

مقایسه اثر دو شیوه تمرین شنای استقامتی و مکمل ویتامین C بر بیومارکرهای تخریب کبدی رت های نر ویستار

لیلا وصالی اکبرپور^۱ - محمدعلی سمواتی شریف^{۲*}

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

(تاریخ دریافت: ۰۸/۰۷/۱۳۹۴، تاریخ تصویب: ۰۷/۱۱/۱۳۹۴)

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر حمایتی مکمل ویتامین C، بر تغییرات بیومارکرهای تخریب کبدی ناشی از تمرین شنای استقامتی و وامانده‌ساز در سرم رت‌های نر ویستار می‌باشد. بدین منظور تعداد ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار در محدوده ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم بطور تصادفی به شش گروه: ۱- وامانده‌ساز، ۲- وامانده‌ساز با ویتامین C، ۳- استقامتی، ۴- استقامتی با ویتامین C، ۵- کنترل، ۶- کنترل با ویتامین C، تقسیم شدند. در هر جلسه گروه‌های استقامتی یک ساعت، وامانده‌ساز سه ساعت، ۵ جلسه در هفته و به مدت ده هفته شنا کردند. مکمل ویتامین C (۱۰۰ mg/kg)، یک هفته پیش از شروع پروتکل تمرینی آغاز و تا پایان هفته دهم ادامه یافت. جهت برآورد شاخص‌ها ALT، AST و ALP، نمونه‌گیری خونی از سیاهرگ زیرین انجام شد. آنالیز داده‌ها توسط ANOVA یک‌طرفه، تست توکی با سطح معناداری $\alpha < 0/05$ انجام شد. نتایج نشان دادند سطوح ALT گروه وامانده‌ساز با مکمل (P=0/02) و گروه استقامتی با مکمل (P=0/005)، کاهش معناداری نسبت به گروه وامانده‌ساز داشتند. سطوح AST گروه استقامتی با مکمل نیز، در مقایسه با گروه کنترل با مکمل (P=0/03)، و گروه وامانده‌ساز (P=0/04) کاهش داشت. همچنین سطوح ALP گروه استقامتی با مکمل نسبت به گروه وامانده‌ساز کاهش یافت (P=0/02). در نتیجه مصرف مکمل ویتامین C، منجر به کاهش سطوح آسیب کبدی در گروه‌های تمرینی به خصوص تمرین استقامتی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی

شنای استقامتی، شنای وامانده‌ساز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، ویتامین C.

مقدمه

می‌تواند از طریق مهار رادیکال‌های آزاد باعث کاهش پراکسیداسیون چربی شود. بهره‌مندی از دفاع ضد-اکسایشی ناشی از فعالیت بدنی و مصرف مکمل ویتامین C، می‌تواند مانع آسیب ناشی از استرس اکسایشی بر بافت‌های حیاتی بدن مانند کبد شود (۱۶). در پژوهش‌های انجام شده در خصوص تأثیر تمرینات استقامتی بر آنزیم‌های کبدی می‌توان به پژوهش نصیری (۱۳۸۹) اشاره کرد که در این پژوهش رت‌هایی که یک جلسه تمرین وامانده-ساز داشتند، افزایش معناداری در سطوح آنزیم‌های کبدی نسبت به گروه کنترل نشان دادند. اما رت‌هایی که پس از ۸ هفته تمرین استقامتی یک وهله دوی وامانده‌ساز انجام دادند تفاوت معناداری نداشتند (۲). در پژوهش توشیو و همکاران (۲۰۰۴) نیز، میزان فعالیت آنزیم AST، با انجام ۴ هفته تمرین وامانده ساز با شدت ۲۵ متر بر دقیقه روی نوار گردان، بدون تغییر باقی ماند (۳۰). از طرفی ژوراسیک و همکاران (۲۰۰۸)، اثرات مکمل اسکوربات را بر شرایط اکسیداتیو کبدی بررسی نموده و مشاهده کردند جذب اضافی اسکوربات در یک مسیر وابسته به دوز، دفاع آنتی-اکسیدانی کبد را بهبود می‌بخشد (۱۲). کاوازا و همکاران (۲۰۰۴) نیز مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی را بر کاهش سطوح AST مشاهده کردند (۶). سطوح بالای AST و ALT سرم بلافاصله

پس از فعالیت‌هایی مانند دوچرخه‌سواری که وزن بدن حمایت می‌شود، دیده شده است. سطوح افزایش یافته ALT و AST همچنین پس از تمرینات با شدت بالا، مقاومتی و اکسنتریک مشاهده شده است (۸).

