

تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها بر استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت ورزشی در اسبچه خزر

- **انسیه فتحی‌زاده***: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا
- **سیدمدسن احمدی‌نژاد**: موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، صندوق پستی: ۱۷۸۳-۱۳۱۴۵
- **سیروس اشیدری**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۵

چکیده

به منظور بررسی اثرات استفاده ویتامین‌های E، C و ترکیبی از این دو در کاهش تنش‌های اکسیداتیو در اسبچه خزر، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار بر روی ۱۶ راس اسبچه خزر به مدت ۲۱ روز (سه هفته) انجام شد. اسبچه‌های مورد مطالعه، از سلامت کامل برخوردار بودند و میانگین سنی آن‌ها ۸/۵ سال (۷-۱۰ سال) و میانگین وزنی ۲۲۰ کیلوگرم (۲۰۰-۲۴۰ کیلوگرم) بود. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (یونجه همراه با کاه یا کلش)، ۲- گروه حاوی جیره شاهد به اضافه میزان ۶ گرم ویتامین E محاسبه شده بر حسب وزن در روز در تمام دوره آزمایش، ۳- گروه حاوی جیره شاهد به همراه مقدار ۷ گرم ویتامین C در روز در تمام دوره آزمایش، ۴- گروه حاوی جیره شاهد به همراه ویتامین E+C به ترتیب ۶ و ۷ گرم در روز بود. نمونه‌های خونی از تمامی اسبچه‌ها در زمان استراحت و بلافاصله پس از تنش ورزشی، اخذ شد. سرم‌های تهیه شده، در آزمایشگاه به وسیله HPLC، اتانالایزر و اسپکتوفوتومتر آنالیز شدند. براساس نتایج به دست آمده استفاده از افزودنی بر سطح آنزیم‌های آسپارات‌آمینوترانسفراز، کراتین‌کیناز و گلوکاتایون‌پراکسیداز سرم خون معنی‌دار نبود ($p \geq 0/05$). ولی اثر افزودنی بر سطح ویتامین C و ویتامین E معنی‌دار بود ($p \leq 0/05$). اثر ورزش بر سطح آنزیم آسپارات‌آمینوترانسفراز و ویتامین C معنی‌دار بود ($p \leq 0/05$) و اثرات متقابل ورزش و افزودنی بر هیچ‌یک از صفات مورد بررسی معنی‌دار نبود ($p \geq 0/05$). در کل با استفاده توأم ویتامین C و E سبب ایجاد بالاترین سطح سوپراکسید دیسموتاز و ویتامین‌های C و E در سرم اسبچه‌ها شد.

کلمات کلیدی: اسبچه خزر، استرس اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدان، رادیکال آزاد، ویتامین E، ویتامین C



مقدمه

مطالعات زیادی وجود دارد، که نشان می‌دهند، فعالیت فیزیکی شدید و ورزش توأم با استرس باعث آسیب به DNA می‌شود. رادیکال‌های آزاد موجب پراکسیداسیون فسفولیپیدهای غشائی، شکسته شدن زنجیره DNA و دناتوره شدن پروتئین‌ها می‌شوند (Inoue و همکاران، ۱۹۹۵). انواع گوناگونی از دفاع آنتی‌اکسیدانی در موجودات هوازی پدید آمده است. در واقع، آنتی‌اکسیدان ماده‌ای است که بتواند از آسیب اکسیداتیو^۱ به یک مولکول هدف جلوگیری کند یا آن را به تأخیر اندازد. همه مولکول‌های موجود در بدن جانداران، شامل پپتیدها، پروتئین‌ها، نوکلئیک اسیدها و کربوهیدرات‌ها قابلیت آن را دارند، که در معرض آسیب اکسیداتیو قرار گیرند. برای مطالعه آنتی‌اکسیدان‌ها در آزمایشگاه باید ماده‌ای انتخاب شود، که هدف حمله قرار می‌گیرد. انتخاب این ماده ممکن است، به دلیل اهمیت آن یا سهولت اندازه‌گیری آسیب وارد بر آن باشد. به طور مثال، حمله رادیکال آزاد به لیپید، به این مولکول آسیب می‌رساند (پراکسید شدن لیپیدی). این آسیب با آزمون‌های ساده‌ای اندازه‌گیری می‌شود. البته به جز لیپیدها، سایر اجزای سلول نیز ممکن است مورد حمله رادیکال‌ها قرار بگیرند و آسیب دیدن آن‌ها می‌تواند از اهمیت یکسان یا حتی بیش‌تری نیز برخوردار باشد. بنابراین، مطالعات آزمایشگاهی در مورد آنتی‌اکسیدان‌ها باید با توجه کامل به روش‌های مورد استفاده، مورد تفسیر قرار گیرند. به عبارت دیگر، بیان این‌که ماده الف آنتی‌اکسیدان مناسبی است، بدون مشخص کردن روش‌های مورد استفاده، بی‌معنا خواهد بود (میشل، ۱۳۷۷).

