

تاثیر مکمل‌دهی حاد ویتامین ث در پاسخ به فاکتورهای اکسایشی پس از ورزش زیر بیشینه

در شرایط کمبود اکسیژنی در فشار طبیعی

مریم نورشاهی^۱، هادی زاهدی^۲✉، مهدی هدایتی^۳، عسل رجاییان^۲

۱- دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده تربیت بدنی دانشگاه شهید بهشتی

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشگاه شهید بهشتی

۳- هیئت علمی پژوهشکده غدد و متابولیسم، دانشگاه شهید بهشتی

تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۵/۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۱/۱۰/۱۰

چکیده

سابقه و هدف: تمرین فزاینده در شرایط طبیعی از طریق افزایش در تولید رادیکال‌های آزاد منجر به ایجاد فشارهای اکسایشی می‌شود. این افزایش اثرات منفی روی تولید انرژی در هنگام تمرین گذاشته و موجب خستگی زودرس می‌شود. به‌طور کلی نتایج تاثیر یک جلسه فعالیت متوسط هوازی انجام شده در شرایط کمبود اکسیژنی در فشار طبیعی بر روی تولید رادیکال‌های آزاد، پراکسیداسیون چربی و قابلیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) همچنان متناقض می‌باشد. در این تحقیق ما به دنبال تاثیر مکمل‌دهی حاد ویتامین ث در پاسخ به فاکتورهای اکسایشی پس از ورزش زیر بیشینه در شرایط هیپوکسی در فشار طبیعی خواهیم بود. **مواد و روش‌ها:** برای آزمودن این مسئله ۱۱ مرد ورزشکار (با میانگین سنی $22/18 \pm 2/18$ سال و میانگین شاخص توده بدن $21/99 \pm 1/24$ کیلوگرم بر متر مربع) برای فعالیت با شدت 55% VO_{2max} به مدت ۳۵ دقیقه در شرایط کمبود اکسیژن (ارتفاع 3500 متری ($14\%-13.5=O_2$)) استفاده شد به فعالیت پرداختند. به آزمودنی‌ها اسید اسکوربیک خوراکی داده شد (1000 میلی‌گرم / دو ساعت قبل از دوره فعالیت). نمونه‌گیری خونی، قبل از فعالیت در حالت ناشتا و بلافاصله بعد از آزمون جمع‌آوری شد. قابلیت تام آنتی اکسیدانی (TAC)، مالون دی‌آلدید محصول پراکسیداسیون چربی‌ها و اسید اوریک با استفاده از روش‌های تشخیصی HPLC و فتومتریک اندازه‌گیری شدند. نتایج با استفاده از روش آماری تحلیل واریانس دو سویه با اندازه‌گیری‌های مکرر و از مجموعه نرم‌افزاری SPSS 16 و در صورت معناداری از آزمون تعقیبی کلموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. سطح معنی‌داری ($p \leq 0.05$) منظور گردید. **یافته‌ها:** یافته‌های اصلی نشان می‌دهند که فعالیت متوسط در وضعیت هایپوکسیا موجب افزایش معنادار در غلظت پلاسمایی تعدیل شده TAC ($11/04 \pm 0/39$ و $13/19 \pm 0/33$) و اسید اوریک (میزان استراحتی در مقایسه با فعالیت (به ترتیب: $7/09 \pm 0/40$ و $8/59 \pm 0/19$) ($p \leq 0.05$) شده است. همچنین مکمل‌دهی ویتامین ث به طور معناداری غلظت مالون دی‌آلدید (MDA) گروه مکمل نسبت به گروه دارونما کاهش داده است به ترتیب از $3/39 \pm 0/07$ به $3/09 \pm 0/09$ ($p \leq 0.05$). این مشاهدات گویای این مطلب است که یک جلسه فعالیت هوازی با شدت متوسط در شرایط نرماباریک هایپوکسیا موجب افزایش اکسیدان‌ها در فشارهای اکسایشی می‌شود و مکمل‌دهی ویتامین ث عاملی مهارکننده و تاثیرگذار که پیشتر از اکسیداسیون چربی‌ها (بتا اکسیداسیون) در قابل اکسایش ناشی از کمبود اکسیژن حمایت می‌کند به‌طور کلی مکمل‌دهی حاد ویتامین ث موجب عدم افزایش در MDA و در نتیجه کاهش پراکسیداسیون چربی (LPO) شده است. **بحث:** این مشاهدات پیشنهاد می‌کند، یک جلسه فعالیت هوازی با شدت متوسط در شرایط کمبود اکسیژنی طبیعی (نورموباریک هایپوکسیا) نشانه‌های آنتی اکسیدانی را در شرایط فشارهای اکسایشی افزایش می‌دهد و مکمل‌دهی ویتامین ث یک عامل مهارکننده بود که از عوامل اکسیداسیونی (بتا اکسیداسیون) در مقابل پراکسیداسیون چربی ناشی از کمبود اکسیژن حمایت می‌کرد.

