقیق حاضر آن بود که در تحقیقات پیشین نشان داده شده بود اوج تغییرات در  $TNF-\alpha$  در دوره بازیافت پس از فعالیت اتفاق می‌افتد. لذا، در تحقیق حاضر نیز علاوه بر اندازه‌گیری پس از فعالیت، اندازه‌گیری ۲۰ دقیقه پس از فعالیت نیز انجام پذیرفت [۴]. لذا، نداشتن تفاوت معنادار در تغییرات  $TNF-\alpha$  میان دو گروه بلافاصله پس از فعالیت به‌نظر عادی می‌رسد.

نکته حائز اهمیت آن است که برای گروه کنترل از هیچ‌گونه مکملی استفاده نشد، اما همان‌طور که در تحقیق کرامر و همکاران [۱۵] نیز ذکر شده است، هرگونه اسید چربی ممکن است تأثیری بر دستگاه ایمنی داشته باشد. لذا، به‌نظر می‌رسد شاید بخشی از عدم معناداری پس از تمرین نیز وابسته به تأثیر روغن ذرت در گروه کنترل باشد. لذا، همان‌طور که در برخی تحقیقات نیز بدین‌گونه بوده است، به‌نظر می‌رسد که عدم استفاده از روغن دیگری برای گروه کنترل شاید بتواند تغییرات حاصل از روغن ماهی را به‌شکل بهتری منعکس کند.

از سوی دیگر، در تحقیق دیگری، نتایج کیو و همکاران [۱۹] حاکی از آن بود که ۵۶ روز مکمل‌دهی با ۱۱۴۰ میلی‌گرم DHA باعث کاهش سطوح  $TNF-\alpha$  و IL-6 پس از فعالیت شده است. موضوع متفاوت در مورد تحقیق آنان این است که همراه با فعالیت ورزشی از لیپوپولی ساکارید نیز برای تحریک دستگاه ایمنی استفاده شد؛ لذا، پاسخ ایمنی بیشتر بود و تأثیرات روغن ماهی نیز بیشتر مشهود بوده است.

از سوی دیگر، یکی از نظریات مطرح در رابطه با خستگی، نظریه ابراهیم و همکاران [۶] است که بیان کرده‌اند در اثر انقباض عضلانی و خستگی، افزایشی در سطوح نیتریک اکساید و بنیان‌های آزاد عضله دوقلوی موش اتفاق می‌افتد. نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که استفاده از گلوکوتایون برای مهار فشار اکسایشی تأثیری بر نیروی تولیدی عضله

تبدیل به نیتريت ( $\text{NO}_2^-$ ) یا نیترات ( $\text{NO}_3^-$ ) شود که ذرات بنیانی است و باعث آسیب به سلول می‌شود [۲۱]. سطح بسیار زیاد این ماده نیز مناسب نیست.

لذا، همان‌طور که از نتایج تحقیق حاضر و نتایج تحقیق زبروسکا و همکاران [۲۰] مشاهده می‌شود، به‌نظر می‌رسد که روغن ماهی باعث افزایش سطح پایه NO در بدن می‌شود و از این طریق بهبود ظرفیت ضداکسایشی و بهبود عملکرد عضلانی را به‌دنبال دارد. همان‌طور که زبروسکا و همکاران [۲۰] بیان داشته‌اند، به‌نظر می‌رسد که شاید این افزایش در رهایش نیتريك اکساید زیربنای سازوکارهای سازگاری و بهبود عملکرد عضلانی باشد.

همچنین، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در مقایسه با گروه روغن ذرت، میزان افزایش NO در پاسخ به فعالیت و بازیافت پس از دوره مکمل‌دهی کاهش می‌یابد، هر چند این کاهش در میزان پاسخ ممکن است دلایل متفاوتی داشته باشد و شاید بتوان دو دلیل آن را ابتدا افزایش در سطح پایه و دوم، با توجه به نتایج تحقیقات مختلفی دانست که حاکی از تأثیرات متفاوت روغن ماهی بر عملکرد قلبی-عروقی، عصبی-عضلانی و جز آن است. این کاهش در میزان پاسخ را می‌توان ناشی از فشار فیزیولوژیایی کمتر بر آزمودنی‌های گروه روغن ماهی نسبت به پیش از مکمل‌دهی دانست [۲۲-۲۵]. ضمن آنکه تغییرات در سطوح ROS پس از مکمل‌دهی در هر سه مقطع کاهشی غیرمعنادار داشته است، همین کاهش نیز نیازمند فعالیت ضداکسایشی کمتر خواهد بود؛ لذا، کاهش در میزان تغییرات NO را توجیه می‌کند.

