

Wpływ suplementacji donorem cysteiny na wydolność mięśniową

L. C. LANDS,^{1,2} V. L. GREY,^{2,3} AND A. A. SMOUNTAS¹

¹ Wydział Medycyny Oddechowej, ² Wydział Pediatrii i ³ Wydział Biochemii, Uniwersyteckie Centrum Zdrowia McGill – Szpital Dziecięcy w Montrealu, Montreal, Quebec, Kanada H3H 1P3

Lands, L. C., V. L. Grey, and A. A. Smountas. Effect of supplementation with a cystein donor on muscular performance. *J. Appl. Physiol.* 87(4): 1381-1385, 1999. – Stres oksydacyjny przyczynia się do zmęczenie mięśni. GSH (zredukowana postać glutationu) jest głównym wewnątrzkomórkowym antyutleniaczem, którego synteza jest zależna od dostępności cysteiny. Zakładamy, że suplementacja donorem cysteiny pochodzącym z serwatki [Immunocal(HMS90)] stworzonym, by zwiększać poziom wewnątrzkomórkowego GSH, zwiększy efektywność mięśni. Dwadzieścioro zdrowych młodych ludzi (10 mężczyzn, 10 kobiet) zostało poddanych badaniom przed oraz po 3 miesięcznej suplementacji Immunocalem (20g/dzień) lub kazeinowym placebo. Wydolność mięśniowa była oceniana na podstawie rowerowego, izokinetycznego testu kończyn dolnych, mierząc moc szczytową i 30 sekundową wydolność. Jako znacznik tkankowego GSH użyto GSH limfocytów. Nie było różnic w parametrach wyjściowych, tj. wiek, wzrost, waga, % wagi idealnej, moc szczytowa, 30 sekundowa wydolność. Zanalizowano wyniki zebrane z 18 przypadków (9 Immunocal, 9 placebo). Zaobserwowano znaczący statystycznie wzrost mocy szczytowej [$13 \pm 3.5(\text{SE})\%$, $P < 0.02$] jak i wydolności w 30 sekundowym teście ($13 \pm 3.7\%$, $P < 0.03$) w grupie przyjmującej Immunocal, zaś grupa placebo nie wykazała żadnych zmian (2 ± 9 i $1 \pm 9.3\%$ odpowiednio). Poziom limfocytnego GSH także wzrósł znacząco w grupie przyjmującej Immunocal ($35.5 \pm 11.04\%$, $P < 0.02$), w grupie placebo nie zaobserwowano zmian ($-0.9 \pm 9.6\%$). Są to pierwsze badania demonstrujące poprawę sprawności spowodowaną przedłużoną suplementacją produktem zaprojektowanym, by wzmacniać obronę przed wolnymi rodnikami.

Stres oksydacyjny, ćwiczenia fizyczne

STRES OKSYDACYJNY przyczynia się do rozwoju zmęczenia mięśni (27). GSH jest głównym wewnątrzkomórkowym antyoksydantem, którego biosynteza zależy od dostępności cysteiny wewnątrz komórki (1). Poprzednie prace wykazały, że suplementacja N-acetylocysteiną może opóźnić początek zmęczenia mięśni (26). Jednakże metodzie tej towarzyszą poważne skutki uboczne (18, 26), prawdopodobnie związane ze wzrostem poziomu zewnątrzkomórkowej cysteiny (1, 24). Cysteina, w formie cząsteczek glutamylcysteinowych chętniej wnika do komórek. Immunocal, doustny suplement na bazie serwatki względnie pozbawiony glutamylcysteiny, zwiększa wewnątrzkomórkowe stężenie GSH in vitro (5). Zakładamy, że jeśli proces ten będzie zachodził in vivo, suplementacja Immunocalem mogła by poprawić sprawność mięśniową.

MATERIAŁY I METODY

W badaniu wzięło udział dwadzieścioro młodych i zdrowych ludzi (10 mężczyzn, 10 kobiet). Po podpisaniu świadomej zgody pacjenci zostali losowo przyporządkowani do grupy przyjmującej Immunocal (10g/dawka dwa razy dziennie) lub do grupy przyjmującej kazeinowe placebo w takiej samej dawce, przez 3 miesiące (5 mężczyzn i 5 kobiet w każdej grupie; Immunocal oraz kazeinowe placebo zostały zapewnione przez Immunotec Research, Vaudreuil, PQ). Pacjenci zostali wyposażeni w pojemniki zawierające 30-dniową dawkę. Pod koniec każdego miesiąca pacjenci przychodzili po kolejną dawkę. Zmiany w wadze pojemnika były wskaźnikiem przestrzegania przyjmowanej dawki. Pacjenci jak i personel naukowy, aż do zakończenia badania, nie byli poinformowani o tym, który suplement został podany której grupie.