به عنوان نمونه رادیکال آزاد هیدروکسیل، فعال‌ترین رادیکال اکسیژنی است، این رادیکال توانایی زیادی برای آسیب رساندن و تخریب دارد، زیرا به محض تماس با هر مولکول بیولوژیکی، به آن حمله می‌کند و معمولاً موجب شروع واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد می‌شود (Halliwell و همکاران، ۱۹۹۹). در یک تقسیم‌بندی کلی می‌توان منابع تولیدکننده رادیکال‌های آزاد (عوامل آغازکننده اکسیداسیون) را به دو دسته عوامل بیرونی و داخلی تقسیم نمود. از مهم‌ترین عوامل بیرونی یا عوامل شیمیایی و فیزیکی می‌توان اشعه‌های یون‌ساز حتی نور خورشید، آلودگی هوا به خصوص دی‌اکسیدکربن و اکسیدنیترژن و ترکیبات شیمیایی مانند تتراکلریدکربن (CCL₄) آلوده‌کننده‌های محیطی، حشره‌کش‌ها، بی‌هوش‌کننده‌ها، محلول‌های صنعتی و آزن را نام برد (Yug، ۱۹۹۴). عوامل درونی یا زیستی شامل رادیکال‌های آزاد واکنش‌گر هستند که در اثر عواملی مانند اکسیدازها

و اکسیدکننده‌ها به وجود می‌آیند. عوامل درونی در میتوکندری‌ها، فاگوسیت‌ها، پراکسیزوم‌ها، التهاب‌ها، فعالیت‌های سنگین بدنی و کم‌خونی‌های موضعی بروز می‌کنند. هر دو عامل خارجی و داخلی با ایجاد رادیکال آزاد و اکسیداسیون لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها باعث لیپوفوشین زایی می‌شوند (Yug، ۱۹۹۴). لیپوفوشین، یا رنگیزه سن یک ماده خود فلورسنت است، که به طور فزاینده‌ای درون لیزوزوم‌های ثانویه در سلول‌های مختلفی از نسوج انسان و حیوانات تجمع می‌یابد. چون این تجمع برجسته‌ترین تظاهر سلولی پیری است، اغلب به عنوان یک شاخص پیری در نظر گرفته می‌شود و تحقیقات مختلف در مورد ساختمان، ترکیب و سرعت تجمع لیپوفوشین در انواع سلول‌های مختلف صورت گرفته است (Conchran، ۱۹۹۷). در جریان استرس اکسیداتیو بافت‌های مختلفی مثل کلیه، ریه، قلب، پوست، مغز، مفاصل، مجاری معدی رودهای، چشم‌ها، عروق، گلبول‌های قرمز و دیگر بافت‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Karamanlioglu، ۲۰۰۲).

به‌طور کلی سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی به دو گروه آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می‌شوند. سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (مهم‌ترین عوامل آنتی‌اکسیدانی در درون سلول‌ها) آنزیم‌هایی هم‌چون سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز می‌باشند. سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی، مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌هایی که در این گروه قرار می‌گیرند، شامل ویتامین E (α توکوفرول)، کارتنوئیدها، اسیداسکوربیک، اسیداوریک و بیلی‌روبین می‌باشند (Thaler و همکاران، ۱۹۹۶). آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند با مکانیسم‌های مختلفی عمل نمایند. مکانیسم‌هایی همانند برداشت اکسیژن با کاهش غلظت موضعی اکسیژن، برداشت یون‌های فلزی کاتالیتیک مانند Fe^{+2} و Cu^{+2} ، برداشت گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید O_2^- ، هیدروژن پراکسید H_2O_2 و قطع کردن واکنش‌های زنجیره‌ای موثر باشند. برای مثال آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در سطوحی همانند جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد، ترمیم صدمات ناشی از فعالیت رادیکال‌ها، افزایش دفع یا جذب مولکول‌های صدمه دیده و به حداقل رساندن موتاسیون عمل کنند (گاتریج، ۱۳۷۸).

براساس تحقیقات گذشته، مکمل‌سازی با ویتامین‌های E و C می‌تواند وضعیت α-توکوفرول و اسیداسکوربیک را در پونی‌های ورزش چوگان، بهبود بخشد، به‌خصوص در انتهای فصل مسابقه و زمانی که تمرینات طبق برنامه بیش از حد باشد. به‌طور کلی پونی‌های با فعالیت ورزشی شدید در مقایسه با گروهی با فعالیت ورزشی سبک، می‌توانند از مکمل‌های ویتامین E و C بهره بیش‌تری ببرند و کارایی را در

^۱ - آسیب اکسیداتیو، اصطلاحی کلی است که نشان‌دهنده حمله رادیکال‌های آزاد حاوی اکسیژن است مانند سوپراکسید (O_2^-)



شد. فعالیت ورزشی در این تحقیق به این صورت بود که اسبچه‌های موجود در هر تیمار به‌صورت گروهی مورد فعالیت ورزشی قرار می‌گرفتند. به اسبچه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه تمرین سبک جهت آماده و گرم شدن، داده می‌شد، سپس در پیست، فاصله مشخصی را طی می‌نمودند (۷۰۰ متر). در پایان مسیر ۷۰۰ متری که اسبچه‌ها به صورت یورتمه و چهارنعل طی می‌کردند، علائم حیاتی قابل کنترل (ضربان، نبض و تنفس) اندازه‌گیری و پس از اطمینان از این‌که میزان این فاکتورها مؤید تحت تنش (استرس) قرار گرفتن اسبچه بود، از حیوانات خون‌گیری به‌عمل آمد، نمونه خون‌های گرفته شده به لوله‌های آزمایشی بدون ماده ضدانعقاد منتقل شده و در مجاورت یخ به آزمایشگاه جهت بررسی پارامترهای مورد نظر ارسال شد. در آزمایشگاه نمونه‌ها سانتریفیوژ و سرم‌های تهیه شده در دمای ۲۰- جهت آزمایش‌ها نگهداری شدند (Williams و همکاران، ۲۰۰۴؛ Hoffman و همکاران، ۲۰۰۱).