واژه‌های کلیدی: ویتامین ث، کمبود اکسیژنی در شرایط طبیعی، فاکتورهای اکسایشی و آنتی‌اکسیدانی

✉ نویسنده مسئول: هادی زاهدی

تهران، ولنجک، دانشگاه شهید بهشتی، تلفن تماس: ۰۹۳۸۷۵۳۸۶۹۸

E-Mail: h.zahedi2@gmail.com

The effect of acute vitamin C supplementation in response to oxidative factors after sub maximal exercise in normobaric hypoxia

Abstract

Background and aim: Maximal exercise in normoxia results in oxidative stress due to an increase in free radical Production. This increase has negative effect on energy production during exercise and due to fasting fatigue. However, the effect of a single bout of moderate aerobic exercise performed normobaric hypoxia on free radical production, lipid per oxidation and total antioxidant capacity (TAC) remains inconsistent. In this study, we followed the effect of acute vitamin C supplementation in response to oxidative factors after sub maximal exercise in normobaric hypoxia. **Material and method:** 11 active male) age: 22.18 ± 2.18 yrs, BMI: 21.99 ± 1.24 kg/m²) was required to exercise on a treadmill at 55% of VO_{2max} for 35 minutes hypoxic condition [FiO_2 (inspired fraction of O₂) = 0.14 (altitude about 3500 meter)]. The subject received orally ascorbic acid (1000 mg/ two hours before exercise session). Blood samples were taken before (fasting) and immediately after exercise. Total antioxidant capacity (TAC), lipid per oxidation products malondialdehyde (MDA) and uric acid were measured using HPLC and/or photometric detection. The results obtained were analyzed by two-way analysis of variance (ANOVA) using SPSS statistics software package (version 16) followed by post-hoc Kolmogoroff-Smirnov test where F value was significant. Level of significance was set at $p \leq 0.05$. **Results:** The main findings show that moderate intensity exercise in the hypoxia position, increased significantly plasma-volume-corrected TAC and uric acid concentration (pooled rest compared with exercise $P < 0.05$); However, vitamin C supplementation did significantly affect MDA concentration ($P < 0.05$). **Discussion:** These observations would suggest that single bout of moderate aerobic exercise in normobaric hypoxia increases oxidant and antioxidant markers in oxidative stress and supplementation vitamin C was an effective preventive agent, which further supports the oxidative character (beta oxidation) versus lipid per oxidation induced by hypoxia.

Key words: vitamin C, Normobaric hypoxia, oxidative stress

مقدمه

رادیکال‌های آزاد از طریق اکسیداسیون می‌شود که می‌تواند در کوتاه مدت و بلندمدت موجب پیامدهای منفی در سلامتی و اجرا ورزشی داشته باشد (۱۸). برخی از مشاهدات گویای این مطلب هستند که فشارهای اکسایشی، تاثیرات قرارگیری در معرض ارتفاع و کمبود اکسیژن، ممکن است حتی تا زمان بازگشت به سطح دریا نیز ادامه یابد (۲۰، ۱۹). این استرس ایجاد شده به وسیله هایپوکسی منجر به عدم تعادل بین سطوح آنتیاکسیدان‌ها و اکسیدان‌ها (عوامل اکسایشی) می‌شود که در نتیجه این عوامل می‌توان بسیاری از نشانه‌های فشارهای اکسایشی را مشاهده کرد (۵). با وجود این هنوز تاثیر آنتی‌اکسیدان‌ها در محیط‌های کم فشار یا ارتفاعات بالا بر روی افراد ورزشکار به طور کامل بررسی نشده است. کلید اساسی در مورد بحث آنتی‌اکسیدان‌ها در ورزش چه به صورت مکمل‌دهی و چه به صورت رژیم غذایی، مسئله جلوگیری از افزایش تولید ROS^۲ در شرایط تمرین و فعالیت بدنی می‌باشد. اگرچه، این مسئله که آیا در هنگام فعالیت‌های شدید نیاز به آن افزایش می‌یابد هنوز نامعلوم

فعالیت در ارتفاع، چه از لحاظ عملکردی (کاهش VO_{2max}) و چه از لحاظ فیزیولوژیکی (افزایش فشارهای اکسایشی در حین فعالیت و خستگی زودرس) محدودیت‌هایی برای ورزشکاران به همراه دارد (۱). از طرفی تحقیقات زیادی گزارش داده‌اند که تمرینات استقامتی با شدت بالا در ارتفاع موجب تجمع فشارهای اکسایشی در بدن می‌شود. ثابت شده که اطلاعات بدست آمده چه در محیط‌های کم فشار مانند شرایط تمرینی در ارتفاعات واقعی و چه تحقیقات آزمایشگاهی در شرایط مصنوعی هایپوکسی باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد (ملکول‌های اکسیژنی و اکسنشگر (ROS)) تقریباً به یک اندازه شده است (۱-۵). قرارگیری در ارتفاع بالا باعث ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی می‌شود که برای خنثی کردن اثرات کاهش اکسیژن محیطی^۱ اتفاق می‌افتد (۱۶، ۱۵). سازگاری‌های فیزیولوژیک شامل پرتنفسی، افزایش تولید گلبول‌های قرمز، تغییرات گردش خون، افزایش دفع سدیم و آب و تغییر سوبسترای انرژی از جمله سازگاری‌های بدن در ارتفاعات می‌باشد (۱۷). فشارهای اضافی ناشی از فعالیت بدنی در شرایط هایپوکسی منجر به افزایش بیش از پیش آسیب بافتی

¹ Hypoxia

² Reactive oxygen species

در گروه ویتامین ث در پاسخ به مکمل‌دهی و تمرین به افزایش معناداری یافت. ولی تحقیق متیو^۳ و همکاران (۲۰۰۲) که به بررسی مکمل‌دهی ترکیبی آنتی‌اکسیدانت در ارتفاع متوسط و هوای سرد به صورت مزمن پرداختند به این نتیجه رسیدند که تفاوت معناداری بین گروه آنتی‌اکسیدانت با گروه کنترل مشاهده نشد. با این حال، تحقیقات تجربی ارتباطی را بین فشارهای اکسایشی و تاثیرات حاد آنتی‌اکسیدانی پلاسما در هنگام تمرینات استقامتی در شرایط طبیعی مشاهده کرده‌اند (۳۱). همچنین ثابت شده است که فعالیت‌های هوازی در ارتفاع دچار نقصان می‌شود، شاید یکی از دلایل آن افزایش تولیدات ROS باشد که باعث خستگی زودرس می‌شود. به‌علاوه افزایش مسابقات مختلف در مکان‌هایی با ارتفاع متوسط و ایجاد شرایط استرس‌زا در هنگام فعالیت، موجب افت عملکرد ورزشکاران خواهد شد (۱).

