

## اثر تعامل شنای استقامتی و مکمل ویتامین C بر استرس اکسیداتیو رت های نر ویستار

لیلا وصالی اکبر پور<sup>۱</sup>، محمدعلی سمواتی شریف<sup>۱\*</sup>، علی حیدریان پور<sup>۱</sup>

۱) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بو علی سینا، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۱۰

تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۱۴

## چکیده

**مقدمه:** اکثر پژوهش ها، کاهش استرس اکسیداتیو و صدمات ناشی از آن را در پی استفاده از مکمل های آنتی اکسیدانی و یا فعالیت بدنی گزارش داده اند. بنا بر این هدف از پژوهش حاضر تعیین اثر تعامل شنای استقامت و مکمل ویتامین C، بر شاخص های استرس اکسیداتیو در موش های نر صحرایی بود.

**مواد و روش ها:** تعداد ۲۴ سر موش نر نژاد ویستار در محدوده ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم به طور تصادفی به چهار گروه شش تایی: ۱-گروه تمرین (T)، ۲-گروه تمرین با مصرف مکمل ویتامین C (T&VC)، ۳-گروه کنترل (C)، ۴-گروه کنترل با مصرف مکمل ویتامین C (C&VC) تقسیم شدند. گروه های تمرینی به مدت ده هفته، پنج روز در هفته و هر جلسه یک ساعت شنا کردند. مکمل ویتامین C (۱۰۰ mg/kg)، یک هفته پیش از شروع پروتکل تمرینی آغاز و تا پایان هفته دهم ادامه داشت. یک روز پس از اتمام پروتکل تمرینی، جهت برآورد میزان متغیرهای مورد نظر، مالون دی آلدئید (MDA)، کاتالاز (CAT)، اسید اوریک (UA) و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC)، نمونه گیری خونی از سیاهرگ زیرین موش ها انجام شد. میزان اسید اوریک پلاسمایی، بر اساس اکسیداسیون اسید اوریک توسط آنزیم Uricase و CAT توسط دستگاه اسپکتوفتومتری و میزان تجزیه H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و TAC توسط آزمون فرپ و احیای یون های فریک آنالیز شدند. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS vol.20 و آزمون ANOVA یک طرفه و تست تعقیبی توکی با سطح معناداری (P<0.05) آنالیز شدند.

**یافته های پژوهش:** نتایج نشان داد که گروه T&VC کاهش معنی داری در سطح MDA، در مقایسه با گروه C داشتند (P=0.008)، هم چنین گروه C&VC، افزایش معناداری در سطح TAC در مقایسه با گروه T نشان دادند (P=0.01). اما تفاوتی در سطوح اسید اوریک و کاتالاز مشاهده نشد.

**بحث و نتیجه گیری:** در مجموع به نظر می رسد مصرف ویتامین C می تواند مانع از پراکسیداسیون لیپید در آزمودنی ها شده و محتوای TAC آن ها را نیز افزایش دهد در حالی که بر غلظت سرمی آنتی اکسیدان های اسید اوریک و کاتالاز، بی تاثیر است.

## واژه های کلیدی: شنای استقامتی، استرس اکسیداتیو، رت، ویتامین C

\*نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بو علی سینا، همدان، ایران

Email: m-samavati@basu.ac.ir

## مقدمه

اکسیژن برای تمامی واکنش های هوازی حیاتی است. اثرات مخرب اکسیژن، با تولید رادیکال های آزاد اکسیژن ارتباط دارد (۱). انرژی مورد نیاز زیستی از طریق فرآیند متابولیسم هوازی فراهم می شود، اما در کنار این فرآیند متابولیکی، محصولات مخرب فرعی خطرناکی نیز شامل رادیکال های آزاد تولید می شوند. رادیکال آزاد، در خارجی ترین لایه الکترونی خود، یک یا چند الکترون جفت نشده (منفرد) دارند، به همین دلیل بسیار فعال و واکنش پذیر بوده و در واکنش با مولکول های دیگر، الکترون دریافت می کنند تا به حالت پایدار برسند (۲). در حین تمرین ورزشی متناسب با زمان و مسافت اجرا، اکسیژن ۱۰ تا ۲۰ برابر افزایش می یابد و جریان اکسیژن به سمت عضلات فعال تا ۱۰۰ برابر و متابولیسم آن ها تا ۲۰۰ برابر افزایش می یابد (۳). بنا بر این، این انتظار وجود دارد که تولید گونه های رادیکالی در حین فعالیت ورزشی نسبت به استراحت افزایش یابد. عمده ترین گونه های رادیکالی عبارتند از: الف) گونه های فعال اکسیژن (ROS)، مانند سوپراکسید ( $O_2^-$ )، پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ )، رادیکال هیدروکسیل (OH)، هایپروکلریت (HOCl) و اکسیژن منفرد ( $O_2^-$ ). ب) گونه های فعال نیتروژن (RNS)، مانند نیتریک اکساید (NO)، پراکسی نیتريت ( $OOONO^-$ ). ج) گونه های سولفور فعال (RS) (۴).