جدول ۱: ترکیب خوراک روزانه برای هر اسبچه خزر

عصر	ظهر	صبح
یونجه ۱ کیلوگرم	یونجه ۱ کیلوگرم	یونجه ۱ کیلوگرم
کاه یا کلش	کاه یا کلش	کاه یا کلش
۰/۵ کیلوگرم	۰/۵ کیلوگرم	۰/۵ کیلوگرم

برای ارزیابی ویتامین E و ویتامین C نمونه‌های خون به آزمایشگاه تحقیقاتی بیوفارماسی پارس واقع در تهران انتقال داده شده و سرم‌های حاصلی به آزمایشگاه توسط دستگاه HPLC^۲ انجام شد. بدین‌منظور ۲۰۰ میکرولیتر پلاسما، ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول اضافه می‌شود، در میکسر به‌مدت ۲۰ ثانیه قرار داده شد و سپس به‌مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ (۴۰۰۰ RPM) قرار داده شد. سپس از محلول بالایی ۱ میلی‌لیتر را برداشته و در لوله آزمایش قرار داده شد و ۱ میلی‌لیتر هگزان و ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه نموده و مجدداً به‌مدت ۲۰ ثانیه در شیکر و دوباره ۵ دقیقه در سانتریفیوژ (۴۰۰۰ RPM) قرار داده شد. دوباره از محلول بالایی ۷۵۰ میکرولیتر برداشته و با هگزان استخراج می‌نماید. هگزان را زیر گاز ازت تبخیر نموده و به باقی‌مانده که در لوله است ۲۵۰ میکرولیتر متانول اضافه کرده و ۷۰ میکرولیتر به HPLC تزریق می‌نمایند (Williams و همکاران، ۲۰۰۴). برای اندازه‌گیری آنزیم‌های AST، CK، GSH و SOD سرم‌های خون جمع‌آوری شده، در دمای ۲۰- درجه فریز شده و به آزمایشگاه دامپزشکی دانشگاه تهران ارسال شد. در آزمایشگاه با استفاده از کیت ELITech

اسب‌هایی با فعالیت ورزشی سنگین بهبود می‌بخشد (Hoffman و همکاران، ۲۰۰۱).

باتوجه به مطالب ذکر شده، فعالیت‌های ورزشی شدید ۳۰-۱۰ برابر حالت عادی مصرف اکسیژن را افزایش می‌دهند، که این مسئله تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تخریب عضلات و سایر بافت‌های بدن را افزایش می‌دهند. از طرفی براساس گزارشات بافت‌ها زمانی‌که در فعالیت‌های سخت و شدید قرار می‌گیرند، دفاع آنتی‌اکسیدانی خود را افزایش می‌دهند (Piccion و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین چگونه می‌توان از یک اسب مسابقه بر علیه رادیکال‌های آزاد ناشی از ورزش محافظت کرد؟ به‌عبارت دیگر، آیا یک اسب مسابقه باید آنتی‌اکسیدان مصرف کند؟ لذا این تحقیق با هدف بررسی اثرات استفاده از ویتامین C و E و مصرف توأم آن‌ها بر میزان آنزیم‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های سرم خون برای اولین بار در اسبچه‌های خزر انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار جمعاً ۱۶ رأس اسبچه‌خزر از مدرسه کاسپین اسب ایرانیان به شماره ثبت ۲۷۸۵۲ (به تعداد مساوی اخته و مادبان، با گروه سنی بین ۷ تا ۱۰ سال) و جیره غذایی یکسان و شرایط ورزشی مشابه، به‌مدت ۲۱ روز (سه هفته) در باشگاه سوارکاری آزمون واقع در ضلع شرقی استادیوم آزادی، منطقه ۲۲ شهرداری تهران، از تاریخ یازدهم آذرماه سال ۱۳۹۱ مورد اجراء گذاشته شد. اسبچه‌ها از میانگین وزنی بین ۲۰۰ الی ۲۴۰ کیلوگرم که تمامی از سلامت کامل برخوردار بوده‌اند، انتخاب شدند. هر یک از اسبچه‌ها به‌صورت تصادفی در هر یک از تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. برای تصادفی کردن از روش قرعه‌کشی استفاده شد. تیمارها شامل: (۱) گروه شاهد، (۲) گروه حاوی جیره شاهد به‌اضافه میزان ۶ گرم ویتامین E^۱ (ویتامین E جیره بر مبنای جدول NRC حداکثر ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی Iu در روز) بر حسب وزن در روز در تمام دوره آزمایش، (۳) گروه حاوی جیره شاهد به‌همراه مقدار ۷ گرم ویتامین C در روز در تمام دوره آزمایش و (۴) گروه حاوی جیره شاهد به‌همراه ویتامین E+C به‌ترتیب ۶ و ۷ گرم در روز بود.

برای تهیه نمونه‌های خونی در پایان هفته سوم دو بار از تمامی اسبچه‌های موجود در هر تیمار خون‌گیری به‌عمل آمد، یک‌بار قبل از تمرین و در حالت استراحت و بار دیگر بلافاصله بعد از انجام فعالیت ورزشی از ورید گردن به‌مقدار ۱۰ سی‌سی خون، از هر حیوان گرفته

^۲ - Instrument, HPLC Pump,; Young Lin Gradient pump. SP920-D-Detector,; Young Lin UV720-D-Injection Valve,; Rheodyne 7120i

^۱ ویتامین E مورد استفاده در این آزمایش از نوع DL-alpha-Tocopherol acetat ۵۰ درصد بود.