Badania pacjentów przeprowadzano rano, 3-4 godziny po wystandaryzowanym śniadaniu (szklanka nisko tłuszczowego mleka, 2 tosty z dżemem bez masła i szklanka soku). Pacjenci poddawani byli tym samym badaniom na początku jak i na końcu całego badania.

Wzrost pacjentów odzianych w pończochy mierzony był na stadiometrze, zaś ich waga rejestrowana była, gdy byli lekko odziani i stali na elektronicznej wadze. Waga wyrażona była także jako procent idealnej wagi dla danego wzrostu i wieku (14). Aby oszacować procentową zawartość tłuszczu mierzono grubość tkanki podłopatkowej i mięśnia trójgłowego (19).

W celu analizy stężenia limfocytarnego GSH pacjentom pobrano 10 ml krwi z żyły przedłokciowej, do heparynizowanej strzykawki, w czasie czterech okazji przed każdą sesją ćwiczeń: dwa razy, oddzielone 2-3 godzinami 2 dni przed badaniem, i dwa razy oddzielone 2-3 godzinami w dzień badania. Średnia z tych czterech pomiarów była użyta do porównań przed i po suplementacji. Pacjenci także wypełniali kwestionariusz dotyczący ich typowej aktywności dziennej w poprzednim tygodniu (3). W skrócie kwestionariusz dzielił dzień na odcinki pomiędzy posiłkami. Czas spędzony na wysiłku umiarkowanym (np. chodzenie) i wzmożonym (np. bieg, jazda na rowerze) był przeliczany dla każdego odcinka czasu. Obliczono także procent czasu spędzonego na byciu aktywnym.

Sprawność mięśniowa szacowana była podczas izokinetycznej jazdy na rowerze (20, 23). Chociaż 30-sekundowy izokinetyczny sprint początkowo jest glikolityczny (25, 35) to cała praca wykonana w czasie sprintu silnie koreluje z wydolnością tlenową mierzoną podczas progresywnego ergometrycznego testu rowerowego (20, 23). Zestawienie wydolności podczas sprintu z funkcjonowaniem płuc pozwala na oszacowanie maksymalnej wydolności w czasie pracy ciągłej, podczas gdy krótki czas testu pozwala na ocenienie niezależnego wpływu działania obwodowych mięśni szkieletowych na ograniczenia w ćwiczeniach u pacjentów zdrowych, jak i chorych (20, 22, 23). 30 sekundowy izokinetyczny sprint powoduje przepływ elektrolitów, produkcję mleczanów oraz wzrost zużycia tlenu (25), czyli powstanie warunków, które powinny przyczynić się do powstania reaktywnych form tlenu.

W standardowym teście rowerowym, opisanym poprzednio (21), pacjenci wykonywali całkowity wysiłek w czasie 30 sekund pedałowania z szybkością 60 rpm. W czasie jazdy siła na podpórcie osi koła swobodnie obracającego się była stale monitorowana na poziomie 200 Hz. Następnie dane te były analizowane w celu oszacowania maksymalnej uzyskanej siły (W) oraz całkowitej uzyskanej pracy (kJ). Obie wielkości były przedstawione jako procent wartości przewidzianych, używając zależnego od płci bilansu stworzonego na podstawie wieku i wzrostu pacjenta (23).

Otrzymywanie limfocytów. Krew rozcieńczana była w równej objętości pożywki RPMI-1640, otrzymaną miksturę przenoszono do próbówki zawierającej 4 ml Ficoll-Hypaque, a następnie wirowano przy 400 g (1400 rpm, IEC-7) przez 30 minut. Komórki z interfazy (90% limfocytów) były odciągane pipetą, zawieszono w 10 ml RPMI-1640 o temperaturze 4°C i trzymane na lodzie. Zawiesina była następnie wirowana przy 450 g (1800rpm) w 4°C (IEC-PR6) przez 10 minut. Po usunięciu nadszczu, osad był powtórnie przemyty zimną pożywką RPMI-1640. Osad został rozpuszczony w 4 ml 1xPBS (pH 7.40), a 0.2 ml zostało pobrane w celu automatycznego policzenia komórek (Coulter S-plus JR). Liczba komórek została użyta do oszacowania objętości roztworu, w której znajdowało się 1×10^6 limfocytów.