در مجموع، نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن بود که همان‌طور که در تحقیق کالدر و همکاران [۸] بیان شده است، به‌نظر می‌رسد که میزان دوز معادل ۲۰۰۰ میلی‌گرم EPA+DHA به‌میزان ۴ هفته میزان دوز کافی برای ایجاد تغییرات پایدار در ساختار غشایی سلول‌های دخیل در ایمنی باشد. از سوی

نداشته است. از سوی دیگر، استفاده از I-NAME برای مهار تولید نیتريك اکساید باعث تسریع خستگی شده است. نتیجه‌گیری این تحقیق نیز به این صورت بوده است که NO درونزاد ضداکسایشی برای حفظ تعادل اکسایشی/ضد اکسایشی ضروری است و به عملکرد انقباضی عضله کمک می‌کند. ضمن آنکه در این تحقیق، افزایش معنادار در ذرات اکسایشی آزاد و نیتريك اکساید در اثر انقباض عضلانی در عضله گزارش شده است.

موضوعی که در تحقیق ذکرشده در رابطه با تغییرات سطوح نیتريك اکساید و ذرات بنیان‌های آزاد اهمیت دارد، حفظ تعادل میان این دو است. در تحقیق حاضر، افزایشی در سطوح ذرات بنیان‌های آزاد پلاسمایی در هیچ‌کدام از گروه‌ها مشاهده نشد. هر چند در رابطه با تغییرات سطوح پایه نیز، با وجود آنکه تفاوت معناداری مشاهده نشد، کاهش ۱۰/۵ درصدی در میزان فشار اکسایشی پایه پس از مکمل‌دهی در گروه روغن ماهی مشاهده شد.

در رابطه با تحقیقات انجام‌شده درباره تأثیر روغن ماهی بر سطوح نیتريك اکساید، نتایج زبروسکا و همکاران [۲۰] حاکی از آن بود که پس از ۲۱ روز مصرف ۱۱۰۰ میلی‌گرم EPA+DHA سطح پایه نیتريك اکساید در گروهی که روغن ماهی مصرف کرده بودند به‌طور معناداری افزایش پیدا کرد. اما در این تحقیق درباره میزان تغییرات پس از فعالیت نتیجه‌ای بیان نشده است و تنها بیان شده است که این مکمل باعث افزایش مقادیر پس از آزمون پس از مکمل‌دهی نسبت به مقادیر پیش از مکمل‌دهی می‌شود.

از سوی دیگر، در تحقیقات مختلفی نشان داده شده است که مصرف مکمل روغن ماهی به کاهش نیتريك اکساید منجر می‌شود. علاوه بر مزایایی که در مورد NO وجود دارد به‌نظر می‌رسد که نیتريك اکساید هم به‌صورت مفید وجود دارد و هم مضر. از آنجا که نیتريك اکساید همچنین ممکن است

عملکرد ورزشی نیز اثرگذار باشد که نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. همچنین، با توجه به آنکه تغییرات سطوح نشانگرهای التهابی با فواصل مختلف انجام می‌پذیرد و درصد تغییرات در سطوح TNF- $\alpha$  زیاد نیست [۴]، به نظر می‌رسد که در تحقیقات آتی نیاز به آن است که این تغییرات با فواصل زمانی مختلفی ارزیابی شود.

با این حال، پیرامون آثار التهاب بر خستگی ناشی فعالیت، همچنین آثار روغن ماهی بر بهبود عملکرد ورزشی و خستگی، تحقیقات بیشتری نیاز است.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از تمامی آزمودنی‌ها و استادانی که در این کار دخیل بودند و به اجرای هر چه بهتر این کار کمک کردند، تقدیر و تشکر می‌شود. این کار بخشی از رسالهٔ دکتری بود و بخشی از هزینه‌های آن را نویسندگان و بخش دیگر را دانشگاه تبریز تأمین کرده است.

### پی‌نوشت‌ها

<sup>1</sup> GTP-cyclohydrolase 1

<sup>2</sup> Tetrahydrobiopterin

<sup>3</sup> Nitric oxide

<sup>4</sup> Inducible nitric oxide synthase

<sup>5</sup> Indoleamine 2,3 dioxygenase

<sup>6</sup> Tryptophan

<sup>7</sup> Kynurenine

<sup>8</sup> Quinolinic acid

<sup>9</sup> 3-hydroxy kynurenine

<sup>10</sup> Poly-unsaturated fatty acids

<sup>11</sup> Ecosapentaenoic acid

<sup>12</sup> Docosahexaenoic acid

<sup>13</sup> Technogym

<sup>14</sup> Diaclone

<sup>15</sup> Reactive oxygen species

<sup>16</sup> Enzyme-linked immunosorbent assay

<sup>17</sup> Zellbio

دیگر، به نظر می‌رسد که بخش اعظم تغییرات ایجادشده در اثر روغن ماهی مرتبط با تغییرات ایجادشده در سطوح پایهٔ التهابی است و با توجه به نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد که این مکمل باعث کاهش خستگی محیطی شود؛ هر چند تعیین سازوکارهای دقیق آن نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