نتيجه

در جدول ۲ پارامترهاي مربوط به هفته سوم قبل از تمرين نمايش داده شده است. آنزيم اسپاراتات آمينو ترانسفراز (AST)، آنزيم كراتين كيناز (CK)، آنزيم گلو تاتيون پراكسيداز (GSH) و آنزيم سوپرا اكسيد ديسموتاز (SOD) تحت تأثير تيمارهاي آزمايشي قرار نگرفتند ($p \geq 0/05$). سطح ويتامين C سرم تحت تأثير تيمارهاي آزمايشي قرار نگرفت ($p \geq 0/05$). در مورد ويتامين E اختلاف معني داري بين تيمارهاي آزمايشي مشاهده شده است ($p \leq 0/05$) و بيش ترين مقدار سطح سرمي ويتامين E مربوط به تيمار آزمايشي دريافت كننده ويتامين هاي E+C و كم ترين مقدار مربوط به تيمار آزمايشي شاهد مي باشد.

($5+1$ NAC و به روش اتانالايزر و بر حسب U/L آنزيم هاي CK و AST اندازه گيري شدند (Reitman و Frankel, 1957) و آنزيم هاي GSH و SOD با استفاده از كيت Biorex diagnostics (GLUTATHIONE PEROXIDASE) و به روش اسپكتروفوتومتر و بر حسب U/L اندازه گيري شدند (Szasz و همكاران, 1976).

طرح آماري: در پايان داده هاي به دست آمده براي به دست آوردن اثرات اصلي (قبل و بعد از تست ورزش) و افزودني (بدون افزودني، استفاده از ويتامين C، E و اثرات توام آنها) با برنامه آمري SAS مورد تجزيه و تحليل قرار گرفت و براي تنظيم و دسته بندي داده ها از نرم افزار كامپيو تری Excel و مقايسات ميانگين ها، با استفاده از آزمون دانكن انجام شد.

جدول ۲: پارامترهاي مربوط به هفته سوم قبل از تمرين

VitE	VitC	SOD	GSH	CK	AST	صفت
0/9400 ^a	1/4167	1333/8367	48/4333	242/6667	199/0000	تيمار آزمايش شاهد
1/3900 ^a	1/3267	976/3000	64/0333	467/3333	203/0000	ويتامين E واحد بين المللي IU بر كيلو گرم وزن
1/4567 ^a	1/0300	1142/5367	42/5500	413/6667	193/0000	ويتامين C گرم بر وزن
2/4633 ^b	1/4200	1316/3333	38/0567	245/6667	195/0000	ويتامين E+C
0/21050	0/07383	73/63744	149/168	74/85140	4/12586	SEM
0/026	0/199	0/296	0/431	0/683	0/874	P-Value

ميانگين هاي هر ستون كه علائم متفاوت دارند، از نظر آمري اختلاف معني دار در سطح ($p \leq 0/05$) دارند.

داري مشاهده نشده است. در مورد ويتامين C اختلاف معني داري بين تيمارهاي آزمايشي مشاهده نشده است ($P \geq 0/05$). در مورد ويتامين E اختلاف معني داري در تيمارهاي آزمايشي مشاهده شده است ($P \leq 0/05$), بيش ترين مقدار ميانگين ويتامين E مربوط به تيمار آزمايشي دريافت كننده ويتامين هاي E+C و كم ترين مقدار مربوط به تيمار آزمايشي شاهد بوده است.

در شكل هاي ۱ تا ۶، نمودار تغييرات قبل و بعد از تمرين هريك از فاكورها به طور جداگانه ترسيم شده است.

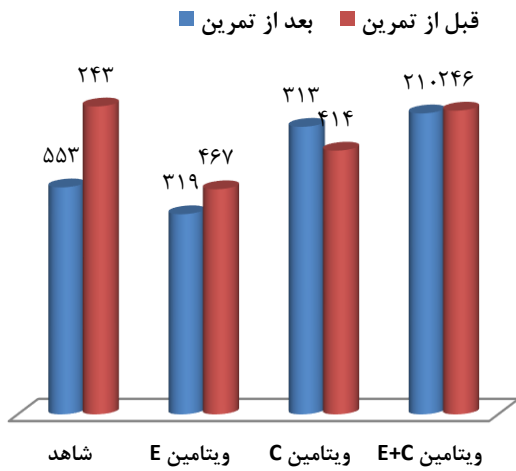
در جدول ۳ پارامترهاي مربوط به هفته سوم بعد از تمرين، بيانگر اين مطلب است، كه آنزيم اسپاراتات آمينو ترانسفراز (AST)، داراي اختلاف معني داري بين تيمارهاي آزمايشي نمي باشد ($P \geq 0/05$). در مورد آنزيم كراتين كيناز (CK) اختلاف معني داري بين تيمارهاي آزمايشي مشاهده شده است ($P \leq 0/01$) كه بيش ترين ميزان آنزيم CK در تيمار آزمايشي شاهد و كم ترين ميزان آنزيم در تيمار آزمايشي دريافت كننده ويتامين هاي E+C بوده است. در مورد آنزيم گلو تاتيون پراكسيداز (GSH) و آنزيم سوپرا اكسيد ديسموتاز (SOD) اختلاف معني