سلول‌های کبدی به عنوان سلول‌های پیچیده متابولیکی حاوی مقادیر بالایی از آنزیم‌ها هستند. آنزیم‌های سیتوپلاسمی آسپاراتات‌آمینوترانسفراز (AST)^۱ و آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT)^۲ نشانگرهای اصلی آسیب سلول کبدی می‌باشند و سطوح طبیعی آلكالین فسفاتاز (ALP)^۳ نشان دهنده تولید و ترشح کافی آلبومین برای ساخت پروتئین می‌باشد. وقتی که میزان خون رسانی به بافت کبد دچار اشکال می‌گردد، سلول دچار اختلال شده، و سطوح این آنزیم‌ها در پلاسما زیاد می‌شوند (۱۱). مطالعات متعددی افزایش فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP را بعد از انجام فعالیت‌های بدنی، گزارش داده‌اند (۲۴). افزایش فعالیت این آنزیم‌ها را می‌توان به عوامل گوناگونی نسبت داد. محققان به استثناء عوامل وراثتی و محیطی (۲۶)، چندین فرضیه از جمله هیپوکسی، استرس گرمایی، همولیز، ضایعات سلولی ایجاد شده پس از فعالیت بدنی ناشی از فرآیندهای مکانیکی، تغییرات حجم پلاسما، پراکسیداسیون ناشی از رادیکال‌های آزاد و تغییر پذیری غشاء سلولی، عنوان داشته‌اند (۲۱). سلول‌ها در شرایط طبیعی دارای سیستم‌های محافظتی جهت جلوگیری از آسیب ROS^۴ به DNA، چربی‌ها و پروتئین‌ها می‌باشند که مهم‌ترین آن‌ها، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی-اکسیدان‌های غیرآنزیمی هستند (۳۱). آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل ویتامین A، E و C و عناصر روی و سلنیوم، نقش مهمی در مهار رادیکال‌های آزاد، و پایداری غشاء سلولی دارند (۱۴). ویتامین C (اسید اسکوربیک) مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان محلول در آب است که در بخش سیتوزول و مایع خارج سلولی قرار دارد. این ویتامین مهارکننده قوی H₂O₂، ROS و OH تشکیل شده در محیط‌های آبی مانند پلاسما است (۱۶). مصرف ویتامین C

- 1 . Aspartate Aminotransferase
- 2 . Alanine Aminotransferase
- 3 . Alanine Phosphatase
- 4 . Reactive Oxygen Species

طبق مطالعات، انجام تمرینات مقاومتی شدید موجب آسیب غشای سلولی می گردد که منجر به رهایی ALT و AST به درون جریان خون می شود (۲۵). چانگ و همکاران (۱۹۹۶) در یک مطالعه ۴ هفته‌ای، در دو نوع تمرین دویدن در مسافت‌های کوتاه و متوسط نشان دادند، سطوح ALT پس از پایان هفته‌ی چهارم به طور معناداری بیشتر از هفته‌ی اول در دو گروه بود. اما پس از ۴ هفته افزایش AST فقط در گروه تمرینات کوتاه مدت دیده شد (۷). این نتیجه از موثر بودن مدت تمرین بر آسیب کبدی حمایت می‌کند. بر همین اساس، بشیری (۲۰۰۹) عنوان کرد که نوع، مدت و شدت فعالیت ورزشی می‌تواند بر رهایی این آنزیم‌ها تاثیرگذار باشد. او بیان کرد که برای ادامه ورزش‌های استقامتی طولانی مدت نیاز بیشتری به تولید انرژی از طریق دستگاه هوازی وجود دارد. از آنجایی که کبد به شدت در ورزش‌های طولانی مدت در هموستاز گلوکز (گلوکونئوژنز) فعال است، به نظر می‌رسد غشای آن بیشتر در معرض آسیب باشد (۴). بر اساس این تئوری، نوع و شدت تمرین اثر مهم و حیاتی در نشت ALT و AST به درون جریان خون دارد که می‌تواند از طریق ایجاد سازگاری در تثبیت غشای سلول‌های کبدی، از انتشار این آنزیم‌ها بکاهد (۲۷).