بنابراین پژوهش حاضر به دنبال پاسخ این سؤال است که آیا مکمل‌دهی حاد ویتامین ث در شرایط نورموباریک هایپوکسی منجر به کاهش فشارهای اکسایشی و در نتیجه باعث عدم تغییرات منفی در فعالیت‌های هوازی می‌شود یا خیر؟

مواد و روش‌ها

آزمودنی‌ها: این مطالعه از نوع کارآزمایی بالینی و به روش تصادفی دوسوکور و متقاطع انجام شد. از بین داوطلبان واجد شرایط (عدم مصرف سیگار و الکل، عدم مصرف داروهای ضدالتهابی و داشتن سن پایین‌تر از ۳۰ سال) تعداد ۱۱ نفر از بین دانشجویان ورزشکار مذکر با میانگین سنی $22/18 \pm 2/1$ کیلوگرم، میانگین شاخص توده بدن (kg/m^2) $21/99 \pm 1/2$ و میانگین حداکثر اکسیژن مصرفی $(ml/min/kg)$ $55/32 \pm 4/8$ انتخاب شدند.

روش اجرا: در جلسه توجیهی، کلیه آزمودنی‌ها قبل از انجام تحقیق در مورد پروتکل اجرایی و نحوه اجرای تمرینات، تنظیم روزهای آزمون و نیز ساعت انجام آن کاملاً توجیه شدند. از آزمودنی‌ها خواسته شد تا ۲۴ ساعت قبل از آزمون، از انجام هر گونه تمرین و فعالیت ورزشی شدید

مانده است (۲۱). رادیکال‌های آزاد (FR)^۱، مولکول یا قطعات مولکولی هستند که یک یا چند الکترون جفت نشده در بنیان‌های آن‌ها وجود دارد (۵-۷).

آن‌ها بسیار ناپایدار و واکنش‌پذیر هستند. رادیکال‌های آزاد در طول تمرین به مقدار زیادی تولید می‌شوند و در خستگی عضلانی، بسیاری از بیماری‌ها و فرآیند پیری درگیر هستند (۹،۸). میزان طبیعی آن‌ها در بدن تاثیرات مثبتی روی سیستم ایمنی و عملکردهای متابولیکی دارند (۱۰). در مقابل آنتی‌اکسیدانت‌ها (AO) نیز ترکیباتی هستند که رادیکال‌های آزاد و آثار مخرب آن‌ها را خنثی می‌کنند. تغذیه نقش اساسی در تامین آنتی‌اکسیدانت‌ها بدن را فراهم می‌کند (۱۱). به هر حال ناکافی بودن در دسترس قرارگیری مواد مغذی (ویتامین‌ها) در اغلب ورزشکاران گزارش شده است (۱۲،۱۱).

ویتامین ث، ویتامینی محلول در آب و مهمترین آنتی‌اکسیدانت‌های خارج سلولی است، در ورزش نیز مکمل‌دهی ویتامین ث به عنوان یک عامل اثرگذار در کاهش فشارهای اکسایشی مورد بحث قرار گرفته است (۳ و ۱). کمبود ویتامین ث اثرات مخربی بر اجرا دارد، مصرف ویتامین ث (مخصوصاً در ترکیب با دیگر آنتی‌اکسیدانت‌ها مثل ویتامین E) به حفظ غلظت ویتامین ث بافت‌ها کمک می‌کند (۴). مشخص شده است که فشارهای اکسایشی می‌تواند در طول دوره‌های تمرینی با شدت بالا افزایش یابد، بنابراین ممکن است فشارهای اکسایشی یکی از فاکتورهای دخیل در سندروم بیش‌تمرینی به حساب آید (۱۳، ۱۴). مطالعات اولیه نتایج متناقضی در ارتباط با مکمل‌دهی روی ظرفیت فعالیت و عملکرد بی‌هوازی آشکار کرد (۲۲-۲۵). به طوری که تحقیقات انجام شده در زمینه تاثیرگذاری ویتامین ث بر روی پراکسیداسیون سه نتیجه متفاوت داشته‌اند که عبارتند از جلوگیری پراکسیداسیون چربی (۲۶، ۲۷)، بدون تاثیر (۲۸، ۲۹) و حتی افزایش پراکسیداسیون چربی (۳۰). این تحقیقات اشاره می‌کنند که اجرای ورزش همراه با مکمل‌دهی ویتامین ث - در زمانیکه غلظت پلاسمایی آن پایین باشد - افزایش می‌یابد (۲۵). ناخوستین^۲ و همکاران (۲۰۰۵) به بررسی مکمل‌دهی ویتامین ث روی پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب‌ها و التهاب‌های عضلات بعد از ۳۰ دقیقه تمرین با ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بر روی ۱۶ آزمودنی مرد پرداختند. نتایج نشان داد که غلظت ویتامین ث پلاسما

¹ Free Radical

² Nakhouston

³ Matieu

تولید می‌کند، اعمال شد. هر آزمودنی، اکسیژن معادل ارتفاع ۳۵۰۰ متری (O₂=13.5-14%) را توسط ماسکی مخصوصی که به مجرای تنفسی (بینی و دهان) متصل بود استنشاق می‌کرد. به سینه آزمودنی‌ها نیز کمربند مخصوص دستگاه متصل شد تا اطلاعات مربوط به تعداد ضربان قلب را از طریق امواج مغناطیسی به دستگاه منتقل شود. جهت ایمنی آزمودنی‌ها از سنسور انگشتی برای نشان دادن تغییرات ناگهانی اکسیژن خون استفاده شد تا در هنگام کاهش شدید اکسیژن خون آزمودنی از ادامه فعالیت جلوگیری شود. بلافاصله بعد از اتمام ۳۵ دقیقه فعالیت، خونگیری ثانویه از ورید جلوی آرنج انجام شد. پس از یک هفته پاک شدگی جای مکمل و دارونما تغییر کرد به طوری که آزمودنی‌هایی که هفته اول مکمل مصرف کردند، دارو نما داده شد و برعکس.