استرس اکسیداتیو همان غلبه رادیکال های آزاد بر دفاع آنتی اکسیدانی بدن ما است و به نوعی به عنوان عامل برهم زننده تعادل میان تولید رادیکال های آزاد و دفاع های آنتی اکسیدانی تعریف می شود (۵). به طور کلی دفاع آنتی اکسیدانی به دو دسته آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می شود. اسید اوریک یکی از آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی است و عملکرد آن به عنوان پاک کننده مهم رادیکال های آزاد موجود در پلاسما مورد تاکید قرار گرفته است (۲). کاتالاز (Catalase) CAT) از آنزیم های آنتی اکسیدانی محسوب می شود که می تواند از طریق تجزیه رادیکال های آزاد و کاهش خطر تشکیل رادیکال هیدروکسیل، اکسیدان ها را خنثی کند (۶). مالون دی آلدئید (Malondyaldehyde MDA) از محصولات عمده

تخریب اسیدهای چرب اشباع نشده می باشد، که به عنوان یکی از شاخص های آسیب اکسایشی به لیپیدها از جمله غشای فسفولیپیدی در نظر گرفته می شود (۷). ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (Total Antioxidant Capacity TAC) نشان دهنده مجموع آنتی اکسیدان های بدن است. طی فعالیت های استقامتی و شدید TAC کاهش می یابد که نشان دهنده نقش تضعیف کننده چنین فعالیت هایی بر سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی است (۸). ویتامین C (اسید اسکوربیک) مهم ترین آنتی اکسیدان محلول در آب است که در بخش سیتوزول و مایع خارج سلولی قرار دارد. این ویتامین تمیزکننده قوی  $H_2O_2$ ، ROS و OH تشکیل شده در محیط های آبی مانند پلاسما است (۹). مصرف ویتامین C می تواند از طریق مهار رادیکال های آزاد باعث کاهش پراکسیداسیون چربی شود. بهره مندی از دفاع ضد اکسایشی ناشی از فعالیت بدنی و مصرف مکمل ویتامین C می تواند مانع آسیب ناشی از استرس اکسایشی بر بافت های حیاتی بدن شود (۱۰). تحقیقات نشان داده اند که تحت شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک گوناگون مانند ورزش شدید، تمرین در ارتفاع، عدم تحرک و بسیاری از بیماری ها، مواد ضد اکسایشی درون زاد قادر به کنترل آسیب های ناشی از رادیکال های آزاد نمی باشند. در چنین مواقعی نقش مواد آنتی اکسیدانی موجود در مواد غذایی از قبیل ویتامین C، E، A و ... اهمیت می یابد (۱۱). اما در واقع استفاده از مکمل های آنتی اکسیدانی، زمانی مفید خواهد بود که این مواد سهم کمی را در رژیم غذایی داشته باشند (۱۲). در مقابل تایید اثرات سودمند فعالیت جسمانی بر سلامتی، فعالیت شدید ورزشی، به علت افزایش متابولیسم و اکسیژن مصرفی بالا، منجر به تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) شده و مجموع آنتی اکسیدان های کل (TAC) بدن را کاهش می دهد (۱۳). در واقع یک تمرین استقامتی با حجم و شدت بالا به دلایل افزایش دمای مرکزی، افزایش تولید اسید لاکتیک، افزایش تولید کاتکولامین ها، نقص در زنجیره انتقال الکترون، افزایش غلظت کلسیم درون سلولی و افزایش تولید نیتریک اکساید، منجر به تولید ROS می شود (۱۴).

حین ورزش شدید به دلیل افزایش ۸ تا ۱۰ برابری مصرف اکسیژن، ممکن است ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی بدن تضعیف گردد و بدن قادر به خنثی نمودن گونه های فعال اکسیژن نباشد. علاوه بر آن، مدت و شدت فعالیت نیز بر تولیدات گونه های رادیکالی موثر می باشد. بنا بر این با توجه به وجود تفاوت بین تمرین شنا و دیگر ورزش های هوازی، ممکن است نتایج متفاوتی ناشی از استرس اکسیداتیو حین شنای استقامتی مشاهده شود، و از آن جایی که پاسخ آنتی اکسیدانی بدن پس از ده هفته فعالیت استقامتی ورزش شنا در تعامل با مکمل ویتامین C چندان بررسی نشده است، لذا هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی اثر تعامل مصرف مکمل ویتامین C و شنای استقامتی، بر سطوح آنتی اکسیدانی کاتالاز، اسید اوریک، میزان پراکسیداسیون لیپید و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، می باشد.

#### مواد و روش ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی کاربردی بود که در سال ۱۳۹۳ در دانشکده علوم پزشکی همدان انجام شد. آزمودنی های این پژوهش را تعداد ۲۴ سر رت نژاد ویستار از جنس نر در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم را تشکیل می دادند. موش ها از مرکز حیوانات دانشگاه علوم پزشکی همدان تهیه شدند. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و میانگین درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی گراد و رطوبت ۲۰ تا ۳۰ درصد نگهداری شدند. آب و غذا به صورت آزادانه در اختیار آن ها قرار داده شد.