Próbki o odpowiedniej objętości były następnie odwirowywane w uprzednio schłodzonych próbówkach przy 500 g (800 rpm, Eppendorf 5402) przez 10 minut w 4°C. Nasącz był usuwany, zaś osad rozcieńczony w 970 μ l zimnej wody destylowanej. Do tak przygotowanej próby dodawano 30 μ l 30% kwasu sulfosalicylowego (SSA), aby otrzymać końcowe stężenie równe 0.9% SSA i inkubowano przez 15 minut na lodzie. Następnie roztwór był odwirowywany przy 5000 g (8000 rpm, Eppendorf 5402) przez 10 minut w 4°C. Nasącz był oddzielany i przechowywany w -70°C do późniejszych badań GSH.

Analiza GSH. Poziom całkowitego GSH w ekstrakcie 0.9% SSA był oceniany metodą odzyskiwania reduktazy glutationowej Tietze (33) dopasowaną do spektrofotometru Cobas Mira (Roche Diagnostics) (9). W skrócie 210 μ l NADPH (0.3 mmol/l), 30 μ l DTNB (6.0 mmol/l) i 95 μ l próbki, standardu lub 0.9% SSA było odpipetowane do kuwet Cobas Mira. Po 4 minutowej inkubacji w 37°C, dodano 15 μ l reduktazy glutationowej (1.0 U/100 μ l). Reakcja rejestrowana była co 24 sekundy przez 12 minut. W podanych powyżej warunkach odczyt jest liniowy dla stężeń GSH pomiędzy 0.5 a 5 μ mol/l. Instrument tworzy krzywe kalibracyjne poprzez oznaczenie znanego poziomu GSH w standardzie. Z tak przygotowanej krzywej oznaczają się poziom badanego GSH. Odtwarzalność GSH w tych stężeniach wynosi <2% (wewnątrzgrupowy test współczynnika zmienności). Laboratoryjna kontrola wartości średniej (n=7) wyniosła 1.31 μ mol/ 10^6 limfocytów, wahając się od 0.69 do 2.18 μ mol/ 10^6 limfocytów.

Analiza danych. Analizę statystyczną wykonano przy użyciu programu Statistica 5.1 w programie Windows (Statsoft). Wyniki wyrażone zostały jako średnie \pm SE. Dane wyjściowe grup były porównane przy pomocy nie sparowanego testu-t. Wartości różniące się od danych początkowych oszacowane zostały w sparowanym teście-t, a różnice pomiędzy grupami w nie sparowanym teście-t. Jako wartość P znaczącą statystycznie przyjęto $P < 0.05$.

WYNIKI

W wartościach początkowych nie było znaczących różnic w wieku, wzroście, wadze, procencie wagi idealnej czy w procentowej zawartości tłuszczu (Tabela 1). Moc szczytowa jak i 30-sekundowy wysiłek kończyn dolnych nie różniły się znacząco w punkcie początkowym, tak samo różnic nie zaobserwowano w przypadku poziomu limfocytarnego GSH i procentu czasu spędzonego aktywnie (Tabela 2).

Jeden pacjent z grupy placebo został wykreślony z badania z powodu bólów głowy odczuwanych przez pierwsze parę tygodni. Jeden pacjent z grupy przyjmującej Immunocal uzyskał wyniki ćwiczeń technicznie nie do przyjęcia. Przedstawione wyniki obejmują 18 pozostałych pacjentów. Grupa przyjmująca Immunocal wykazała znaczący wzrost w obu parametrach, wydolności mięśniowej i poziomie limfocytarnego GSH. W grupie kontrolnej nie zaobserwowano takich różnic. Różnice zaobserwowane pomiędzy grupami były znaczące

statystycznie w przypadku wszystkich parametrów (Tabela 3, Fig. 1). Pacjenci z grupy przyjmującej Immunocal byli bardziej aktywni w porównaniu do wartości początkowych, zaś w grupie kontrolnej nie zaobserwowano różnic. Chociaż waga ciała nie zmieniła się znacząco w obu grupach, to w przypadku pacjentów przyjmujących Immunocal nastąpił spadek procentowej zawartości tłuszczu. Pacjenci z obu grup spożyli ok. 90% swojego suplementu (Immunocal: $91.9 \pm 5.8\%$; placebo $90.6 \pm 11.65\%$).

DYSKUSJA

Wykazaliśmy, że spożywanie Immunocalu w dziennej dawce 20 g powoduje 35.5% wzrost stężenia limfocytarnego GSH w krążeniu. W tym samym czasie pacjenci otrzymujący Immunocal mieli więcej siły do pracy w czasie 30 sekundowego maksymalnego wysiłku. Aminokwasy po przejściu przez cykl γ -glutamylowy mogą być transportowane do komórek. W przypadku glutamylcysteiny to może efektywnie zwiększać poziom komórkowego GSH (2).