از سوی دیگر، با توجه به آنکه برخی سازگاری‌های ایجادشده در اثر فعالیت ناشی از افزایش در سطوح سیتوکین‌هاست، ممکن است استفادهٔ بلندمدت از این مکمل بتواند باعث کاهش در میزان سازگاری‌های ناشی از فعالیت شود؛ هر چند این موضوع نیز نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. همچنین، با توجه به افزایش ناشی از روغن ماهی در فعالیت ضداکسایشی ناشی از NO و با توجه به سطوح بالای فشار اکسایشی، به‌ویژه در شهرهای پرجمعیت، ناشی از آلودگی هوا و سایر عوامل، می‌توان علاوه بر ورزشکاران از آن برای افزایش سطح تندرستی افراد عادی نیز استفاده کرد. همچنین، علاوه بر دلایل مختلفی که عموماً پیرامون آثار ضدالتهابی روغن ماهی بر بهبود سندرم خستگی مرکزی ذکر شده است، به نظر می‌رسد که یکی از آثار قابل توجه روغن ماهی بر افزایش سطح قابلیت ضداکسایشی است که از این طریق نیز احتمالاً باعث بهبود در عملکرد عضلانی می‌شود.

علاوه بر این، همان‌طور که مشاهده شد، روغن ماهی سبب کاهش سطح پایهٔ التهاب، همچنین میزان تغییرات پس از بازیافت در سطوح TNF- $\alpha$  می‌شود که با توجه به نتایج تحقیقات انجام‌شده دربارهٔ رابطهٔ بین سطح التهاب و خستگی در بیماران [۵]، همچنین تغییرات مشاهده‌شده در سطوح نیتریک اکساید، به نظر می‌رسد که این کاهش در التهاب در

Immunology and Allergy Clinics of North America. 2009; 29(2): 381-93.

[2] Peake JM, Neubauer O, Della Gatta PA, Nosaka K. Muscle damage and inflammation

### منابع

[1] Woods JA, Vieira VJ, Keylock KT. Exercise, inflammation, and innate immunity.



- during recovery from exercise. *Journal of Applied Physiology*. 2016; 122(3): 559-70.
- [3] Ament W, Verkerke GJ. Exercise and fatigue. *Sports Medicine*. 2009; 39(5): 389-422.
- [4] Pedersen BK. Exercise and cytokines. *Immunology and Cell Biology*. 2000; 78(5): 532-5.
- [5] Dantzer R, Heijnen CJ, Kavelaars A, Laye S, Capuron L. The neuroimmune basis of fatigue. *Trends in Neurosciences*. 2014; 37(1): 39-46.
- [6] Ibrahim MY, Ashour OM. Changes in nitric oxide and free radical levels in rat gastrocnemius muscle during contraction and fatigue. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2011; 38(12): 791-5.
- [7] Rahman I, Biswas SK, Kirkham PA. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochemical Pharmacology*. 2006; 72(11): 1439-52.
- [8] Calder PC. Fatty acids and inflammation: the cutting edge between food and pharma. *European Journal of Pharmacology*. 2011; 668: S50-S8.
- [9] Andrade PM, Ribeiro BG, Bozza MT, Rosa LFBC, do Carmo MGT. Effects of the fish-oil supplementation on the immune and inflammatory responses in elite swimmers. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2007; 77(3): 139-45.
- [10] Camuesco D, Gálvez J, Nieto A, Comalada M, Rodríguez-Cabezas ME, Concha A, et al. Dietary olive oil supplemented with fish oil, rich in EPA and DHA (n-3) polyunsaturated fatty acids, attenuates colonic inflammation in rats with DSS-induced colitis. *The Journal of Nutrition*. 2005; 135(4): 687-94.
- [11] Delfan M, Ebrahim K, Baesi F, Mirakhori Z, Ghalamfarsa G, Bakhshaei P, et al. The immunomodulatory effects of fish-oil supplementation in elite paddlers: a pilot randomized double blind placebo-controlled trial. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*. 2015; 99: 35-40.
- [12] McNulty SR, Nieman DC, Fox-Rabinovich M, Duran V, McNulty LS, Henson DA, et al. Effect of n-3 fatty acids and antioxidants on oxidative stress after exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2010; 42(9): 1704-11.
- [13] Capó X, Martorell M, Sureda A, Llompart I, Tur JA, Pons A. Diet supplementation with DHA-enriched food in football players during training season enhances the mitochondrial antioxidant capabilities in blood mononuclear cells. *European Journal of Nutrition*. 2015; 54(1): 35-49.
- [14] Fischer CP. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance. *Exerc Immunol Rev*. 2006; 12(41): 6-33.
- [15] Kremer JM. n-3 Fatty acid supplements in rheumatoid arthritis. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2000; 71(1): 349s-51s.
- [16] McInnis K, Balady GJ. Comparison of submaximal exercise responses using the Bruce vs modified Bruce protocols. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1994; 26(1): 103-7.
- [17] Lepers R, Hauswirth C, Maffiuletti N, Brisswalter J, Van Hoecke J. Evidence of neuromuscular fatigue after prolonged cycling exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2000; 32(11): 1880-6.
- [18] Santos VC, Levada-Pires AC, Alves SR, Pithon-Curi TC, Curi R, Cury-Boaventura MF. Effects of DHA-rich fish oil supplementation on lymphocyte function before and after a marathon race. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2013; 23(2): 161-9.