مکمل دهی

با توجه به این که میزان ویتامین ث پلاسما تقریباً ۲ ساعت پس از مصرف به طور کامل جذب خون می‌شود (۱)، مکمل و دارو نما ۱۲۰ دقیقه قبل از اجرای آزمون تجویز شد. گروه آنتیاکسیدانت میزان ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین ث خالص مصرف کردند. دارونما نیز میزان ۱۰۰۰ میلی‌گرم لاکتوز تجویز شد. ویتامین ث و دارونما، هر دو در داخل کپسول‌های ۱۰۰۰ میلی‌گرمی کاملاً مشابه قرار گرفتند تا آزمودنی نتواند تفاوت آن‌ها را تشخیص دهد.

پروتکل آزمون بروس

در ابتدا برنامه آزمون بر اساس وزن و سن آزمودنی به نوارگردان داده شد. سپس ۵ دقیقه گرم کردن در نظر گرفته شد و بعد از آن، آزمون اصلی شروع شد که همزمان با آن کورنومتر جهت اندازه‌گیری زمان فعالیت تا حد واماندگی بکار افتاد. لازم به ذکر است که آزمون بروس ۷ مرحله بوده و در هر مرحله ۲ درجه شیب افزایش پیدا می‌کند. سرعت از ۲/۷۴ شروع شده و بصورت فزاینده تا ۹/۶۵ کیلومتر بر ساعت افزایش می‌یابد.

جدول ۱. مشخصات عمومی آزمودنی‌های حاضر در تحقیق

میانگین ± انحراف استاندارد	مشخصات عمومی آزمودنی‌ها
۲۲/۱۸ ± ۱/۲	سن (سال)
۱۷۵/۶۰ ± ۳/۳	قد (سانتی‌متر)
۶۸/۴۳ ± ۶/۶	وزن (کیلوگرم)
۵۴/۵۰ ± ۴/۵	حداکثر اکسیژن مصرفی (ml/min/kg)

خودداری کنند و حداقل ۲ ساعت قبل از اجرای آزمون از مصرف مواد غذایی پرهیز کنند. رژیم غذایی آزمودنی‌ها نیز از یک ماه قبل کنترل شده بود و آزمودنی‌ها برنامه غذایی یکسانی داشتند. پرسش‌نامه اطلاعات فردی، پرسش‌نامه پزشکی و رضایت‌نامه نیز در جلسه توجیهی توسط افراد تکمیل شد. سپس از آزمودنی‌ها درخواست شد که برای اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی ساعت ۸ صبح به آزمایشگاه مراجعه کنند. قبلاً از آزمودنی‌ها خواسته شده بود که ۴۸ ساعت قبل از آزمون از انجام هرگونه فعالیت شدید خودداری کنند. پس از این مرحله آزمودنی‌ها به طور تصادفی به دو گروه آنتیاکسیدانت (۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین ث) و دارونما تقسیم شدند. یک هفته بعد از تست VO₂max، از آزمودنی‌ها خونگیری اولیه به میزان ۱۰ ml/mg از ورید بازویی در حالت ناشتا به عمل آمد. آزمودنی‌ها صبحانه استاندارد (یک عدد تخم مرغ و یک قرص نان) به همراه مکمل پس از اولین خونگیری، مصرف کردند. دو ساعت بعد از مصرف، آزمودنی‌ها برای اجرای آزمون اصلی به آزمایشگاه مراجعه کردند. بدین ترتیب که آنها پس از ورود به آزمایشگاه تربیت بدنی، ۱۵ دقیقه استراحت کردند، قد و وزن آزمودنی‌ها به وسیله دستگاه ترازو و قدسنج مدل seca ساخت کشور آمریکا اندازه‌گیری شد. پس از ۱۰ دقیقه گرم کردن روی دستگاه نوار گردان مدل Exite.med TechnoGym، SPA ساخت کشور ایتالیا، آزمودنی‌ها برای اجرای پروتکل هایپوکسی آماده شدند. فعالیت زیر بیشینه در شرایط هایپوکسی را با ۵۵٪ حداکثر اکسیژن مصرفی (معادل ۷۵٪ حداکثر ضربان قلب) مطابق با روش ماگل‌هس^۱ و همکاران (۶) اجرا شد. شرایط کم اکسیژنی شبیه‌سازی شده^۲ نیز معادل ارتفاع ۳۵۰۰ متری توسط دستگاه هایپوکسیا (مدل GO2 Altitude ساخت کشور آلمان) که هوای با درصد اشباع ارتفاع مورد نظر را

¹ Magalhaes

² Normobaric hypoxia

جدول ۲. میزان تغییر متغیرها در مراحل مختلف مکمل‌دهی قبل و پس از تمرین (میانگین \pm انحراف استاندارد)