گروه های آزمایشی: موش ها به طور تصادفی و بر اساس میانگین وزن هر قفس، به چهار گروه شش تایی تقسیم شدند (۲۲): ۱- گروه کنترل، ۲- گروه کنترل همراه مصرف مکمل ویتامین C، ۳- گروه تمرین با شنای استقامت، ۴- گروه تمرین با شنای استقامت همراه مصرف مکمل ویتامین C. هر سه سر موش به صورت جداگانه در قفس نگه داری شدند. گروه های ۳ و ۴ تحت شرایط تمرین شنای استقامت به مدت ده هفته قرار گرفتند. در این مدت گروه های کنترل (گروه های ۱ و ۲) تحت شرایط محیط استاندارد آزمایشگاه (بدون فعالیت) قرار داشتند. گروه های ۲ و ۴

از طرفی گزارشاتی دال بر استفاده از مکمل های مواد آنتی اکسیدانی که مانع آسیب ناشی از استرس اکسایشی وجود دارد. از جمله این که، جوپتا و همکاران (۲۰۰۹)، پس از مصرف دو ماه مکمل ویتامین C (۵۰۰ mg/d) و اجرای دوی وامانده ساز، افزایش معناداری در غلظت CAT سرمی و کاهش معناداری در محتوای MDA به نسبت به قبل از دریافت مکمل نشان دادند (۱۵). غلامی و همکاران (۱۳۹۳)، آثار مثبت مصرف مکمل ویتامین C (کاهش معنی دار MDA و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاسما) را در ۲۰ مرد غیر ورزشکار که چهار هفته، با ۸۰ درصد  $VO_{2max}$  به مدت ۴۵ دقیقه بر روی تردمیل دویدند، نشان دادند (۱۶). جوراسچک و همکاران (۲۰۱۱) پس از تجویز دوز متوسطی از ویتامین C (۵۰۰ mg/d) کاهش معناداری در سطوح سرم اسید اوریک موتورسواران مشاهده کردند (۱۷). در پژوهشی، ساری صراف و همکاران (۱۳۹۲) تاثیر مکمل سازی ویتامین E و C را بر کاهش محتوای پلاسمایی MDA و CAT و افزایش TAC پسران اسکیت باز سرعتی را گزارش کردند (۱۸). بابایی و همکاران (۱۳۸۸)، مردان غیر ورزشکار را به سه گروه: ۱- دارونما، ۲- ۵۰۰ میلی گرم ویتامین C و ۳- ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C، تقسیم کردند. پس از اجرای ۳۰ دقیقه تمرین با ۷۵ درصد  $VO_{2max}$  دریافتند، گروه های ۲ و ۳ کاهش معناداری در سطح MDA پلاسمایی و افزایش معناداری در TAC سرمی نسبت به گروه دارونما داشتند (۱۹).

فعالیت های بدنی به لحاظ تاثیر بر سیستم عضلانی-اسکلتی، به دو گروه فعالیت متضمن تحمل وزن (ژیمناستیک، فوتبال، وزنه برداری و...)، و فعالیت بدون تحمل وزن (دوچرخه سواری، شنا و قایقرانی)، تقسیم می شوند. در تمرینات تحمل وزن، فرد در تعامل مستقیم با نیروی جاذبه بوده و انجام حرکات عمودی، فشار بیشتری بر اسکلت و عضلات وارد می آورد (۲۰). در صورتی که آب به عنوان محیطی است که موجب درگیری و فعالیت گروه های عضلانی بزرگ تر، جهت غلبه بر مقاومت می شود. هم چنین ورزش های آبی بر خلاف سایر ورزش ها موجب درگیری هر دوی اندام فوقانی و تحتانی با دامنه حرکتی مناسب می گردد (۲۱).

طبق برنامه تنظیمی از مکمل ویتامین C استفاده می کردند.

پروتکل تمرینی و مشخصات استخر: یک هفته تمرین شنا به منظور سازگاری موش ها و خو گرفتن با محیط شنا در نظر گرفته شد. بدین صورت که جلسه اول با ۲۰ دقیقه شنا شروع شد، سپس جلسه دوم ۴۰ دقیقه و جلسه سوم ۶۰ دقیقه شنا کردند. برنامه تمرینی شنای استقامت، شامل ده هفته، پنج روز در هفته و یک ساعت در هر جلسه بود (۲۳). استخر شنای موش ها شامل یک وان برای هر گروه تمرینی از جنس پلاستیک به ابعاد ۶۰×۶۰×۱۰ سانتی متر بود. درجه حرارت آب استخر در محدوده ۳۰ تا ۳۲ درجه سانتی گراد تعیین شد.

**دریافت مکمل:** مکمل ویتامین C به صورت پودر از شرکت سیگما خریداری شد، و با نسبت ۱۰۰ mg/kg، در ۱۰۰ ml/kg آب، محلول می شد. تهیه محلول مکمل ویتامین C به صورت روزانه تهیه و هم زمان با شروع برنامه سازگاری تمرینی آغاز شد، و تا پایان هفته دهم ادامه یافت (۲۴). یک روز پس از پایان پروتکل، موش ها توسط گاز «پنتوباریتال سدیم» (۵۰-۶۰ mg/kg) بیهوش شدند. جهت برآورد میزان شاخص های مورد نظر (اسید اوریک، CAT و MDA و TAC)، نمونه گیری خونی از ورید اجوف تحتانی موش ها انجام شد، سپس سرم توسط سانتریفیوژ جدا گردید. سرم ها درون میکروتیوب ریخته شد و تا پایان کار در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

**آنالیز شیمیایی:** روش آنالیز شیمیایی به شرح زیر بود: الف) اندازه گیری میزان اسیداوریک پلاسمایی، بر اساس اکسیداسیون اسید اوریک توسط آنزیم Uricase و تبدیل آن به آلانتوئین، دی اکسیدکربن و آب اکسیژنه است. آب اکسیژنه در مجاورت پراکسیداز-۴ آمینو آنتی پیرین با Dihydrobutyrate sodium (DHBS)، ایجاد کمپلکس رنگی کینونیمین می کند که شدت رنگ متناسب با مقدار اسیداوریک موجود در نمونه بود، و در طول موج ۵۰۰ نانومتر و دمای ۲۵ تا ۳۷ درجه سانتیگراد، اندازه گیری شد (۲۵). ب) اندازه گیری میزان سرمی MDA به روش اسپکتوفتومتری بود. اساس این