هنگام غوطه وری در آب و افزایش فشار هیدرواستاتیک، بازگشت وریدی و حجم پایان دیاستول افزایش می‌یابد. همچنین فعالیت گروه‌های عضلانی بزرگ‌تر جهت غلبه بر مقاومت آب، برون‌ده قلبی و تفاوت اکسیژن سرخرگ-سیاهرگی را افزایش داده که منجر به افزایش تهویه و VO_{2max} بیشتر می‌گردد (۲۲). افزایش اکسیژن مصرفی با تولید بیشتر رادیکال‌های آزاد همراه می‌باشد که در نهایت به غشای سلولی بافت‌ها از جمله کبد آسیب می‌رساند. گزارش شده که مصرف ویتامین C از طریق ایفای نقش محافظتی خود از کبد، منجر به

کاهش مارکرهای آسیب کبدی می‌گردد (۱۸)، که این ویژگی مربوط به خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ویتامین می‌باشد (۶).

بنابراین با توجه به متفاوت بودن ورزش شنا و در نظر گرفتن دو نوع پروتکل کوتاه و طولانی مدت حین مصرف مکمل ویتامین C، ممکن است نتایج متفاوتی ناشی از آسیب کبدی حین شنای استقامتی مشاهده شود، لذا هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی اثر تعامل مصرف مکمل ویتامین C و شنای استقامتی و وامانده ساز، بر سطوح آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP، می‌باشد.

روش پژوهش: پژوهش حاضر از نوع تجربی کاربردی می‌باشد که در زمستان ۱۳۹۳ در دانشکده علوم پزشکی همدان انجام گردید. آزمودنی‌های این پژوهش را تعداد ۳۶ سر رت نژاد ویستار از جنس نر و در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم تشکیل می‌دادند. رت‌ها 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 سانتیگراد و رطوبت ۱۰ تا ۲۰ درصد نگهداری شدند. آب و غذا به صورت آزادانه در اختیار آنها قرار داده شد. گروه‌های آزمایشی: رت‌ها بر اساس میانگین وزن هر قفس، به-طور تصادفی به شش گروه شش تایی تقسیم شدند: ۱_ گروه تمرین شنای استقامت ۲_ گروه تمرین شنای استقامت همراه با مصرف مکمل ویتامین C، ۳_ گروه تمرین شنای وامانده ساز، ۴_ گروه تمرین شنای وامانده ساز همراه با مصرف مکمل ویتامین C، ۵_ گروه کنترل، ۶_ گروه کنترل با مصرف مکمل ویتامین C.

هر سه سر رت به صورت جداگانه در قفس‌های پلی اتیلن نگهداری شدند. استخر شنای رت‌ها شامل یک وان برای هر گروه تمرینی، به ابعاد ۶۰×۶۰×۱۰۰ سانتی‌متر بود. درجه حرارت آب استخر در محدوده ۳۰ تا ۳۲ درجه

انجام شد. سرم‌ها توسط سانتریفیوژ (5000 rpm)، به مدت ۲۰ دقیقه جدا گردیدند و تا پایان کار در فریزر دمای ۲۰- نگه داری شدند. جهت آنالیز شیمیایی مارکرهای تخریب کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP)، از روش فتومتری (IFFC) استفاده گردید.

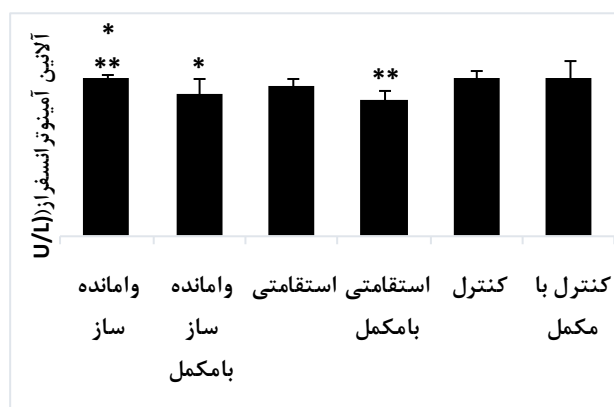
نتایج مطالعه بصورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ ارائه شدند. داده‌های به دست آمده توسط تست K-S تحت نرمال سازی قرار گرفتند. با استفاده از نسخه ۲۰ نرم افزار SPSS، سنجش فرضیه‌های پژوهش، توسط ANOVA One-Way، و گروه‌های متفاوت، توسط تست تعقیبی Tukey تعیین شدند. سطح معناداری $\alpha < 0/05$ مورد نظر قرار گرفت.