Immunocal jest białkiem serwatkowym otrzymywanym z mleka krowiego dzięki zastrzeżonej łagodnej technice wykorzystującej mikrofiltrację i pasteryzację w niskich temperaturach. Białko serwatkowe zbudowane jest między innymi z albuminy, laktoferyny i alfa-laktalbuminy bogatych w reszty cystynowe (utleniona forma cysteiny). Albumina oraz laktoferyna są także bogate w glutamylcystynę, łatwo transportowaną do komórek, stanowiąc zatem łatwo dostępny składnik biosyntezy GSH (4, 5). Immunocal zawiera 2.5% cystyny w porównaniu z 0.3% w przypadku kazeiny.

Jako znacznika poziomu tkankowego GSH wykorzystaliśmy stężenie limfocytarnego GSH, opierając się na badaniach wykonanych na zwierzętach. Doświadczenia te sugerowały, że poziom limfocytarnego GSH może odzwierciedlać poziom tkankowy w odpowiedzi na kwas L-2-oksotiazolidyno-4-karboksylowy, prekursor cysteiny oraz na butioninosylfoksaminy, inhibitor pierwszego etapu syntezy GSH, syntezy γ -glutamylcysteiny. Zaobserwowano także wzrost poziomu cysteiny w osoczu, jak i działanie uboczne (24). Pomimo iż niektórzy pacjenci przyjmujący Immunocal uskarżali się na wzdęcia i sporadyczne uczucie mdłości nie zaobserwowano innych dolegliwości. Dlatego też badania te jako pierwsze pokazują dobrą tolerancję doustnego suplementu mogącego efektywnie podnosić poziom tkankowego GSH.

Najważniejsze jednak są obserwacje dotyczące działania Immunocalu. Pacjenci przyjmujący Immunocal mieli więcej siły i byli w stanie wykonać większą pracę w czasie 30 sekundowego sprintu wymagającego całkowitego wysiłku. Poprzednio wykazaliśmy, że wynik 30 sekundowej izokinetycznej pracy mięśni kończyn dolnych jest znaczącym czynnikiem odnoszącym się do wzrastającego stopniowo wysiłku fizycznego wykonywanego przez pacjentów chorych na mukowiscydozę (20) lub po przeszczepie płuc (22), niezależnie od upośledzenia funkcjonowania płuc. Podobne rezultaty uzyskano w przypadku osób zdrowych (23). Zdolność do wykonywania wysiłku fizycznego ma znaczący wpływ na jakość życia (10). Dlatego też, nasze wyniki pokazują, że polepszenie sprawności fizycznej pacjentów, mierzone w naszym laboratorium, może mieć bezpośredni wpływ na zdolności funkcjonalne. Dlatego też, bardzo interesujące jest to, że pacjenci przyjmujący Immunocal spędzali więcej czasu będąc aktywnymi w porównaniu do wartości początkowych.

Stres oksydacyjny jest związany z energicznymi skurczami mięśni prowadzącymi do zmęczenia (8, 13, 15, 16, 28, 31). Reid i współpracownicy (26), jak i Sen (27) zwrócili uwagę na to, że chociaż biochemiczne parametry stresu oksydacyjnego mogą być zmieniane poprzez suplementację, to ciężko było wykazać poprawę w działaniu mięśni. Zwierzęce modele zmęczenia mięśniowego wykazały korzystny efekt podawania N-

acetylocysteiny (29, 32). Reid wraz ze współpracownikami jako pierwsi wykazali, że dożylnie podanie N-acetylocysteiny może zwiększać siłę ludzkiego mięśnia piszczelowego przedniego (*musculus tibialis anterior*) w odpowiedzi na stymulację elektryczną o niskiej częstotliwości. Ostatnie badania wykazały, że czas do wykonywania czynności (utrzymanie 80% maksymalnego ciśnienia pojawiającego się w poprzek przepony podczas oddychania z obciążeniem) w przypadku zdrowych ludzi może być wydłużony dzięki podaniu dożylnie N-acetylocysteiny (34).