روش، واکنش تیوباربیتوریک اسید (TBA) Tiobarbituric acid با لیپیدهای پراکسیده می باشد. این اسید، مولکول های لیپیدی پراکسیده را در MDA می شکند و سپس MDA با TBA واکنش می دهد که تولید ماده ای می کند که با روش اسپکتوفتومتری فلورسنت، اندازه گیری می شود (۲۶). ج) سطوح پلاسمایی CAT توسط دستگاه اسپکتوفتومتری بررسی شد. اندازه گیری بر اساس میزان تجزیه  $H_2O_2$  در طول موج ۲۴۰ نانومتر و دمای ۲۰ درجه سانتی گراد انجام گردید (۲۶). د) تعیین ظرفیت ضد اکسایشی تام (TAC) در پلازما از آزمون فرپ استفاده شد. در این روش توانایی پلازما در احیای یون های فریک (آهن سه ظرفیتی) بررسی شد. با احیای یون های فریک و تبدیل آن به یون های فروس (آهن دو ظرفیتی) در pH اسیدی و با حضور معرف های اختصاصی، کمپلکس آبی رنگی ایجاد می شود که در طول موج ۵۹۳ نانومتر و به صورت طیف سنجی قابل اندازه گیری است (۲۵).

**روش آماری:** نتایج مطالعه به صورت Mean±SEM ارائه شد. داده های به دست آمده توسط تست K-S نرمال سازی شدند. برای سنجش فرضیه های پژوهش از One-Way ANOVA و جهت تعیین گروه های متفاوت، از تست تعقیبی Tukey، در سطح معناداری  $\alpha < 0.05$  استفاده شد. عملیات آماری در محیط نرم افزار SPSS vol.20 انجام شد.

### یافته های پژوهش

یافته های این پژوهش نشان داد، پس از اجرای ده هفته تمرین شنای استقامتی به همراه مصرف مکمل ویتامین C، کاهش معناداری ( $P=0.008$ ) در میزان پراکسیداسیون لیپید در گروه تمرین با دریافت مکمل، در مقایسه با گروه کنترل داشت. هم چنین دریافت ده هفته مکمل ویتامین C، در گروه کنترل منجر به افزایش معنادار ( $P=0.01$ ) ظرفیت آنتی اکسیدانی در مقایسه با گروه تمرین گردید. این نتایج در حالی به دست آمد که تغییراتی در سطوح آنزیم های آنتی اکسیدانی، اسیداوریک و کاتالاز مشاهده نگردید (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱. تغییرات سطوح سرمی اسید اوریک، کاتالاز، مالون دی آلدئید و ظرفیت تام آنتی اکسیدان در بین گروه ها

Sig	F	گروه کنترل		گروه تمرین		گروه ها	
		بدون مکمل C	با مکمل C&VC	بدون مکمل T	با مکمل T&VC	M±SEM	U.A
۵۸/۱	۰/۴۹	۳/۹۳±۰/۶۴	۳/۰۶±۰/۴۹	۴/۴۶±۱/۲۱	۳/۴۸±۰/۴۲	M±SEM	U.A
۹۷/۳	۰/۰۷۵	۴۳/۰۳±۰/۵۶	۴۲/۸۸±۶/۱۵	۴۱/۷±۰/۶۷	۴۱/۰۵±۶/۸۱	M±SEM	CAT
۰/۰۰۱*	۱۴/۵۵	۱۰۵/۷۱±۱/۶	۹۹/۶۴±۱/۵	۹۵/۷۵±۰/۷	۹۲/۷۳±۱/۷	M±SEM	MDA
۰/۰۱*	۴/۹۵	۱۱۴/۶۲±۰/۷۸	۱۳۳/۴۴±۲/۰۸	۱۱۰/۸۸±۲/۰۹	۱۱۱/۳۲±۱/۷۶	M±SEM	TAC

سطح اسید اوریک سرمی در گروه های T و C، نسبت به گروه های T&VC و C&VC بالاتر بود. اما این تفاوت از نظر آماری معنادار نبود (P=0.49).

افزایشی در سطوح کاتالاز گروه T&VC در مقایسه با دیگر گروه ها مشاهده شد، اما این افزایش معنادار نبود (P=0.973).

\* کاهش معناداری در سطوح MDA گروه T&VC در مقایسه با گروه C مشاهده شد (P=0.008).

\* افزایش معناداری در سطوح TAC گروه C&VC نسبت به گروه T مشاهده شد (P=0.01).

## بحث و نتیجه گیری

اوریک چندین ساعت بعد از فعالیت ورزشی باشد. بنا بر این به نظر می رسد در گروه تمرینی، فعالیت چرخه پورین نوکلئوتید و آنزیم گزانتین اکسیداز، منجر به افزایش سطوح این آنتی اکسیدان غیر آنزیمی شده باشد (۲۹). از طرفی ویتامین C به عنوان دهنده الکترون به ویتامین E، به هنگام بروز استرس اکسیداتیو در غشاء سلول عمل می کند. رادیکال های آزاد تشکیل شده در هنگام ورزش منجر به فعال سازی آنتی اکسیدان های آنزیمی در عضله اسکلتی می شود، اما مصرف ویتامین C با کاهش دادن رادیکال ها از این فعال سازی جلوگیری می کند (۳۰). بنا بر این به نظر می رسد یکی از علل کاهش سطوح اسید اوریک در گروه های دریافت مکمل، حذف رادیکال های آزاد توسط فعالیت آنتی اکسیدانی ویتامین C باشد. هر چند این تفاوت ها از نظر آماری معنادار نبودند.