نتایج و یافته‌های پژوهش

سطوح ALT سرمی در هر دو گروه شنای استقامتی ($p=0/02$) و وامانده سازی ($p=0/05$) که مکمل ویتامین C مصرف می‌کردند، نسبت به گروه شنای وامانده ساز کاهش معناداری نشان دادند (شکل ۱).

سانتیگراد تعیین شد. پروتکل تمرینی: یک هفته تمرین شنا به منظور سازگاری رت‌ها 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، شامل ده هفته، پنج روز در هفته و یک ساعت در هر جلسه بود.

هر هفته به‌طور فزاینده، ۳۰ دقیقه به مدت زمان شنای گروه وامانده ساز افزوده شد، به طوری که از هفته پنجم تا دهم را سه ساعت در هر جلسه شنا کردند (۱۷). گروه‌های کنترل تحت شرایط محیط استاندارد آزمایشگاه (بدون فعالیت) قرار داشتند. مکمل ویتامین C بصورت پودر از شرکت سیگما خریداری شد، و با نسبت ۱۰۰ mg/kg، در ۱۰۰ ml/kg آب، محلول می‌شد. محلول مکمل ویتامین C بصورت روزانه تهیه شده و همزمان با شروع برنامه سازگاری تمرینی آغاز، و تا پایان هفته دهم ادامه یافت (۸). با توجه به نیمه عمر کوتاه AST حدود ۲۰ ساعت پس از پایان پروتکل، رت‌ها توسط گاز "پنتوباریتال سدیم" (۶۰-۵۰ mg/kg) بیهوش شدند. نمونه گیری خونی از سیاهرگ زیرین آن‌ها

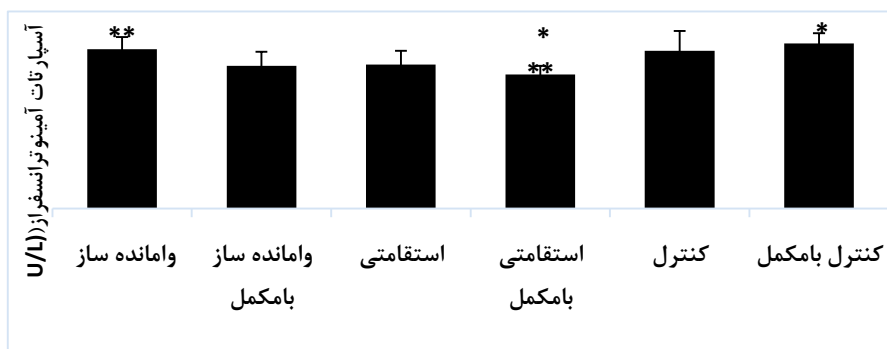


شکل ۱. مقایسه سطوح آلانین آمینوترانسفراز در گروه‌های کنترل و تجربی

*کاهش معنادار گروه وامانده ساز با مکمل در مقایسه با گروه وامانده ساز ($P=0/02$)

**کاهش معنادار گروه استقامتی با مکمل در مقایسه با گروه وامانده ساز ($P=0/05$)

سطوح AST در گروه شنای استقامتی که مکمل ویتامین C مصرف می‌کردند، نسبت به گروه کنترل با مکمل (p=۰/۰۳)، و نسبت به گروه شنای وامانده‌ساز (p=۰/۰۴)، کاهش معناداری نشان داد (شکل ۲).