N-acetylocysteina może przyczyniać się do magazynowania odpowiednich ilości GSH na drodze kilku mechanizmów, między innymi zapewniając cysteinę do biosyntezy GSH i bezpośrednio usuwając reaktywne cząsteczki tlenu. Ponieważ N-acetylocysteina nie przechodzi przez omięśną ani nie zwiększa stężenia całkowitego GSH we krwi, ale zmniejsza utlenianie GSH we krwi po wysiłku fizycznym (28), prawdopodobne jest, że wyniki otrzymane przez Reid i współpracowników (26) były efektem usuwania wolnych rodników przez N-acetylocysteinę. Zapobieganie zaburzeniom czynności mięśni spowodowanych rodnikami przez usuwanie wolnych rodników wyjaśnia w większości wyniki uzyskane z ostatnich doświadczeniach nad zmęczeniem przepony u zwierząt (32). Jednakże inne potencjalne efekty, takie jak lepszy przepływ krwi lub polepszenie czynności oddechowej zarządzanej przez centralny układ oddechowy, może mieć także wpływ (12). Niestety N-acetylocysteina jest także związana z kilkoma efektami ubocznymi, które utrudniają użycie jej jako środka wpływającego pozytywnie. Między innymi zaobserwowano zaburzenia widzenia, zaburzenia nastroju oraz problemy żołądkowo-jelitowe. W badaniach przeprowadzonych przez Travaline i współpracowników (34) czterem pacjentom podawano diphenhydraminę i rantydynę aby zapobiec występującym efektom ubocznym.

Dokładny mechanizm pozytywnego działania Immunocalu na sprawność mięśniową nie jest znany. Najbardziej oczywistym mechanizmem było by zwiększenie poziomu wewnątrzkomórkowego glutationu prowadzące do zmniejszenia zaburzeń funkcjonowania mięśni spowodowanych stresem oksydacyjnym. Nasi pacjenci wydłużyli czas spędzany na umiarkowanym lub zwiększonym wysiłku, dlatego też główny efekt prowadzący do zwiększenia aktywności polepszenia regulacji nerwowej funkcjonowania mięśni nie może być wykluczony. Wielu z przebadanych pacjentów mówiło o tym, że czuli się jakby mieli więcej energii. Odczucie to mogło mieć związek z głównym mechanizmem, ale także ze zmniejszeniem uszkodzenia mięśni przez ochronę przeciw wolnym rodnikom, jako że bóle mięśniowe jak i przepuszczalność omięsnej jest związana ze stresem oksydacyjnym (30). Nasz formularz dotyczący aktywności informował o czasie spędzonym aktywnie, ale nie dostarczał wiadomości na temat rodzaju aktywności. Jednakże, ta wzmożona aktywność mogła prowadzić do efektu treningowego.

Pacjenci przyjmujący Immunocal pomimo utrzymywania masy ciała mieli zmniejszony procent tkanki tłuszczowej. Pomimo że wyniki te brzmią aż za dobrze, by być prawdziwe, w przypadku pacjentów zdrowych stężenie cysteiny i glutaminy w osoczu było prognostyczne w stosunku do zmian w szczupłości masy ciała (17). U pacjentów z zaburzeniami wagi, o nadmiernym wychudzeniu, spowodowanymi chorobą nowotworową lub zakażeniem wirusem HIV, wartości te są redukowane wcześniej, poprzedzając jawne wyniszczenie (7, 11).

Biochemiczne zmiany obserwowane w zaburzeniach wagi przyczyniły się do sformułowania koncepcji syndromu niskiego poziomu cysteiny/cystyny-glutaminy. W modelu tym katabolizm wątrobowy cysteiny/cystyny w siarczany prowadzi do nagromadzenia jonów wodorowych, które usuwają dwuwęglany przez buforowanie. Dwuwęglany są niezbędne w pierwszym etapie hamującym tempo przemiany amoniaku w mocznik. Usunięcie dwuwęglanów promuje przemianę amoniaku w glutaminę, zachowując azot w puli

aminokwasów. Nasze wyniki zgadzają się z tym modelem metabolizmu cysteiny. Zmiana w stanie redox powodująca wzrost magazynowania glutationu może także powodować zmiany w ekspresji genów odpowiadających za wzrost mięśni (6). To sugeruje, że suplementacja donorem cysteiny może pozytywnie wpływać na budowę ciała poprzez zwiększanie masy mięśniowej. Nie wierzymy, że obserwowane zmiany w budowie ciała jak i funkcjonowania mięśni były związane tylko ze zwiększeniem poboru białek, jako że takie zmiany nie były obserwowane w grupie przyjmującej kazeinę.

Podsumowując, podawanie zdrowym młodym ludziom doustnego suplementu na bazie serwatki zwiększa poziom limfocytarnego GSH, jednocześnie zwiększając wydolność mięśniową. Oprócz potencjału pozytywnie wpływającego na aktywność taka suplementacja może mieć indywidualny korzystny wpływ na pacjentów ze stałym stanem zapalnym.