نتایج مربوط به سطح پلاسمایی کاتالاز حاکی از آن بود که گروه تمرینی که مکمل ویتامین C دریافت می کردند در مقایسه با سه گروه دیگر، افزایشی در غلظت پلاسمایی این آنزیم آنتی اکسیدانی داشتند اما این افزایش از نظر آماری معنادار نبود. هم چنین محتوای سرمی گروه کنترل همراه با دریافت مکمل، نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری نداشت. این نتیجه با نتایج زوبی (۲۰۰۶) هم خوانی داشت (۳۱). به طوری که در این پژوهش نیز، غلظت کاتالاز در گروه مکمل تفاوت معناداری با گروه کنترل نداشت. در حالی که در مطالعه جوپتا (۲۰۰۹)، گروهی که مکمل ویتامین C دریافت می کردند پس از انجام دوی وامانده ساز، افزایش معناداری در CAT سرمی، نسبت به قبل از

بررسی نتایج مربوط به اسید اوریک سرمی هر دو گروه کنترل و تجربی نشان داد گروه هایی که مکمل ویتامین C دریافت می کرده اند، نه تنها سطح اسید اوریک بالاتری نداشتند، بلکه نسبت به گروه های بدون مکمل نیز، سطح اسید اوریک آن ها پایین تر بود. آزمودنی های جوراسچک (۲۰۱۱) نیز پس از سی روز ورزش موتور سواری همراه با مصرف روزانه ۵۰۰ mg مکمل ویتامین C، کاهش معناداری در سطح اسید اوریک داشتند (۱۷) و هم چنین گروه های تجربی لی خی (۲۰۰۷)، که مکمل آنتی اکسیدانی مصرف نمی کردند، افزایش معناداری در سطح اسید اوریک سرم نشان دادند (۲۷). اسید اوریک محصول جانبی متابولیسم پورین در انسان است. در حقیقت تولید اسید اوریک یک مکانیزم دفاعی در برابر فشارهای اکسایشی می باشد و فعالیت شدید باعث افزایش غلظت پلاسمایی اسید اوریک می شود که می تواند به داخل عضلات منتشر شده و از پراکسیداسیون لیپید و اکسیداسیون ویتامین C جلوگیری کند. در طی فعالیت با شدت بالا که سیستم نوکلئوتید پورین فعال است، افزایش فعالیت آنزیم میوکیناز در عضلات، ۲ عدد ADP را به یک ATP و AMP تبدیل می کند. ATP وارد چرخه انقباض شده و AMP به IMP تبدیل می شود. IMP به هیپوگزانتین کاتابولیز شده و در نهایت به اسید اوریک تبدیل می شود (۲۸). حین استراحت و فعالیت های زیر بیشینه، بخشی از هیپوگزانتین دوباره به IMP تبدیل شده و بخشی از آن نیز به اسید اوریک تبدیل می شود که ممکن است عامل افزایش اسید

فعالیت GPx در غلظت های کم  $H_2O_2$ ، و یا ترکیبی از دو عامل فوق.

در بررسی محتوای سرمی MDA، مشاهده شد کاهش معناداری در غلظت این شاخص در گروه تمرین با مصرف مکمل ویتامین C نسبت به گروه کنترل وجود دارد. در حالی که تفاوت معناداری در سطح MDA گروه های تمرینی مشاهده نشد. در پژوهش هایی که توسط غلامی (۱۳۹۳)، بابایی (۱۳۸۸) و پوپویک (۲۰۱۵) انجام شد، کاهش معناداری نیز در غلظت سرمی MDA گروه تمرینی با مصرف مکمل، مشاهده شد (۱۶،۱۹،۳۶). در حالی که گلفارب (۲۰۰۵) تفاوت معناداری در سطح MDA گروه تمرینی دریافت کننده مکمل ویتامین C و گروه کنترل مشاهده نکرد (۳۷). فعالیت های ورزشی با شدت بالا از طریق افزایش تولید گونه های رادیکالی، منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب اکسایشی لیپیدها و تولید بعدی پراکسیداسیون لیپیدی می شوند (۳۸). تمرینات استقامتی موجب پایین آمدن چربی خون و LDL پلاسمایی می شوند. بنا بر این بخشی از کاهش در سطوح MDA ممکن است ناشی از کاهش دسترس بودن اسیدهای چرب باشد. هر چند که می توان سایر عوامل مانند بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی و کاهش تولید رادیکال های آزاد را مد نظر قرار داد (۳۹). به طور کلی سه عامل درگیر در این کاهش عبارتند از: ۱- کاهش تولید رادیکال های آزاد در بدن (تقویت سیستم آنتی اکسیدانی)، ۲- افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، ۳- به تعادل رسیدن سیستم های اکسایشی بدن (اکسیدان در برابر آنتی اکسیدان)، که به طور معنی داری باعث جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید می شود. به عبارتی ویتامین C از طریق اهداء الکترون به رادیکال های آزاد و تبدیل شدن خود به رادیکال اسید اسکوربیک، از استرس اکسیداتیو جلوگیری کرده و باعث ممانعت از افزایش سطوح MDA می شود و موجب یک همبستگی منفی بین اسید اسکوربیک پلاسمایی (RAA) با MDA می شود (۴۰). بنا بر این همان گونه که انتظار می رفت، مصرف این مکمل آنتی اکسیدانی به دلایلی که ذکر شد، توانسته است به طور معنی داری از اکسیداسیون لیپید گروه تمرینی نسبت به

مصرف مکمل داشتند (۱۵). در حالی که ساری صراف (۱۳۹۲) پس از ۱۴ روز مکمل سازی در اسکیت بازان سرعت، کاهش معناداری در محتوای CAT سرمی گروه مکمل مشاهده نمود (۱۸).