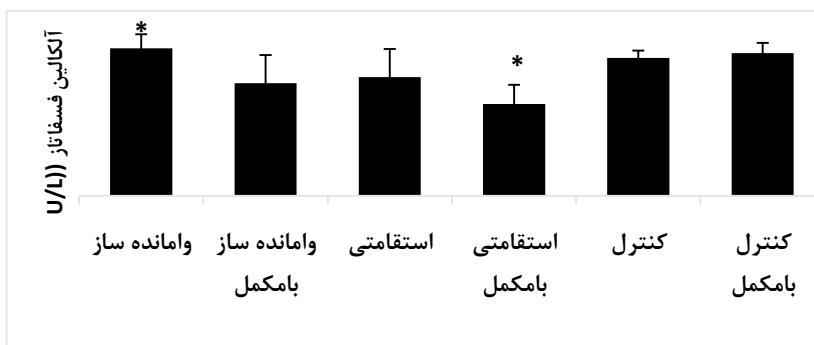


شکل ۲. مقایسه سطوح آسپاراتات آمینوترانسفراز در گروه‌های کنترل و تجربی

*کاهش معنادار گروه استقامتی با مکمل در مقایسه با گروه کنترل با مکمل (p=۰/۰۳)

**کاهش معنادار گروه استقامتی با مکمل در مقایسه با گروه وامانده ساز (p=۰/۰۴)

سطوح ALP سرمی در گروه شنای استقامتی با مکمل، نسبت به گروه شنای وامانده‌ساز کاهش معناداری نشان داد (p=۰/۰۳) (شکل ۳).



شکل ۳. مقایسه سطوح آلکالین فسفاتاز در گروه‌های کنترل و تجربی

*کاهش معنادار گروه استقامتی با مکمل در مقایسه با گروه وامانده ساز (p=۰/۰۳)

جدول شماره ۱. تغییرات سطوح ALT، AST و ALP در بین گروه‌ها

متغیر	گروه‌ها		استقامتی		وامانده‌ساز		کنترل	
	با مکمل	بدون مکمل	با مکمل	بدون مکمل	با مکمل	بدون مکمل	با مکمل	بدون مکمل
ALT	MD±SEM	۵۷/۸±۴/۲۱	۶۳/۶±۲/۹۷	۶۰/۳±۶/۲۸	۶۷/۳±۱/۷۵	۶۷/۳±۱/۷۵	۶۶/۶±۷/۷۷	۶۷/۳±۳/۲۱
AST	MD±SEM	۵۵±۳/۴۶	۵۹±۵/۶۱	۵۸/۵۰±۵/۷۹	۶۵/۳±۴/۹۷	۶۵/۳±۴/۹۷	۶۷/۶±۴/۱۶	۶۴/۶±۸/۱۴
ALP	MD±SEM	۳۵۱/۸±۶/۵۷	۳۶۱±۹/۸۲	۳۵۹±۹/۶۵	۳۷۱±۴/۸۶	۳۷۱±۴/۸۶	۳۶۹/۳±۳/۵۱	۳۶۷/۶±۲۰/۵۵

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه غلظت مارکرهای کبدی ALT، AST و ALP در سرم خون رت‌ها اندازه گیری شد. نتایج نشان دادند که گروه استقامتی با مکمل، کاهش معناداری در سطوح هر سه مارکر، نسبت به گروه وامانده‌ساز داشتند. همچنین گروه شنای وامانده‌سازی که مکمل ویتامین C مصرف می‌کردند، در مقایسه با گروه وامانده‌ساز بدون مکمل کاهش معناداری در سطوح ALT نشان دادند.

تمرینات ورزشی سنگین مانند تمرینات و مسابقاتی که ورزشکاران سطوح حرفه‌ای به ویژه شناگران انجام می‌دهند، اکسیژن مصرفی و تولید رادیکال‌های آزاد داخل سلولی را به طور قابل توجهی افزایش می‌دهند (۱۵). در صورتی که تولید رادیکال‌های آزاد از توان سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن فراتر رود ممکن است در تعادل آنتی‌اکسیدان_اکسیدان، اختلال ایجاد شود (۱۹). تمرینات منظم با شدت کم تا متوسط، آنزیم‌های تخریب کبدی را کاهش و علائم آن را بهبود می‌بخشد (۲۸)، با این حال، تمرینات طولانی مدت و با شدت بالا می‌توانند این آنزیم‌ها را افزایش دهند (۲۹). دواکی و همکاران (۲۰۱۰)، طی پژوهشی مشاهده نمودند رت‌های نر ویستار، ۴ ساعت پس از اجرای شنای ۱۵ دقیقه‌ای، هیچ گونه افزایش معناداری در سطوح سرمی آنزیم‌های AST و ALT نداشتند (۱۰). در مطالعه ای دیگر، تأثیر تمرینات منظم تداومی و تناوبی هوازی در رت‌های مسن بر روی آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP بررسی و نشان داده شد که انجام ۶ و ۱۲ هفته تمرینات تداومی و تناوبی، باعث افزایش معنادار در سطوح این آنزیم‌ها می‌شود؛ هر چند سطوح متغیرها، پس از ۱۲ هفته تمرین تناوبی کمتر از تداومی بود (۱). همچنین پادالیدو (۲۰۰۷) عنوان کرد بیش تمرینی در مقایسه با تمرین متوسط منجر به افزایش معنادار سطوح ALP و AST می‌گردد (۲۳). بنابراین به نظر می‌رسد