Tabela 1. Charakterystyka pacjentów

	Grupa przyjmująca Immunocal	Grupa kontrolna
Wiek (lata)	23.7 ± 1.20	23.7 ± 1.24
Wzrost (cm)	167.7 ± 2.75	169.0 ± 2.80
Waga (kg)	69.1 ± 7.02	65.1 ± 2.66
Procent wagi idealnej (%)	106.0 ± 7.03	101.9 ± 3.03
Procent tkanki tłuszczowej (%)	21.9 ± 2.13	18.6 ± 2.08

Wartości podane są jako średnie ± SE; n = 9 pacjentów w grupie. Grupa suplementowana jak i kontrolna otrzymywały 20g/dzień Immunocal lub kazeiny jako placebo.

Tabela 2. Parametry wyjściowe

	Grupa przyjmująca Immunocal	Grupa kontrolna
--	-----------------------------	-----------------

Moc szczytowa, % przewidywanej	96.4 ± 6.73	91.4 ± 2.64
30 – sek. praca, % przewidywanej	81.3 ± 6.22	79.0 ± 3.27
GSH, μmol/10 ⁶ limfocytów	1.19 ± 0.10	1.45 ± 0.15
Czas trwania aktywności, %	49.7 ± 2.68	62.3 ± 5.78

Wartości są podane jako średnie ± SE; n = 9 pacjentów w grupie.

Tabela 3. Procentowa zmiana w porównaniu z wartościami wyjściowymi

	Grupa przyjmująca Immunocal	Grupa kontrolna
Waga	-1.0 ± 0.57	0.2 ± 0.94
Procent tkanki tłuszczowej	-4.8 ± 1.96*†	5.1 ± 3.26
Moc szczytowa	13.3 ± 3.48*†	1.6 ± 3.00
30 – sek. praca	12.7 ± 3.66*†	0.9 ± 3.10
Limfocytarne GSH	35.5 ± 11.04*†	-0.9 ± 9.64
Czas spędzony na aktywności fizycznej	13.7 ± 5.59	4.7 ± 13.86

* statystycznie znacząca różnica w stosunku do wartości początkowej: procent tkanki tłuszczowej, P<0.05; moc szczytowa, P<0.01; 30-sek. praca, P<0.02; limfocytarne GSH, P<0.01; czas spędzony na wzmożonej aktywności P<0.01; czas spędzony na aktywności, P<0.04.

† statystyczna różnica w stosunku do kontroli: procent tkanki tłuszczowej, P<0.02; moc szczytowa, P<0.02; 30-sek. praca, P<0.02; limfocytarne GSH, P<0.02.

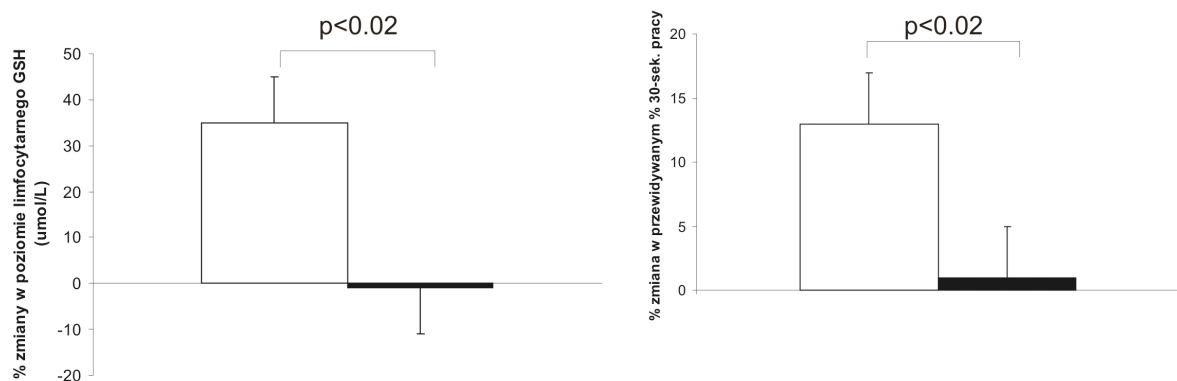


Fig. 1. Procentowa zmiana w porównaniu do wartości początkowych poziomu limfocytarnego GSH (lewa strona) i przewidywanej wydolności kończyny dolnej w 30 – sekundowym teście (prawa strona) po Immunocal (pusty słupek) i w grupie kontrolnej (słupek wypełniony). Słupki błędów, SE. Wyniki grupy przyjmującej Immunocal były inne (znaczące statystycznie) od wartości początkowej (P< 0.01) i od grupy kontrolnej (P < 0.02) dla poziomu limfocytarnego GSH. Wyniki grupy przyjmującej Immunocal były inne (znaczące statystycznie) od wartości początkowej (P< 0.02) i od grupy kontrolnej (P < 0.02) dla testu 30 sekundowej pracy.