جدول ۳: پارامترهاي مربوط به هفته سوم بعد از تمرين

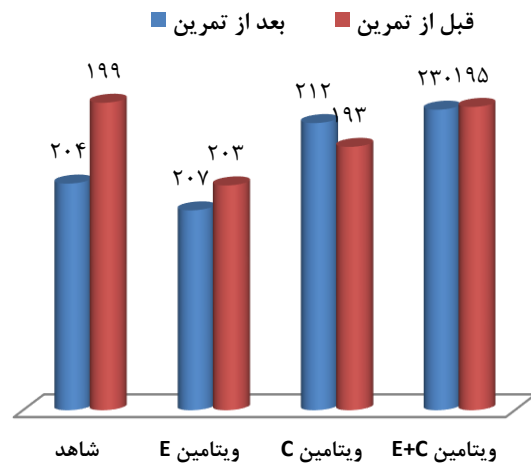
VitE	VitC	SOD	GSH	CK	AST	صفت
0/8367 ^a	1/0600	983/8367	54/9533	552/6667 ^b	204/3333	تيمار آزمايش شاهد
1/5267 ^{ab}	1/0300	867/7800	52/4333	319/3333 ^a	207/3333	ويتامين E واحد بين المللي IU بر كيلو گرم وزن
1/4333 ^{ab}	0/8500	1245/0667	42/1200	313/0000 ^a	212/3333	ويتامين C گرم بر وزن
2/2133 ^b	1/3667	1303/4367	50/1167	210/0000 ^a	230/5000	ويتامين E+C
0/18972	0/8624	89/74735	5/47763	42/01283	5/52290	SEM
0/051	0/201	0/277	0/893	0/003	0/385	P-Value

ميانگين هاي هر ستون كه علائم متفاوت دارند، از نظر آمري اختلاف معني دار در سطح $P < 0/05$ دارند.

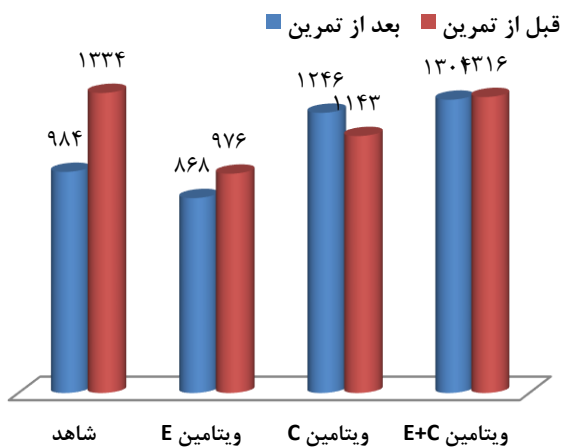




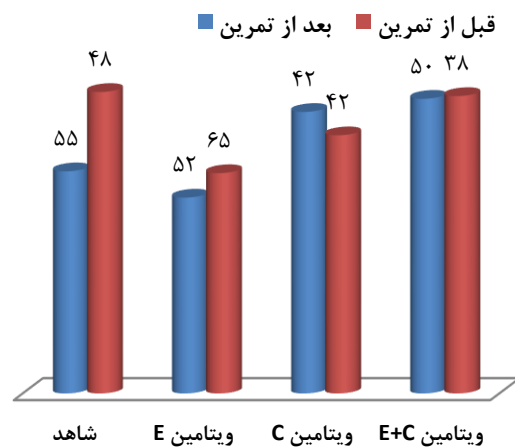
شکل ۲: نمودار تغییرات کراتین کیناز در ۴ گروه



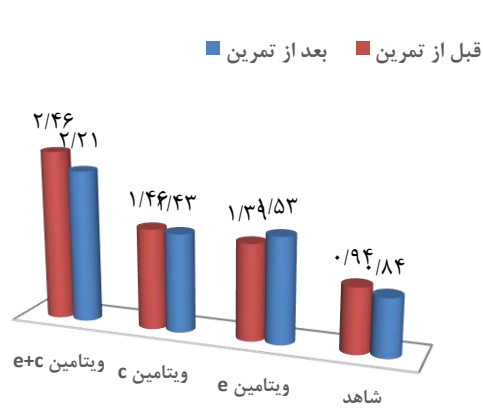
شکل ۱: نمودار تغییرات آسپارات آمینوترانسفراز در ۴ گروه



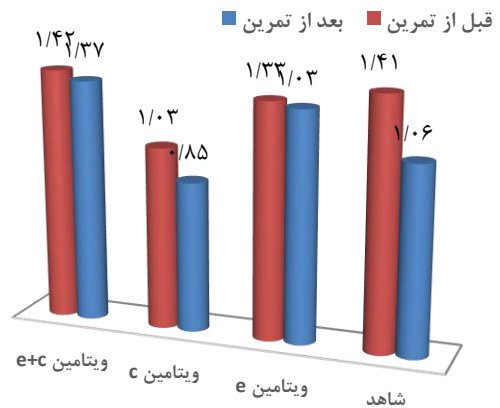
شکل ۴: نمودار سوپراکسید دیسموتاز در ۴ گروه



شکل ۳: نمودار تغییرات گلوکوتاتیون پراکسیداز در ۴ گروه



شکل ۶: نمودار تغییرات ویتامین E در ۴ گروه



شکل ۵: نمودار تغییرات ویتامین C در ۴ گروه



بحث

آنزیم‌هایی مانند SOD و GSH و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند Vit E، معمولاً از بافت‌ها در مقابل تخریب اکسیداتیو محافظت نمی‌کنند (Michiels و همکاران، ۱۹۹۴؛ Chow، ۱۹۹۱؛ Halliwell و Gutteridge، ۱۹۹۰)، اما این سیستم آنتی‌اکسیدانی افزایش تخلیه قسمتی از، گونه‌های فعال اکسیژن واکنش دهنده با اجزاء سلولی را در زمان آسیب پذیری بافتی بر عهده دارند. اگرچه به نظر می‌رسد که بافت‌ها زمانی که در فعالیت‌های سخت و شدید قرار می‌گیرند، دفاع آنتی‌اکسیدانی خود را افزایش می‌دهند (Piccion و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین اعمال و اجرای برنامه‌های آموزشی مشخص می‌تواند، با تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی در برابر ضایعات به‌وجود آمده در اثر تمرینات بدنی، راه رسیدن به قهرمانی را هموار نماید (Chiaradia و همکاران، ۱۹۹۸). نتایج حاصله از این تحقیق با نتایج آزمایش (Piccion و همکاران، ۲۰۰۷) که مقدار کراتین‌کیناز (CK) در سرم خون ۶ رأس اسب تروبرد مورد بررسی قرار دادند، مطابقت ندارد ($P \leq 0.05$).