کاهش مارکرهای آسیب کبدی در گروه شنای استقامتی، ناشی از سازگاری در سیستم آنتی‌اکسیدانی به دنبال ده هفته انجام شنای منظم هوازی باشد. همچنین هنگام مقایسه این کاهش در گروه استقامتی نسبت به گروه وامانده ساز می‌توان عنوان کرد که اجرای کوتاه مدت تمرین استقامتی نسبت به اجرای طولانی مدت، در ایجاد سازگاری موثرتر واقع شده است.

از دلایل کاهش مارکرهای تخریب کبدی در گروه‌های با مصرف مکمل ویتامین C را می‌توان به تأثیر خاصیت ضداکسایشی این ویتامین نسبت داد. استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی در افراد با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پایین، یا کسانی که در تمرینات شدید یا طولانی مدت شرکت می‌کنند، می‌تواند آسیب اکسایشی ناشی از ورزش را از طریق کاهش استرس اکسیداتیو، در خون و عضلات بکاهد (۳). ویتامین C خاصیت محافظتی از کبد دارد که مربوط به ویژگی آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد (۶). نشان داده شده است که ویتامین C از طریق کاهش سطوح سرمی ALT و AST، نقش محافظتی از کبد را ایفا می‌کند. این خاصیت مربوط به مهار رادیکال‌های اکسیژن منفرد، سوپراکسید، هیدروکسیل و پراکسیل توسط این ویتامین می‌باشد (۲۰). همچنین اسید اسکوربیک قادر است که از ۱۰۰٪ یکپارچگی سلولی محافظت کند و آلانین ترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز را تنظیم کند (۱۳). بنابراین با توجه به اثرات مثبت این آنتی‌اکسیدان محلول در آب، می‌توان چنین استنباط نمود که تمرینات استقامتی همزمان با مصرف مکمل ویتامین C، توانسته است از تخریب کبدی بکاهد. به طور کلی نقش موثر این ویتامین را می‌توان از چند جهت در نظر گرفت: ۱_ افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بدن، ۲_ ایجاد تعادل آنتی‌اکسیدان در برابر اکسیدان، ۳_ کاهش و مهار تولید گونه‌های رادیکالی، ۴_ فعال‌سازی ویتامین E از طریق

نظر می‌رسد مصرف این مکمل آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در کاهش تخریب کبدی موثر واقع شود.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از پرسنل و مسئولان آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده علوم پزشکی و خدمات درمانی استان همدان و همه کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند صمیمانه تشکر می‌شود.

احیاء این آنتی‌اکسیدان محلول در چربی، و یا ترکیبی از موارد فوق.

نتیجه گیری کلی

در مجموع می‌توان عنوان کرد، گروه‌های تمرینی خصوصا گروه استقامتی، با مصرف مکمل ویتامین C، در مقایسه با گروه‌هایی که مکمل دریافت نمی‌کردند، موفق شدند آسیب کبدی کمتری داشته باشند. در نتیجه، به