متغیرها	دارونما استراحت M \pm SD	دارونما تمرین M \pm SD	مکمل استراحت M \pm SD	مکمل تمرین M \pm SD	p-value
مالون دی آلدئید (μm)	۳/۱۶ \pm ۰/۱۱	۳/۳۹ \pm ۰/۰۷	۳/۵۸ \pm ۰/۱۹	۳/۰۹ \pm ۰/۰۹	۰/۰۰
ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (u/ml)	۱۱/۰۴ \pm ۰/۳۹	۱۲/۲۷ \pm ۰/۲۱	۱۲/۳۱ \pm ۰/۰۷	۱۳/۱۹ \pm ۰/۳۳	۰/۰۲۰
اسید اوریک (mg/dl)	۷/۰۹ \pm ۰/۴۰	۸/۰۰ \pm ۰/۳۶	۷/۰۰ \pm ۰/۳۹	۸/۵۹ \pm ۰/۱۹	۰/۰۰

اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی

جهت سنجش مالون دی آلدئید از روش TBARS (Chemical colorimetric, Cayman, MI, USA) و برای اندازه‌گیری مقدار TAC پلاسما از کیت اندازه‌گیری مقیاس TAC (Total AntiOxidant Capacity (TAC) Assay kit) و از روش Colorimetric method, JaICA, Shizuoka, Japan استفاده شد. همچنین میزان اسید اوریک نیز به روش Enzymatic Photometric مشخص شد.

روش آماری و تحلیل داده‌ها

در پژوهش حاضر نرم‌افزار SPSS 16 مورد استفاده قرار گرفت و به منظور اطمینان از نرمال بودن داده‌ها از آزمون تعقیبی شاپیرو-ویلک استفاده شد. آمار توصیفی نیز (میانگین \pm انحراف استاندارد) برای بیان مشخصات آزمودنی‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در صورت همگن بودن توزیع داده‌ها برای مقایسه میانگین گروه‌ها در متغیرهای مختلف از روش تحلیل واریانس دوسویه با اندازه‌گیری‌های مکرر استفاده شد. در صورت معناداری تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی بونفرونی برای تعیین تفاوت‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری برای قبول یا رد فرضیات $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌های تحقیق

نتایج این تحقیق نشان داد که مکمل‌دهی حاد ویتامین ث در هنگام تمرین بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) در شرایط نورموباریک هایپوکسیا تاثیر معناداری داشت ($P=0/13$ و $F(1,30)=9/016$) ($P<0/05$). مکمل‌دهی حاد ویتامین ث در هنگام تمرین بر میزان مالون دی آلدئید (MDA) در شرایط نورموباریک هایپوکسیا کاهش معناداری نسبت به گروه دارونما داشته است. تفاوت معناداری بین مصرف دارونما در وهله‌های تمرین و استراحت وجود داشت ($P=0/05$) در صورتی که این

معناداری بین وهله‌های استراحت و تمرین با مصرف ویتامین ث دیده نشد ($P=0/227$). مقایسه متغیرهای دو گروه در مورد اسید اوریک ($P=0/00$) تفاوت معناداری را نشان داد. نتایج بیانگر این بود که هم دارونما و هم ویتامین ث، پس از تمرین، تفاوت معناداری را در میزان اسیداوریک در مقایسه با زمان استراحت ایجاد کرده‌اند (به ترتیب: $P=0/009$ و $P=0/001$).

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر مشاهده می‌شود که مکمل‌دهی حاد ویتامین ث باعث تغییراتی در ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل و همچنین مالون دی آلدئید در گروه مکمل شده است. در فاز دارونما با توجه به عدم مصرف ویتامین ث میزان TAC بعد از فعالیت نسبت به میزان قبل از فعالیت افزایش معنی‌دار نشان داد. این افزایش قابل پیش‌بینی بود و اکثر مطالعات انجام شده با روش اندازه‌گیری گوناگون از ظرفیت آنتی‌اکسیدان (TAS, TAC, T RAP, ...) هم در شرایط تمرین و هم در شرایط هایپوکسیا، این افزایش را گزارش کرده‌اند (۱-۲-۳-۴). ماگال‌هس و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه‌ای شرایط نورموباریک هایپوکسیا را در ارتفاع ۵۵۰۰ متری به مدت ۲ ساعت ایجاد کردند که به نتایج مشابه تحقیق حاضر دست یافتند (۳۳). یکی از مکانیزم‌های درگیر در افزایش ROS و رادیکال‌های آزاد که منجر به تنظیم مثبت^۱ TAC می‌شود، انقطاع موقتی پمپ کلسیم-ATP است که منجر به افزایش درون سلولی کلسیم شده که ممکن است منجر به فعال شدن مسیر گزانتین اکسیداز در طول فعالیت شود. که این مسیر موجب تولید اکسیژن واحد و اسیداوریک می‌شود و در نهایت منجر به بالا رفتن غلظت TAC در داخل خون و پلاسما خواهد شد (۳۴). دلیل دوم بالا بودن TAC که در گروه مصرف‌کننده ویتامین ث مشهودتر بود، مصرف