از طرف دیگر آمار دقیق و قابل ملاحظه‌ای برای تغییرات کراتین‌کیناز (CK) در دسترس نیست، ولی به نظر می‌رسد که به دلیل از بین بردن یا کاهش طغیان ضایعات ماهیچه‌ای ایجاد شده در اثر استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش باشد. در خلال تمرینات بدنی در اسب‌ها، یک نوع حالت افزایش کراتین‌کیناز (CK) وجود دارد، که این افزایش لزوماً در اثر کمبود تمرینات مستمر یا خستگی ماهیچه‌ای ایجاد نمی‌شود (Kirschvink، ۲۰۰۸).

نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج آزمایش (Hoffman و همکاران، ۲۰۰۱) در مورد کراتین‌کیناز (CK) و اسپاراتات‌آمینوترانسفراز (AST) در انتهای دوره آزمایش مطابقت دارد. ویتامین E ساکن در چربی‌های غشاء در درجه اول اثر محافظتی روی آسیب‌های ماهیچه‌ای ناشی از ورزش در انسان و اسب دارد و این شاید به دلیل کمک کردن به ممانعت از به‌وجود آمدن پراکسیداسیون لیپیدی باشد.

Williams و همکاران (۲۰۰۸) در تحقیق بر روی ۴۶ رأس اسب (شامل ۳۵ رأس اسب عرب، ۹ رأس اسب دو خون عرب، ۱ رأس اسب تروبرد و ۱ رأس اسب گرید تایپ) با جیره غذایی یکسان، تأثیر مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی vit C و vit E بر استرس اکسیداتیو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد، آنتی‌اکسیدان‌ها در تشکیل آنزیم گلوکوتایون پروکسیداز نقش دارند (که مطابق با نتایج این تحقیق می‌باشد).

در تحقیق Williams و همکاران (۲۰۰۴)، آزمایشی بر پلاسماي خون روی فاکتورهای خونی چربی هیدروپروکسیداز، α توکوفرول، اسید اسکوربیک، آلبومین، کراتین‌کیناز (CK) و اسپاراتات‌آمینوترانسفراز (AST) صورت گرفت، نتایج نشان داد، ویتامین C در گروه E+C

معنی‌دار شد و مقدار ویتامین C بیش‌تر از گروه ویتامین E بود. نتایج نشان‌دهنده این است که آسیب ماهیچه‌ای در نتیجه آزاد شدن رادیکال‌های آزاد در اثر استرس اکسیداتیو صورت گرفته و مصرف ویتامین E به‌همراه ویتامین C تأثیر بیش‌تری بر روی کاهش تخریب استرس اکسیداتیو در اسب‌های مسابقه‌ای دارد. در تحقیقات پیشین نشان داده شده است به اندازه ۳۰۰ واحد بین‌المللی IU بر کیلوگرم وزن ویتامین E به‌صورت روزانه برای ثابت نگه‌داشتن وضعیت مناسب بدنی و به‌صورت α -توکوفرول در کنسانتره جیره اسب‌های ورزشی ضروری است (Sissilliano و همکاران، ۱۹۹۷).

در تحقیق دیگری که Balaskonis و همکاران (۲۰۱۰) در آمریکا بر روی اسب‌های استاندارد برد انجام دادند، بعد از گرفتن نمونه‌های خونی و آزمایش بر روی پلاسماي آن‌ها دریافتند که، مصرف ویتامین E تأثیر به‌سزایی در کاهش تخریب اکسیداتیو در عضله اسب‌ها داشته است (مطابق با نتایج این تحقیق است). در تحقیقی اضافه کردن ویتامین E در جیره غذایی روزانه به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در کاهش استرس اکسیداتیو در اسب‌های که تحت ورزش شدید قرار داشتند، تأثیر به‌سزایی داشت (Duberstein و همکاران، ۲۰۰۸).

نتیجه تحقیقی در آمریکا، در مورد تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها در کاهش تخریب اکسیداتیو، با استفاده از ویتامین E و سلنیوم، نشان داد که سلنیوم در افزایش جذب ویتامین E مؤثر است بوده و باعث کاهش اثر تخریب استرس اکسیداتیو (رادیکال‌های آزاد) می‌شود (Richardson و همکاران، ۲۰۰۵).

در تحقیقاتی مشابهی که انجمن مطالعه اسب در انگلستان، گروه تحقیقاتی کالج ویرجینیا انجام شد، حاکی بر اثر مثبت ویتامین E بر کاهش تخریب اکسیداتیو بوده است. در تحقیق MCMenimarl و Hintz (۱۹۹۲) در آمریکا مبنی بر اثر ویتامین E بر روی پروکسید چربی در ورزش اسب‌های نتیجه مشابهی حاصل شد. طبق نتایج McBride و Kraemer (۱۹۹۹) و Jeffcott و Kohn (۱۹۹۹) در استرالیا، ویتامین E نقش به‌سزایی در کاهش آثار تخریبی رادیکال‌های آزاد در ماهیچه‌های اسب‌های ورزشی دارند. این نتایج نشان‌دهنده این است، که آسیب ماهیچه‌ای و تجمع رادیکال آزاد در اثر استرس اکسیداتیو صورت گرفته است. زمانی که مجموع آنتی‌اکسیدان‌ها کافی نباشد، اکسیداتیو پروکسیداز می‌تواند به DNA آسیب برساند، بر روی لیپیدها تأثیر می‌گذارد و در تغییرات اصلی که شامل از بین بردن سلول‌ها یا پیری زودرس و سرطان می‌باشد، شرکت می‌کند (Piette و Harman، ۱۹۶۶). چربی‌ها مستقیماً به‌وسیله α توکوفرال، در مجاورت غشاء و به‌وسیله بقیه آنتی‌اکسیدان‌ها، که شامل اسیداسکوربیک می‌شوند، جمع‌آوری می‌گردد (Chan، ۱۹۹۳).