Badania te były finansowane po części przez Kanadyjską Fundację na Rzecz Chorych na Mukowiscydozę i Immunotec Research, Inc. L. C. Lands jest głównym badaczem w FRSQ (Fonds de la Recherche en Sante du Quebec).

Adres do korespondencji: L. C. Lands, Respiratory Medicine, Montreal Children's Hospital, RM. D-380, 2300 Tupper St., Montreal, Quebec, Canada H3H 1P3 (E-mail: larry.lands@muhc.mcgill.ca).

Otrzymano 28 października 1998 roku; zaakceptowano w ostatecznej formie 7 czerwca 1999 roku.

LITERATURA

1. **Anderson, M. E.** Glutathione and glutathione delivery compounds. *Adv. Pharmacol.* 38: 65-78, 1997.
2. **Anderson, M. E., and A. Meiser.** Transport and direct utilization of gamma-glutamylcyst(e)ine for glutathione synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 707-711, 1983.
3. **Boucher, G. P., L. C. Lands, J. A. Hay, and L. Hornby.** Activity levels and the relationship to lung function and nutritional status in children with cystic fibrosis. *Am. J. Phys. Med. Rehab.* 76: 311-315, 1997.
4. **Bounous, G., G. Batist, and P. Gold.** Immunoenhancing property of dietary whey protein in mice: role of glutathione. *Clin. Invest. Med.* 12: 154-161, 1989.
5. **Bounous, G., and P. Gold.** The biological activity of undenatured dietary whey proteins: role of glutathione. *Clin. Invest. Med.* 14: 296-309, 1991.
6. **Burdon, R. H.** Superoxide and hydrogen peroxide in relation to mammalian cell proliferation. *Free Radic. Biol. Med.* 18: 775-794, 1995.
7. **Droge, W., and E. Holm.** Role of cysteine and glutathione in HIV infection and other diseases associated with muscle wasting and immunological dysfunction. *FASEB J.* 11: 1077-1089, 1997.
8. **Gohill, K., C. Viguie, W. C. Stanley, G. A. Brooks, and L. Packer.** Blood glutathione oxidation during human exercise. *J. Appl. Physiol.* 64: 115-119, 1988.
9. **Grey, V. L., V. G. Kramer, and L. C. Lands.** The determination of oxidized and reduced glutathione in circulating lymphocytes using the Cobs Mira S (Abstract). *Clin. Biochem.* 31: 301, 1998.
10. **Guyatt, G. H., L. B. Berman, M. Townsend, S. O. Pugsley, and L. W. Chambers.** A measure of quality of life for clinical trials in chronic lung disease. *Thorax* 42: 773-778, 1987.
11. **Hack, V., D. Schmid, R. Breikreutz, C. Stahl-Henning, P. Drings, R. Kinscherf, F. Taut, E. Holm, and W. Droge.** Cystine levels, cystine flux, and protein catabolism in cancer cachexia. HIV/SIV infection, and senescence. *FASEB J.* 11: 84-92, 1997.
12. **Harrison, P. M., J. A. Wendon, A. E. Gimson, G. J. Alexander, and R. Williams.** Improvement by acetylcysteine of hemodynamics and oxygen transport in fulminant hepatic failure. *N. Engl. J. Med.* 324: 1852-1857, 1991.
13. **Jackson, M. J., R. H. T. Edwards, and M. C. H. Symons.** Electron spin-resonance studies of intact mammalian skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Acta* 847: 185-190, 1985.
14. **Jutte, M., S. Hendricks, D. Kroetsch, H. Nielsen, P. Soucy, and P. Verdier.** *Guide for Anthropometric Measurements of Canadian Adults.* Ottawa, ON: Health-Welfare Canada, 1992.