¹ Up regulation

می‌شود که می‌تواند به داخل عضلات منتشر شده و از اکسیداسیون جلوگیری کند (۱). در واقع اسیداوریک چه در پلاسما و چه در عضله یکی از مهمترین آنتی‌اکسیدانت‌هایی می‌باشد که تاثیر مستقل روی H_2O_2 ، Proxy R، HOCL و پراکسید نیتريت دارد (۱ و ۳۸). علاوه بر این، اسیداوریک می‌تواند از پراکسیداسیون چربی و اکسیداسیون ویتامین ث جلوگیری کند (۱). مطالعات انجام شده بر روی ورزشکاران، گویای افزایش میزان اسیداوریک در پاسخ به فعالیت بدنی می‌باشد (۱-۴۵). مطالعات انجام شده بر روی اسیداوریک و تاثیر فعالیت در ارتفاع بر روی آن بسیار اندک می‌باشد. نیمن و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه خود (۱۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین ث به مدت یک هفته) به این نتیجه دست یافت که میزان اسیداوریک گروه مکمل نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. هرچند که مکمل‌دهی ویتامین ث همراه با رژیم غذایی کربوهیدراتی بود ولی نتوانست به طور معنی‌داری در فشارهای اکسایشی و سیستم ایمنی تغییرات مثبت ایجاد کند. با این حال نتیجه آن‌ها مغایر با تحقیق حاضر می‌باشد. به نظر می‌رسد که یکی از علل اختلاف در نتایج، میزان فعالیت آزمودنی‌ها باشد. در تحقیق نیمن، ورزشکاران در یک فعالیت فوق استقامتی حدود ۱۰ ساعت شرکت کرده بودند که این زمان طولانی باعث کاهش اسیداوریک پلاسما برای جلوگیری از فشارهای اکسایشی می‌شود. از طرفی با بالا رفتن زمان فعالیت، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی داخل سلول افزایش می‌دهد و از تشکیل چرخه گزانتین اکساید جلوگیری می‌کند (۱). افزایش اسیداوریک ناشی از فعالیت استقامتی ممکن است از طریق افزایش اکسیداسیون پورین و مواد ثانویه تشکیل دهنده اسیداوریک نشئت گرفته باشد (۳۶، ۳۹، ۳۵). به علاوه، فعالیت بدنی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آدنیلات کاتالاز (میوکیناز در عضلات) می‌شود که به عنوان تولید کننده انرژی، دو ADP را به یک ATP و AMP تبدیل می‌کند. آدنوزین تری فسفات وارد چرخه انقباض شده و AMP به IMP تبدیل می‌شود. IMP به هیپوگزانتین کاتابولیز شده و در نهایت به اسیداوریک تبدیل می‌شود (۴۰). در طول فعالیت‌های بدنی شدید یا فعالیت در شرایط هایپوکسیا احتمال زیادی وجود دارد که آنزیم‌های گزانتین اکسیداز بیشتر از آنزیم‌های گزانتین دهیدروناز افزایش

ویتامین ث به عنوان مکمل آنتی‌اکسیدانی است. زیرا مکانیزم عمل ویتامین ث، بیشتر در داخل خون و پلاسما است و بعد از اسیداوریک از قدرتمندترین خطوط دفاعی در مقابل رادیکال‌های آزاد و فشارهای اکسایشی در خون می‌باشد (۱).

در رابطه با مالون دی‌آلدئید، نتایج نشان داد که مکمل‌دهی ویتامین ث تفاوت معنی‌داری را در میزان مالون دی‌آلدئید قبل و بعد از تمرین در شرایط هایپوکسیا ایجاد نکرده که این امر به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای ویتامین ث در پلاسما می‌باشد که موجب به دام انداختن رادیکال‌های آزاد و ROS می‌شود و این عوامل از افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کند. رامل^۱ و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه‌ای تحت عنوان غلظت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما و پراکسیداسیون لیپیدها بعد از فعالیت زیر بیشینه مردان، ارتباط معکوسی را بین غلظت مالون دی‌آلدئید و سطوح آنتی‌اکسیدانی پیدا کردند که یافته ما نیز گویای این مطلب می‌باشد. چرا که در فاز دارونما، غلظت مالون دی‌آلدئید افزایش معنی‌داری یافته بود ولی با افزایش غلظت TAC همراه با مکمل‌دهی ویتامین ث، در فاز مکمل‌دهی غلظت مالون دی‌آلدئید معنی‌دار نشد. مکانیسم احتمالی پراکسیداسیون چربی‌ها هنگام فعالیت در ارتفاع، تولید رادیکال‌های آلوکسیل می‌باشد (۱). همچنین لیپید هیدروکسی پروکساید که هم خانواده پراکسیداسیون لیپیدها است نیز در هنگام فعالیت در ارتفاع افزایش می‌یابد که این موضوع آشکار کننده این قضیه است که رادیکال‌های آلوکسیل منجر به تجزیه اسیدهای چرب اشباع نشده (PUFA) می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدها نیز که از سلسله واکنش‌های دائمی در این شرایط می‌باشد، محصول جانبی اکسیداسیون و واکنش‌های رادیکال‌های آزاد است (۱-۲).

بررسی نتایج مربوط به اسید اوریک حاکی از آن بود که میزان غلظت اسیداوریک خون در هر دو گروه (دارونما و مکمل) بعد از تمرین در شرایط هایپوکسیا، افزایش معنی‌داری یافت که این امر نشان‌دهنده قطعی افزایش فشارهای اکسایشی هنگام فعالیت استقامتی در شرایط هایپوکسیا می‌باشد اما این میزان افزایش در گروه مکمل بیشتر بود. در حقیقت تولید اسیداوریک یک مکانیزم دفاعی در مقابل تولید فشارهای اکسایشی می‌باشد (۳۵-۳۷). فعالیت شدید باعث افزایش غلظت پلاسمایی اسیداوریک

¹ Romell

یابد (۴۷ و ۴۶) این بدان معناست که آنزیم‌های گزانتین دهیدروژناز با NADH که یک پذیرنده الکترون است وارد واکنش می‌شود، ولی آنزیم گزانتین اکسیداز با ملکول‌های اکسیژن وارد واکنش شده و موجب تولید رادیکال‌های سوپر اکساید می‌شود که در نتیجه میزان رادیکال‌های آزاد داخل سلول را افزایش می‌دهد (۴۰، ۴۶ و ۴۷). این مشاهدات پیشنهاد می‌کند، یک جلسه فعالیت هوازی با شدت متوسط در شرایط کمبود اکسیژنی طبیعی (نورموباریک هایپوکسیا) نشانه‌های آنتی اکسیدانی را در شرایط فشارهای اکسایشی افزایش می‌دهد و مکمل‌دهی ویتامین ث احتمالاً به عنوان یک عامل مهارکننده عمل می‌کند که از عوامل اکسیداسیونی (بتا اکسیداسیون) در مقابل پراکسیداسیون چربی ناشی از کبود اکسیژن حمایت می‌کند.