کاتالاز یک آنتی اکسیدان آنزیمی حاوی هم است و به آهن به عنوان یک کوفاکتور که به جایگاه فعال این آنزیم متصل می شود، نیاز دارد. این آنزیم به طور گسترده ای در داخل سلول توزیع شده است. در واقع کاتالاز از دو طریق کاتالیز کردن تجزیه رادیکال  $H_2O_2$  به آب و اکسیژن، و ممانعت از تشکیل  $H_2O_2$  می تواند با رادیکال آزاد مقابله کند (۳۲). یک هم پوشانی بین عملکرد CAT و (Glutathione peroxidase GPx) وجود دارد. به طوری که گلوپاتیون پراکسیداز در مقایسه با CAT، در غلظت های پایین  $H_2O_2$  نقش فعال تری در برداشت این رادیکال آزاد دارد، اما زمانی که غلظت  $H_2O_2$  در سلول افزایش می یابد، کاتالاز وارد عمل می شود (۳۳). دکاسترو (۲۰۰۹) و داد (۲۰۰۶) عنوان داشتند شدت های فعالیتی بالاتر از ۶۰ درصد ضربان قلب بیشینه (بی هوازی) موجب کاهش فعالیت این آنزیم می شود (۳۴،۳۵). نیز مشخص شده که تارهای عضلانی با ظرفیت اکسایشی پایین نسبت به تارهای اکسیداتیو، سطوح پایین تری از فعالیت CAT دارند (۳۳). به طوری که فعالیت کاتالاز دوندگان ماراتون دو برابر دوندگان سرعتی است. دلیل این دو امر را می توان ماهیت تمرینات زیر بیشینه ( $HR_{max} < 60\%$ ) و افزایش مصرف اکسیژن در فعالیت استقامتی، و فراخوانی بیشتر تارهای اکسیداتیو در نظر گرفت. هر چند این افزایش معنادار نبود. از طرفی به دلیل تاثیر مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی هم چون ویتامین C بر رادیکال های آزاد تولید شده هنگام تمرین، ممکن است دیگر نیازی به مقابله ضد اکسایشی این آنزیم نباشد. زیرا نقش آنتی اکسیدانی این آنزیم نسبت به سایر آنتی اکسیدان ها ضعیف تر است. به طور کلی دلایلی که به نظر می رسد در عدم تغییر و یا کاهش فعالیت کاتالاز متعاقب مصرف ویتامین C و تمرین استقامتی دخیل باشند عبارتند از: کاهش تولید پراکسید هیدروژن به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی ویتامین C، عدم نیاز به افزایش فعالیت کاتالاز به دلیل

غشاء سلول رخ می دهد و مانع از پراکسیداسیون بیشتر لیپید غشاء می شود(۳۰). در مجموع می توان عنوان کرد تمرین استقامتی شنا به همراه مصرف مکمل ویتامین C، می تواند مانع از پراکسیداسیون لیپید در آزمودنی ها شده و محتوای TAC را نیز در آن ها افزایش دهد، در حالی که بر غلظت سرمی آنزیم آنتی اکسیدانی کاتالاز و غیر آنزیمی اسید اوریک بی تاثیر است. بنا بر این پیشنهاد می شود ورزشکاران رشته - های استقامتی، می توانند با مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی از اکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کرده و از طریق خنثی سازی رادیکال های آزاد از استرس اکسایشی بکاهند. اما به نظر می رسد به دلیل خنثی سازی گونه های رادیکالی، از فعالیت طبیعی آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی بدن، کاسته شود.

#### سپاسگزاری

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم لیلا وصالی اکبر پور بوده، و بدین وسیله از ایشان و متصدیان آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی همدان و همه کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند صمیمانه کمال تشکر را می نمایم.

#### References

- Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Feen WO. Oxygen poisoning and X-irradiation: A mechanism in common. *Sci*1954;119:623-6.
- Radak Z. Free radicals in exercise and aging. *Hu Kinetics*2000;5:1-29.
- Masuda K, Tanabe K, Kunn S. Exercise and reactive oxygen species in elderly exercise as prevention of oxidative stress. *J Sport Health Sci*2006; 4: 348-59.
- Powers SK, Jackson MJ. Exercise induced oxidative stress cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*2008; 88:1243-79.
- Radak Z, Hyspler R, Ticha A, Hronke M, Fikrova P, Rathouska J, et al. Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiol Rev*2009; 58: 13-17.
- Abtahiiivari H. [Examination physical chemical specifications catalase and superoxide dismutase enzymes human red globules]. *Tehran Med Sci Uni J* 2004;6:22-6. (Persian)