15. **Ji, L. L., A. Katz, R. Fu, M. Griffiths, and M. Spencer.** Blood glutathione status during exercise: effect of carbohydrate supplementation. *J. Appl. Physiol.* 74: 788-792, 1993.
16. **Kander, M. M., N. A. Nolte, and J. O. Holloszy.** Effect of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *J. Appl. Physiol.* 74: 965-969, 1993.
17. **Kinscherf, R., V. Hack, T. Fischbach, B. Friedmann, C. Weiss, L. Edler, P. Bartsch, and W. Droge.** Low plasma glutamine in combination with high glutamine levels indicate risk for loss of body cell mass in healthy individuals: the effect of N-acetyl-cysteine. *J. Mol. Med.* 74: 393-400, 1996.
18. **Koch, S. M., A. A. Leis, D. S. Stokic, F. A. Khawli, and M. B. Reid.** Side effect of intravenous N-acetylcysteine (Abstract). *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 149: A321, 1994.
19. **Lands, L. C., C. Gordon, O. Bar-Or, C. J. Blimkie, R. M. Hanning, N. L. Jones, L. A. Moss, C. E. Webber, W. M. Wilson, and G. J. Heigenhauser.** Comparison of three techniques for body composition analysis in cystic fibrosis. *J. Appl. Physiol.* 75: 162-166, 1993.
20. **Lands, L. C., G. J. Heigenhauser, and N. L. Jones.** Analysis of factors limiting maximal performance in cystic fibrosis. *Clin. Sci.* 83: 391-397, 1992.
21. **Lands, L. C., L. Hornby, G. Desrochers, T. Iler, and G. J. Heigenhauser.** A simple isokinetic cycle for measurement of leg muscle function. *J. Appl. Physiol.* 77: 2506-2510, 1994.
22. **Lands, L. C., A. A. Smountas, G. Messiano, L. Brosseau, H. Shennib, M. Charbonneau, and R. Gauthier.** Maximal exercise capacity and peripheral skeletal muscle function following lung transplantation. *J. Heart Lung. Transplant.* 18: 113-120, 1999.
23. **Makedies, L., G. J. Heigenhauser, N. McCartney, and N. L. Jones.** Maximal short term exercise capacity in healthy subjects aged 15-70 years. *Clin. Sci. Lond.* 69:197-205,1996.
24. **Porta, P., S. Aebi, K. Summer, and B. H. Lauterburg.** L-2-oxothiazolidine-4-carboxylic acid, a cysteine prodrug: pharmacokinetics and effects on thiols in plasma and lymphocytes in humans. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257: 331-334, 1991.
25. **Putman, C. T., N. L. Jones, L. C. Lands, T. M. Bragg, M. G. Hollidge-Horvat, and G. J. Heigenhauser.** Skeletal muscle pyruvate dehydrogenase activity during maximal exercise in humans. *Am. J. Physiol.* 269 (Endocrinol. Metab. 32): E458-E68, 1995.
26. **Reid, M. B., D. S. Stokic, S. M. Koch, F. A. Khawli, and A. A. Leis.** N-acetylcysteine inhibits muscle fatigue in humans. *J. Clin. Invest.* 94: 2468-2474, 1994.
27. **Sen, C. K.** Oxidants and antioxidants in exercise. *J. Appl. Physiol.* 79: 675-686, 1995.
28. **Sen, C. K., M. Atalay, and O. Hanninen.** Exercise-induced oxidative stress: glutathione supplementation and deficiency. *J. Appl. Physiol.* 77: 2177-2187, 1994.
29. **Shindoh, C., A. DiMarco, A. Thomas, P. Manubay, and G. Supinski.** Effect of N-acetylcysteine on diaphragm fatigue. *J. Appl. Physiol.* 68:2107-2113, 1990.
30. **Sjödin, B., Y. Hellsten Westing, and F. S. Apple.** Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Med.* 10: 236-254, 1990.
31. **Sumida, S., K. Tanaka, H. Kitao, and F. Nakadomo.** Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation. *Int. J. Biochem.* 21: 835-838, 1989.
32. **Supinski, G. S., D. Stofan, R. Ciuto, and A. DiMarco.** N-acetylcysteine administration alters the response to inspiratory loading to oxygen-supplemented rats. *J. Appl. Physiol.* 82: 1119-1125, 1997.

33. **Tietze, F.** Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal. Biochem.* 27: 502-522, 1969.
34. **Traveline, J. M., S. Sudarshan, B. G. Roy, F. Cordova, V. Leyenson, and G. J. Criner.** Effect of N-acetylcysteine on human diaphragm strength and fatigability. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 156: 1567-1571, 1997.
35. **Trump, M. E., G. J. Heigenhauser, C. T. Putman, and L. L. Spriet.** Importance of muscle phosphocreatine during intermitment maximal cycling. *J. Appl. Physiol.* 80: 15-74-1580, 1996.