نتیجه‌گیری

مکمل‌دهی حاد ویتامین ث هنگام فعالیت در شرایط هایپوکسیا مفید بوده است. افزایش فشارهای اکسایشی عوارضی چون کاهش تولید ATP و افزایش بروز سندرم بیش تمرینی را در پی خواهد داشت. از طرفی با توجه به فعالیت بالای ورزشکاران در سطوح حرفه‌ای توصیه می‌شود رژیم غذایی سرشار از مواد آنتی اکسیدانی و حتی مصرف این مواد به صورت مکمل در فهرست غذایی ورزشکاران قرار گیرد. همچنین توصیه می‌گردد با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانی ویتامین ث این ویتامین در رژیم غذایی ورزشکارانی که در ارتفاع فعالیت می‌کنند به مقدار کافی گنجانده شود.

تشکر و قدردانی

در پایان از همکاری تمامی دوستان و آزمودنی‌های این تحقیق که ما را در اجرای این تحقیق یاری دادند، قدردانی می‌شود.

منابع

- 14- Simon-Schnass, I. M. (1992). Nutrition at high altitude. *Journal of Nutrition*. 122, 778-781.
- 15- Bailey DM, Davies B, and Young IS. (2001). intermittent hypoxic training: implications for lipid peroxidation induced by acute normoxic exercise in active men. *Clin Sci (Lond)* 101:465-475.
- 16- Stenberg J, Rkblom B, & Messin R, (1966). Hemodynamic response to work at stimulated altitude, 4000m. *JAP*. 21, 1589-1594
- 17- Easton P.A, Slykerman L J & Anthonesen N R, (1986). Ventilator response to sustained hypoxia in normal adult. *JAP*. 61, 906-911
- 18- Bailey, D. M., Davies, B. and Young, I. S. (2000). Evidence for reactive oxidant generation during acute physical exercise and normobaric hypoxia in man. *J. Physiol*. 528P, 99
- 19- Hornbein, T.F, (2001). The high-altitude brain. *J. Exp. Biol.*: 204, 3129-3132.
- 20- Joanny, P., Steinberg, J., Robach, P., Richalet, J.P., Gortan, C., Gradette, B., Jammes, Y, (2001). Operation Everest III (Comex'97): the effect of simulated severe hypobaric hypoxia on blood lipid peroxidation and antioxidant defence systems in human blood at rest and after maximal exercise. *Resuscitation*: 49, 307-314.
- 21- Powers, S.K. et al, (2004). Dietary antioxidants and exercise, *J. Sports Sci.*, 22:81.
- 22- Gey, G.O., Cooper, K.H., and Bottenberg, R.A, (1970). Effect of ascorbic acid on endurance performance and athletic injury, *JAMA*, 211:105,
- 23- Howald, H., Segesser, B., and Korner, W.F., Ascorbic acid and athletic performance, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, (1974) 258:458,
- 24- Keren, G. and Epstein, Y, (1980). The effect of high dosage vitamin C intake on aerobic and anaerobic capacity, *J. Sports Med.*, 20:145,
- 25- Buzina, R. and Suboticanec, K. (1985). Vitamin C and physical working capacity, *Int. J. Vitam. Nutr. Res. Suppl.*, 27:157.
- 26- Alessio, H.M. (1993), Exercise-induced oxidative stress, *Med. Sci. Sports Exerc*: 25:218,
- 27- Sanchez-Quesada, J., Jorba, O., Payes, A., Otal, C., Serra-Grima, R., Gonzalez-Sastre, F., & Ordonez-Lianos, J. (1998). Ascorbic acid inhibits the increase in low-density lipoprotein (LDL) susceptibility to oxidation and the proportion of electronegative LDL induced by intense aerobic exercise. *Coronary Artery Dis*. 9, pp. 249-255.
- 1- Julien F, G'érard Lac, (2006). Edith Filaire. Oxidative Stress Relationship with Exercise and Training *Sports Med*; 36 (4): 327-358
- 2- Palmer FM, Nieman DC, Henson DA, et al, (2003). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and salivary IgA changes following an ultramarathon. *Eur J Appl Physiol*; 89: 100-7
- 3- Thompson D, Williams C, Garcia-Roves P, et al, (2003). Post-exercise vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *Eur J Appl Physiol* ; 89: 393-400
- 4- McKenzie DC, (1999). Markers of excessive exercise. *Can J Appl Physiol*; 24 (1): 66-73
- 5- P. Møller, S. Loft, C. Lundby, N.V. Olsen, (2001). Acute hypoxia and hypoxic exercise induce DNA strand breaks and oxidative DNA damage, *FASEB J*. 15 1181-1186.
- 6- Magalhaes J, Ascensao A, Soares JM, Neuparth MJ, Ferreira R, Oliveira J, Amado F, and Duarte JA, (2004). Acute and severe hypobaric hypoxia-induced muscle oxidative stress in mice: the role of glutathione against oxidative damage. *Eur J Appl Physiol* 91: 185-19.
- 7- Young AJ & Reeves J T, (2003). human adaptation to high terrestrial altitude ; *Medical Aspects of Harsh Environments D.C* 647-691
- 8- Chang, S.-W., Stelzner, T. J., Weil, J. V., and Voelkel, N. F, (1989). Hypoxia increases plasma glutathione disulfide in rats. *Lung* 167, 269-276
- 9- Kumar, D., Bansal, A., Thomas, P., Sairam, M., Sharma, S. K., Mongia, S. S., Singh, R., and Selvamurthy, W, (1999). Biochemical and immunological changes on oral glutamate feeding in male albino rats. *Int. J. Biometeorol*. 42, 201-204
- 10- Liu, J., SIMON, L. M., PHILLIPS, J. R. & RoBIN, E. D, (1977). Superoxide dismutase (SOD) activity in hypoxic mammalian systems. *Journal of Applied Physiology* 42, 107-110.
- 11- Bonkovsky, H. L., Lincoln, B., Healey, J. F., Ou, L. C., Sinclair, P. R. & Muller-Eberhard, U, (1986). Hepatic heme and drug metabolism in rats with chronic mountain sickness. *American Journal of Physiology* 251, G467-474.
- 12- COSTA, L. E. (1990). Hepatic cytochrome P-450 in rats submitted to chronic hypobaric hypoxia. *American Journal of Physiology* 259, C654-659.
- 13- Dhalival, H., Kirshenboum, L. A., Randhawa, A. K. & Singal, P. K. (1991). Correlation between antioxidant changes during hypoxia and recovery on reoxygenation. *American Journal of Physiology* 261, H632-638.