۱۱. Deaton, C.M., ۲۰۰۶. The role of oxidative stress in an equine model of human asthma. Redox report, Communication in Free radical research. Vol. ۱۱, pp: ۴۶-۵۲.
۱۲. Deaton, C.M.; Marlin, D.J.; Roberts, C.A., ۲۰۰۲. Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise. Eq Vet J Suppl. Vol. ۳۴, pp: ۵۸-۸۵.
۱۳. Duberstein, K.Y.; Johnson, S.E. and Owell, M.C.D., ۲۰۰۸. Protein carbonyl assay to oxidative stress in muscle of exercising horses supplement with vitamin E, Department of Animal sciences University of Florida, Gainesville, FL ۳۲۶۱۱, USA.
۱۴. Fenster, R., ۱۹۸۹. Vitamin C and stress management in poultry production, Zootec. Int. pp: ۱۶-۲۰.
۱۵. Halliwell, B.; Gutteridge, G.M. and John, M.C., ۱۹۹۹. Free radicals in Biology and medicine: third end Oxford University. Chapter ۷, ۸.
۱۶. Halliwell, B. and Gutteridge, G.M., ۱۹۹۰. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys. Vol. ۲۶۰, pp: ۱-۸.
۱۷. Harman, D. and Piette. L.H., ۱۹۹۶. Free radical theory of aging: free radical reactions in serum. J Gerontol. Vol. ۵۱, pp: ۵۶۰-۵۶۵.
۱۸. Hoffman, R.M.; Morgan, K.L.; Philips, A.; Dinger, J.E.; Zinn, S.A. and Faustman, C., ۲۰۰۱. Dietary vitamin E and Ascorbic Acid influence nutritional status of exercising Polo Ponies, Equine Nutr. Physiol. Symposium. Vol. ۱۷, pp: ۱۲۹-۱۳۰.
۱۹. Inoue, B. and kawanishi, S., ۱۹۹۵. Oxidative DNA damage induced by simultaneous generation of nitric-oxide and superoxide. FEBS Lett. Vol. ۳۷۱, pp: ۸۶-۸۸.
۲۰. Jeffcott, L.B. and Kohn, C.W., ۱۹۹۹. Contributions of equine exercise physiology research to the success of the ۱۹۹۶ Equestrian Olympic Games. Areview. Equine Vet. J. suppl. Vol. ۳۰, pp: ۳۴۷-۳۵۵.
۲۱. Karamanlioglu, B., ۲۰۰۲. Hepatobiliary scintigraphy for evaluating the hepatotoxic effects of halothane and protective effect of catechin in comparison with histon chemical analysis of liver tissue nuct Med commun jon. Vol. ۲۲, No. ۱, pp: ۵۳-۹.
۲۲. Kirschvink, N., ۲۰۰۸. The oxidant / antioxidant equilibrium in horses. The Veterinary Journal. Vol. ۱۷۷, No. ۲, pp: ۱۷۸-۱۹۱.
۲۳. McBride, I.M. and Kraemer, W.I., ۱۹۹۹. Free radicals, exercise and antioxidants. J. Strenght Cond. Res. ۱۳, pp: ۱۷۵-۱۸۳.
۲۴. MC Menimarl, N.P. and Hintz, H.F., ۱۹۹۲. Effect of vitamin E status on lipid peroxidation in exercised horses. Equine vet. J. Vol. ۲۴, pp: ۴۸۲-۴۸۴.
۲۵. Mastronardi, C.A.; and Yuw, H., ۲۰۰۱. Comparisons of the anesthesia and stress on release of tumor necrosis factor-alpha leptin, and nitric oxide in adult male rats. Exp Biol med (way wood). Vol. ۲۲۶, No. ۴, pp: ۲۹۶-۳۰۰.
۲۶. Michiels, C.M.; Raes, O. and Remacle, J., ۱۹۹۴. Importance of Seglutathione peroxidase catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. Free Radic. Biol. Med. Vol. ۱۷, pp: ۲۳۵-۲۴۸.
۲۷. Piccione, G.; Fazio, F.; Giannetto, C.; Assenza, A. and Caola, G., ۲۰۰۷. Oxidative stress in thoroughbreds during official ۱۸۰۰-metre races. Vet. Vol. ۷۷, pp: ۲۱۹-۲۲۷.
۲۸. Reitman, S. and Frankel, A.S., ۱۹۵۷. Acolorimetric method for the determination of serum glutatmic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases American Journal of Clinical Pathology. Vol. ۲۸, pp: ۵۶-۶۳.
۲۹. Siciliano, P.D.; Parker, A.L. and Lawrence, L.M., ۱۹۹۷, Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of