گروه کنترل جلوگیری کند. همان گونه که ملاحظه شد، مکمل دهی ویتامین C در گروه کنترل موجب افزایش معناداری در محتوای ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نسبت به گروه تمرین بدون مکمل شده است. بنا بر انتظار، این افزایش با نتایج حاصل از تحقیقات غلامی(۱۳۹۳)، ساری صراف(۱۳۹۲)، بابایی(۱۳۸۸) و نورشاهی(۱۳۹۱) موافق بود(۱۶،۱۸،۱۹،۴۱). در تمام این پژوهش ها، گروهی که مکمل ویتامین C دریافت می کردند، پس از انجام فعالیت ورزشی افزایش معناداری در سطوح ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در مقایسه با گروه دارونما داشتند. ظرفیت آنتی اکسیدانی کل(TAC) اثر تجمعی همه آنتی اکسیدان های موجود در پلاسما را نشان می دهد(۴۲). مکمل دهی ویتامین C موجب افزایش سطوح اسید اسکوربیک سرمی و متعاقباً افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام می شود(۴۳). هم چنین مصرف مکمل ویتامین C می تواند از طریق دادن الکترون به ویتامین E و احیاء این آنتی اکسیدان محلول در چربی، منجر به افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل شود. این عمل آنتی اکسیدانی ویتامین C به هنگام بروز استرس اکسیداتیو و در سطح

- Ahmadiasl N, Soufi FG, Alipour M, Bonyadi M, Sheikhzadeh F, Vatankhah A, et al. [Effects of age increment and 36-week exercise training on antioxidant enzymes and apoptosis in rat heart tissue]. *J Sports Sci Med*2007;6:243-9. (Persian)
- Giral P, Ratzu V, Couvert P, Carrie A, Kontush A, Girerd X, et al. Plasma bilirubin and gamma-glut amyl transferase activity are inversely related in dyslipidemic patients with metabolic syndrome relevance to oxidative stress. *Atherosclerosis*2010;210: 607-13.
- Jourkesh M, Sadri I, Sahranavard A, Ojagil A, Dehganpoori M. The effects of two different doses of antioxidant vitamin C supplementation on bioenergetics index in male college student. *J Am Sci*2011;7:852-8.
- Diaz E, Ruiz F, Hoyos I, Zubero J, Gravina L, Gil J, et al. Cell damage, antioxidant status, and cortisol levels related to nutrition in ski mountaineering

- during a two day race. *J Sports Sci Med*2010; 9: 338-46.
11. Naghizadeh H, Banparvar M, Salehikia A. [Effect of one exercise with consumption vitamin E on antioxidant status and cardiovascular risk factors]. *ZJRMS*2010;1:33-9. (Persian)
  12. Zimmermann MB. Vitamin and mineral supplementation and exercise performance. *Sport Med Sport Aumatologie*2003; 51: 53-57.
  13. Cesur G, Atay E, Ogut S, Polat M, Ongel K. Effect of indoor Climbing exercise on plasma oxidative stress, hematologic parameters and heart rate responses in sedentary individuals. *Biomed Res India*2012; 23:566-570.
  14. Memarmoghaddam M, Talebigarkani E. [Comparison total antioxidant capacity oxidative stress condition and lipoprotein profile cycling athletics with nonathletic]. *Exe Move Exis Sci*2000;4:19-26. (Persian)
  15. Gupta C, Gupta PH, Singh B. Effect of vitamin supplementation on exercise induced oxidative stress in trained elite Indian cyclists. *Am J Biomed Sci*2009; 1: 166-70.
  16. Gholami M, Mabani M, Hedayati M, Mabani M. Effects of four weeks supplementation of vitamin C on total antioxidant capacity and malondialdehyde among inactive men after an eccentric exercise. *Annale of Military & Health Sci Res*2014;12:173-8.
  17. Juraschek SP, Miller ER, Gelber AC. Effect of oral vitamin C supplementation on serum uric acid: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011; 63: 1295-1306.
  18. Sarissarraff V, Asrirezaei S, Amirsaman R, Zolfeghardidani H. The effects of vitamin C and E supplementation and anaerobic activity on oxidative indices in male teenager speed skaters. *Art Olymp*2013; 21:7-17.
  19. Babaei P, Rahmani nia F, Nakhostin B, Bohlooli SH. The effect of vitamin C on immunoendocrin and oxidative stress responses to exercise. *J Clin Diagnost Res*2009; 3: 1627- 32.
  20. Rowlands AV, Ingledew DK, Powell SM, Eston RG. Interactive effects of habitual physical activity and calcium intake on bone density in boys and girls. *J Appl Physiol*2004; 97: 1203-8.
  21. Tanya RL, Christine M. Bone density and physical function in postmenopausal women after a 12 month water exercise intervention. *Corval Oreg State Uni*2006;541:9524-737.
  22. Dallak, M. Lack of ameliorative effect of Vitamin E and C supplements to oxidative stress and erythrocytes deterioration after exhaustive exercise at high altitude in native Rats. *African J Biotech*2012; 11: 9835-9843.
  23. Kilic M, Ulusoy O, Cirrik S, Hindistan IE, Ozkaya YG. Effect of exercise intensity on cerebrospinal fluid interleukin-6 concentration during recovery from exhaustive exercise in Rats. *Acta Physiol Hung*2014; 101: 21-31.
  24. Dawud FA, Eze ED, Ardja AA, Isa AS, Jimoh A, et al. Ameliorative Effects of vitamin C and zinc in alloxan induced diabetes and oxidative stress in wistar Rats. *J Biol*2012; 4: 123-129.
  25. Henry RJ. *Clin, Pathol*1975; 28: 152.
  26. Salehi I, Mohammadi M, Farajnia S, GHadirisoufi F, Badalzadeh R, VatankHah A. [ Effect of swimming exercise on oxidative stress and atrojenetic index in diabetic male Rats blood]. *JRes Med Sci Hamadan*2006; 3: 29-35. (Persian)
  27. Lekhi C, Gupta HP, Singh B. Influence of exercise on oxidative stress products in elite indian cyclists. *Br J Sports Med*2007; 41: 691-3.
  28. Askew EW. Work at high altitude and oxidative stress antioxidant nutrients. *Sci Ireland Ltd*2002;180:107-19.
  29. Aguilo A, Tauler P, Fuentespina E, Tur JA, Cordova A, Pons A. Antioxidant response to oxidative stress indused by exhaustive exercise. *Physiol Behavior*2005;84:1-7.
  30. Evans WJ. Vitamin E vitamin C and exercise. *Am J ClinNutr*2000; 72: 647-52.
  31. Zoppi CC, Hohl R, Silva FC, Lazarim FL, Neto JMFA, Stancanneli M, Macedo DV. Vitamin C and E supplementation effects in professional soccer players under regular training. *J Int Soc Sports Nutr*2006; 3: 37-44.
  32. Powers SK, Sen CK. Physiological antioxidants and exercise training. Sen CK, Packer L, Hanninen O, Eds. *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Amsterdam: Elsevier Sci2000; 221-243.



33. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-Induced oxidative stress cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*2008; 88:1243-79.
34. Decastro MAC, Cavaicantinetto FF, Lima LMC, Silva FM, Oliveira RJ, Zanesco A. Production of free radicals and catalase activity during acute exercise training in young men. *Biol Sport*2009; 26: 113-8.
35. Daud DM, Karim AA H, Mohammad N, Hamid N AA, Ngah WZW. Effect of exercise intensity on antioxidant enzymatic activities in sedentary adults. *Malaysian J Biochem Mol Bio*2006; 13: 337-47.
36. Popovic L M, Mitic N R, Miric D, Bisevac B, Miric M, Popovic B. Influence of vitamin C supplementation on oxidative stress and neutrophil inflammatory response in acute and regular exercise. *Oxid Med Cell Longev*2015; 295497: 1-7.
37. Goldfarb AH, Patrick SW, Bryer S. Vitamin C supplementation effects oxidative stress blood markers in response to a 30 minute run at 75%  $VO_2$ max. *Int J Sport Nutr ExeMetab*2005;15:279-90.
38. Wellman KF, Bloomer RJ .Acute exercise and oxidative stress a 30 year history. *Dynam Med*2009; 8:1-25.
39. Michlczyk M, Klapcinska B, Sadowskakrepal E, Jagzs S, Pilis W, Szoltysekboldys I, et al. Evaluation of the blood antioxidant capacity in two selected Phases of the training cycle in professional soccer players. *J Hu Kinet*2008; 19: 93-108.
40. Belviranli M, Gokbel H. Acute exercise induced oxidative and antioxidant changes. *Eur J Gen Med*2006; 3: 126-31.
41. Nourshahi M, KHosro E, Taherichadorneshin H. [Effected of vitamin E supplementation on anjiojenetic factor response in endurance activity]. *Res Sports Sci* 2010;22:41-6. (Persian)
42. Lee SP, Mar GY, Ng LT. Effects of tocotrienol-rich fraction on exercise endurance capacity and oxidative stress in forced swimming rats. *Eur J Appl Physiol*2009;107:587-95.
43. Kabasakalis A, Kalitsis K, Nikolaidis MG, Tsalis G, Kouretas D, Loupos D, et al. Redox iron and nutritional status of children during swimming training. *J Sci Med Sport*2009; 12: 691- 6.

## ◆ The Effects of Endurance Swimming Plus Vitamin C Supplement on the Indices of Oxidative Stress among Male Rats

Vesaliakbarpour L<sup>1</sup>, Samavatisharif M<sup>1\*</sup>, Heidarianpour A<sup>1</sup>

(Received: September 1, 2015)

Accepted: December 5, 2015)

### Abstract

**Introduction:** Majority of researches have referred to reduction of stress oxidative, during consumption of antioxidant supplements or exercise training. The aim of the present study, was to investigate "the effect of endurance swimming training plus consumption of vitamin C supplement, on the indices of oxidative stress among male wistar rats".

**Materials & methods:** Twenty four male wistar rats weighing 250 to 300 g, were randomly divided into four groups: 1- Training (T), 2- Training plus vitamin C (T &VC), 3- control (C), and 4- control plus vitamin C (C &VC). Training groups participated in a swimming program 5 d/w, 1 h/d, for ten weeks. Using vitamin C supplement (100 mg/kg) started one week before starting training protocol, and continued to the end of tenth week. One day after the end of training protocol, sampling blood of rats were obtained to measure the indices of oxidative stress including

malondyaldehyde (MDA), catalase (CAT), uric acid (U.A), and total antioxidant capacity (TAC). Results were analyzed using the one-way ANOVA followed by a Tukey test. Significance level was 0.05.

**Findings:** The results of this research indicate that T &VC significantly reduced the level of MDA in comparison to C group (P = 0.008). A significant increase in the level of TAC was also observed in C &VC group in comparison to T group (P = 0.01). But there was no significant difference in the level of CAT and U.A.

**Discussion & conclusions:** In conclusion, results of the current study indicates that consumption of VC may decrease the lipid peroxidation and increase the level of TAC, while it did not affect CAT and U.A antioxidants.

**Keywords:** Endurance swimming, Oxidative stress, Rat, Vitamin C

1. Dept of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

\* Correspondin author Email:m-samavati@basu.ac.ir