- 38- Mitmesser SH, Giraud DW, Driskell JA, (2000). Dietary and plasma level of carotenoids, vitamin E, vitamin C in a group of young and middle-aged nonsupplemented women and men. *Nutr Res*; 20 (11): 1537-46
- 39- Cláudia Dornelles Schneider, Alvaro Reischak de Oliveira, (2004). Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training, *Rev Bras Med Esporte* _ Vol. 10, NO. 4 – Jul/Ago
- 40- Askew E.W, (2002). Work at high altitude and oxidative stress: antioxidant nutrients. Elsevier Science Ireland Ltd. 180 107_/119
- 41- Schmidt, M.C., Askew, E.W., Roberts, D.E., Prior, R., Ensign, W.Y., Hesslink, R.E, (2002). Oxidative stress in individuals training in a cold moderate altitude environment and their response to a phytochemical antioxidant supplement. *Wild. Environ. Med.* 13, 94_/105.
- 42- Pfeiffer, J.M., Askew, E.W., Roberts, D.E., Wood, S.M., Benson, J.E., Johnson, S.C., Freedman, M.S, (2000). Effect of antioxidant supplementation on urine and blood markers of oxidative stress during extended moderate-altitude training. *Wilderness Environ. Med.* 10, 66–74
- 43- Chao, W.-H., Askew, E.W., Roberts, D.E., Wood, S.M., Perkins, J.B., (1999). Oxidative stress in humans during work at moderate altitude. *J. Nutr.* 129, 2009_/ 2012.
- 44- Wing S.L., E.W. Askew, M.J. Luetkemeier, D.T. Ryujin, G.H.Kamimori, C.K. Grissom, (2003). Lack of effect of Rhodiola or oxygenated water supplementation on hypoxemia and Oxidative stress, *Wilderness Environ. Med.* 14 9–16.
- 45- Marklund N, Ostman B, Nalmo L, et al, (2000). Hypoxanthine, uric acid and allantoin as indicators of in vivo free radical reactions: description of a HPLC method and human brain microdialysis data. *Acta Neurochir (Wien)*; 142: 1135-42
- 46- Green HJ, Fraser IG, (1988). Differential effects of exercise intensity on serum uric acid concentration. *Med Sci Sports Exerc*; 20 (2): 55-9
- 47- Chung WY, Chung JKO, Szeto YT, et al, (2001). Plasma ascorbic acid measurement, stability and clinical utility revisited. *Clin Biochem*; 34: 623-7
- 28- Thompson, D., Williams, C., McGregor, S., Neicholas, C., McArdle, F., Jackson, M., Powell, J. (2001). Prolonged vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 11, pp. 66-481.
- 29- Nieman, D., Henson, D., McAnulty, S., McAnulty, L., Swick, N., Utter, A., Vinci, D., Opiela, S., & Morrow, J. (2002). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *J. Appl. Physiol.* 92, pp. 1970-1977.
- 30- Childs, A., Jacobs, C., Kaminski, T., Halliwell, B., & Leeuwenburgh, C, (2001). Supplementation with vitamin C and N-acetylcysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Rad. Biol. Med* 31, pp.745-753.
- 31- Alfons Ramel, Karl-Heinz Wagner, Ibrahim Elmadafa; (2004). Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men ; *Eur J Nutr* 43: 2–6
- 32- Lenaz G, (1998). Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochim Biophys Acta*; 1366 (1-2): 53-67
- 33- J. Magalhaes, A. Ascensao, G. Viscor, J. Soares, J. Oliveira, F. Marques, J. Duarte, (2005). Oxidative stress in humans during and after 4 h of hypoxia at a simulated altitude of 5500 m, *Aviat. Space Environ. Med.* 75 16–22.
- 34- Goldfarb, A., Patrick, S., Bryer, S., & Uou, T. (2005). Vitamin C supplementation affects oxidative stress blood markers in response to a 30- minute run at %75 VO₂max. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 15(3), pp.279-290
- 35- Liu, M.; Bergholm, R.; Makimattila, S.; Lahdenpera, S.; Valkonen, M.; Hilden, H.; Yki-Jarvinen, H.; Taskinen, M. A 920 A. MASTALLOUDIS et al, (1999). Marathon run increases the susceptibility of LDL to oxidation in vitro and modifies plasma antioxidants. *Am. J. Physiol.* 273: E1083–E1091;
- 36- Angela Mastaloudis, Scott W. Leonard, and Maret G, (2001). Traber oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise: *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 31, No. 7, pp. 911–922,
- 37- Rokitski, L., Logemann, E., Sagredos, A., Murphy, M., Wetzel-Roth, W., Keul, J, (1994). Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiol. Scand.* 151:149– 158.