نتایج حاصله از این تحقیق نمایانگر تأثیر به‌سزای استفاده از ویتامین‌های E و C در کاهش آنزیم‌های AST، CK، GSH و SOD بعد از تمرین شدید ورزشی می‌باشد. در این تحقیق تأثیر ویتامین‌های E، C و ترکیبی از این دو در کاهش تنش‌های اکسیداتیو در اسبچه‌های خزر تحت آزمایش اثبات گردید. مکمل‌سازی با ویتامین‌های E و C می‌تواند وضعیت α توکوفرول و اسیداسکوربیک را در پونی‌های ورزش چوگان، بهبود بخشد، به‌خصوص در انتهای فصل مسابقه و زمانی که تمرینات طبق برنامه بیش از حد باشد. به‌طور کلی پونی‌های با فعالیت ورزشی شدید در مقایسه با گروهی با فعالیت ورزشی سبک، می‌توانند از مکمل‌های ویتامین E و C بهره‌مندی بیشتری ببرند و کارایی را در اسبان با فعالیت ورزشی سنگین بهبود می‌بخشد (Hoffman و همکاران، ۲۰۰۱).

منابع

۱. غزنوی، ر.؛ کدخدایی، م.؛ خواستار، ح. و زحمتکش، م.، ۱۳۸۵. استرس اکسیداتیو و تغییرات هیستولوژی کلیه در نفروتوکسیسیته ناشی از جنتامایسین: اثر ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران. دوره ۶۴، شماره ۵، صفحات ۱۵ تا ۲۲.
۲. گانرویج، ج.م.س.، ۱۳۷۸. آنتی‌اکسیدان‌ها در تغذیه، سلامت و بیماری. رشیدی، آ. کاراندیش، م. تهران: نشر علوم کشاورزی، صفحات ۷ تا ۲۱، ۳۵ تا ۱۰۹.
۳. میشل، م.، ۱۳۷۷. درمان طبیعی، جایگزین‌های طبیعی برای داروهای شیمیایی. ترجمه، دکتر عبدالرحیم گواهی. تهران: نشر فرهنگ اسلامی، صفحات ۳۲ تا ۴۰، ۵۸ تا ۵۹، ۱۱۰ تا ۱۱۵، ۱۳۶ تا ۱۴۱، ۱۷۰، ۱۷۱، ۲۳۶، ۲۳۷.
۴. Balaskonis, V.; Szucsik, A.; Lehnhard, H. and Kenneth, H.M., ۲۰۱۰. Effect of dietary supplements commonly used in standard bred racing on plasma total carbon dioxide. Department of Animal Science, Equine Center, Rutgers, the state University of New Jersey, New Brunswick, NJ, USA.
۵. Burton, G.W.; Joyce, C. and Ingold, K.U., ۱۹۸۲. First proof that vitamin E is major lipid soluble, chain breaking antioxidant in human blood plasma. Lancet. Vol. ۲, ۳۲۷ p.
۶. Burtan, G.W., and Ingold, K.U., ۱۹۸۹. Vitamin E asan in vivo and in vitro antioxidant Annals of the New York academy of science. Vol. ۵۷۰, pp: ۷-۲۲.
۷. Conchranc, C.G., ۱۹۹۷. Cellular injury by oxidants Amj med. Vol. ۹۲, pp: ۲۳۵-۲۵۵.
۸. Chan, A.C., ۱۹۹۳. Partners in defence, vitamin E and vitamin C. Can. J. physiol. Pharmacol. Vol. ۷۱, pp: ۷۲۵-۷۳۱.
۹. Chow, C.K., ۱۹۹۱. Vitamin E and Oxidative stress. Free Radical. Biol. Med. Vol. ۱۱, pp: ۲۱۵-۲۲۲.
۱۰. Chiaradia, E.L.; Avellini, F.; Rueca, A.; spaterna, F.; Brciello, M.T.; Antonioni, S. and Gaiti, A., ۱۹۹۸. Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in race horses. Comp.Biodem. physiol. Vol. ۱۱۹, pp: ۸۳۳-۸۳۶.



skeletal muscle in exercised horses. J. Anim. Sci. Vol. ۷۰, pp: ۱۰۵۳-۱۰۶۰.

۳۰. Szasz, G.; Gerhardt, W.; Gruber, W. and Bernt, E., ۱۹۷۶. Creatine Kinase in serum. ۲. Interference of adenylate kinase with the assay. Clin. Chem. Vol. ۲۲, pp: ۱۸۰۶-۱۸۱۲.
۳۱. Thaler, W.; Frey, L.; Marzoli, G.P. and Messmer, K., ۱۹۹۶. Assessment of splanchnic tissue oxygenation by gastric tonometry in patients undergoing laparoscopic and open cholecystectomy. Brj surg. Vol. ۶۳, No. ۵, pp: ۶۲۰-۴.
۳۲. Williams, C.A.; Kronfeld, D.S.; Hess, T.M.; Waldron, J.N.; Hoffman, M.J. and Harris, P.A., ۲۰۰۴. Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an ۸۰-km endurance race /Animal Science. Vol. ۸۲, pp: ۵۸۸-۵۹۴.
۳۳. Williams, C.A.; Gordon, M.E.; Betro, C.L. and McKeever, K.H., ۲۰۰۸. Apoptosis and antioxidant status are influenced by age and exercise training in horses/ Journal of Animal Science. Vol. ۸۶, pp: ۵۷۶-۵۸۳.
۳۴. Wrang, X. and Quinn, P.J., ۲۰۰۰. The location and function of vitamin E in membranes (review). Mol Membr Biol. Vol. ۱۷, pp: ۱۴۳-۱۵۶.
۳۵. Yug, B.P., ۱۹۹۴. Cellular defences against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev. Vol. ۷۴, pp: ۱۲۹-۱۶۲.