- [19] Capo X, Martorell M, Llompart I, Sureda A, Tur J, Pons A. Docosahexanoic acid diet supplementation attenuates the peripheral mononuclear cell inflammatory response to exercise following LPS activation. *Cytokine*. 2014; 69(2): 64-166.
- [20] Żebrowska A, Mizia-Stec K, Mizia M, Gąsior Z, Poprzęcki S. Omega-3 fatty acids supplementation improves endothelial function and maximal oxygen uptake in endurance-trained athletes. *European Journal of Sport Science*. 2015; 15(4): 5-14.
- [21] Peoples GE, McLennan PL. Fish oil for physical performance in athletes. 2016.
- [22] Guezennec C, Nadaud J, Satabin P, Leger F, Lafargue P. Influence of polyunsaturated fatty acid diet on the hemorrheological response to physical exercise in hypoxia. *International Journal of Sports Medicine*. 1989; 10(04): 286-91.
- [23] Peoples GE, McLennan PL, Howe PR, Groeller H. Fish oil reduces heart rate and oxygen consumption during exercise. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2008; 52(6): 540-7.
- [24] Mickleborough TD, Murray RL, Ionescu AA, Lindley MR. Fish oil supplementation reduces severity of exercise-induced bronchoconstriction in elite athletes. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2003; 168(10): 1181-9.
- [25] Mickleborough TD, Sinex JA, Platt D, Chapman RF, Hirt M. The effects PCSO-524®, a patented marine oil lipid and omega-3 PUFA blend derived from the New Zealand green lipped mussel (*Perna canaliculus*), on indirect markers of muscle damage and inflammation after muscle damaging exercise in untrained men: a randomized, placebo controlled trial. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2015; 12(1): 10



Shahid Beheshti University

## Sport and Exercise Physiology

Spring and Summer 2020; Vol.13; No.1

---

### The effect of 4-week fish oil supplementation on inflammation and plasma nitric oxide and reactive oxygen species in response to exhaustive exercise

Vahid Sari Sarraf<sup>\*1</sup>, Maryam Nourshahi<sup>2</sup>, Roya Zekri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

<sup>2</sup>Faculty Sport Sciences and Health, University of Shahid Beheshti, Tehran, Iran.

\* Corresponding Author: Vahid Sari Sarraf, Tel: +98-41-33393394. E-mail: sarraf@tabrizu.ac.ir

Received: 05/08/2017

Revised: 16/03/2017

Accepted: 06/04/2017

#### Abstract

**Purpose:** Previous studies in the case of fish oil showed its effectiveness on reducing inflammation and improving performance, but its effects on peripheral fatigue and related mediators are not well understood.

**Methods:** 20 healthy men students (age:  $26.90 \pm 2.64$  yrs, weight:  $78.33 \pm 10.42$  kg, height:  $175.80 \pm 4.89$  cm, body fat percent:  $18.40 \pm 5.46$ ) were selected and randomly assigned into corn oil and fish oil groups and consumed daily doses of 6 gr for 4-weeks. Before and after supplementation, participants performed Bruce exhausting protocol and blood samples were taken before, immediately after and after 20-min recovery.

**Results:** Our results showed significant decrease in baseline values of TNF- $\alpha$  and significant increase in baseline values of NO ( $P < 0.05$ ) after supplementation. In addition, there were significant differences between groups after supplementation in changes of TNF- $\alpha$  after recovery ( $F = 7.38$ ,  $P = 0.015$ ) and changes of NO after exercise ( $F = 5.64$ ,  $P = 0.034$ ) and recovery ( $F = 8.83$ ,  $P = 0.011$ ). However, no changes observed in the case of ROS.

**Conclusion:** These results showed that fish oil supplementation could reduce baseline inflammation and thus, increase baseline NO that can improve anti-oxidant capacity. However, TNF- $\alpha$  response to recovery increased that seems to be highly affected by increase in post-supplementation baseline. In addition, NO responses to exercise decreased that is may be because of the lower physiological stress of activity.

**Keywords:** Nitric oxide, Peripheral fatigue, Reactive oxygen species, Tumor necrosis factor.