منابع و مآخذ

۱. بزرگزاده زرنندی حسین، دبیدی روشن ولی الله. (۱۳۹۱). "تغییرات برخی از آنزیم های کبدی و سطح چربی های خون به دنبال تمرینات منظم تداومی و تناوبی هوازی در موش های مسن". مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد (۱۴) ۵، صفحه ۲۳-۱۳.
۲. نصیری زاهد مژگان، خسروی نیکو. (۱۳۸۹). "تأثیر تعاملی یک دوره تمرین استقامتی و یک جلسه تمرین وامانده‌ساز بر میزان فعالیت آنزیم‌های آسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز پلاسمایی در موش‌های صحرايي". پژوهش در علوم ورزشی شماره ۲۷، صفحه ۹۴-۸۱.
3. Ashton T, Young IS, Peters JR, Jones E, Jackson SK, Davies B, et al. (1999). **Electron spin resonance spectroscopy, exercise and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study.** J Appl Physiol; 87(6): pp: 2032-6.
4. Bashiri J, Gaeini AA, Nikbakht H. (2009). **Simultaneous Effect of talking creatine monohydrate and resistant practice on serum live enzyme activity of athletic men.** Iranian J Endocrinology & Metabolism; 12: pp:42-47. [Persian]
5. Bendich, A. (1990). **Antioxidant Micronutrients and Immune Responses,** In: Bendich and RK. Chandra Eds, Micro- nutrients and Immune Functions, Academy Sciences, New York; 170-175.
6. Cavas L, Tarhan L. (2003). **Effect of vitamin-mineral supplementation on cardiac marker and radical scavenging enzymes and MDA levels in young swimmers.** Int J Sports Nut Exerc Metab; 14(2): pp: 133-46.
7. Chuang CC, Chen WC, Lee SY, Wang KT. (1996). **The effect of blood AST, ALT and lactate after short and middle distance exercise training.** Kaohsiung J Med Sci; 12(9): pp: 544-548.
8. Clarkson PMAK, Kearns P, Rouzier R, Rubin PD, Thompson. (2006). **Serum creatine kinase levels and renal function measures in exertional muscle damage.** Med Sci Sports Exerc; 38(4): pp: 623-627.

9. Dawud FA, Eze ED, Ardja AA, Isa AS, Jimoh A, et al. (2012). **Ameliorative Effects of vitamin C and zinc in alloxan-induced diabetes and oxidative stress in wistar rats.** J Biol; 4(2): pp: 123-129.
10. Devaki M, Nirupama R, Yajurvedi HN. (2010). **Repeated acute stress alters activity of serum aminotransferases and lactate dehydrogenase in rat.** JPBS (Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences; 23(2): pp: 1-4.
11. Diaz E, Ruiz F, Hoyos I, Zubero J, Gravina L, Gil J, Irazusta J. (2010). **Cell damage, antioxidant status, and cortisol levels related to nutrition in ski mountaineering during a two-day race.** J Sports Sci med; 9(9): pp: 338-346.
12. Djurasevic SF, Djordjevic J, Drenca T, Jasnic N and Cvijic G. (2008). **Influence of Vitamin C Supplementation on the Oxidative Status of Rat Liver.** J of Arch Biol Sci Belgrade; 60(2): pp: 169-173.
13. Grajeda-Cota P, Ramírez-Mares MV, González de Mejía E. (2004). **Vitamin C Protects against in Vitro Cytotoxicity of Cypermethrin in Rat Hepatocytes.** Toxicology in vitro, Vol. 18(1); pp: 13-19.
14. Gulec M, Gurel A and Armutcu F. (2006). **Vitamin E protects against oxidative damage caused by formaldehyde in the liver and plasma of rats.** Mol cell Biochem; 290(1-2): pp: 61-67.
15. Halliwell B, Gutteridge JM. (1999). **Free radicals in biology and medicine.** 3 rded. New York: Oxford University Press Inc: PP: 290-297.
16. Jourkesh M, Sadri I, Sahranavard A, Ojagil A, Dehganpoori M. (2011). **The Effects of two different doses of Antioxidant Vitamin C Supplementation on bioenergetics index in male college student.** J Am Sci; 7(6): pp: 852-858.
17. Kilic M, Ulusoy O, Cirrik S, Hindistan IE, Ozkaya YG. (2014). **Effect of exercise intensity on cerebrospinal fluid interleukin-6 concentration during recovery from exhaustive exercise in rats.** Acta Physiol Hung; 101(1): pp: 21-31.
18. Levine M, Rumsey SC, Daruwala R, Park JB, Wang Y. (1999). **Criteria and Recommendations for Vitamin C In-take.** J Am Med Asso; 281(15): pp: 1415-1423.
19. MacRae HS, Mefferd KM. (2006). **Dietary antioxidant supplementation combined with Quercetin improve cycling time trial performance.** Int J Sport Nut Exerc Metab; 16(4): pp: 405-419.
20. Adikwu E, Deo O. (2013). **Hepatoprotective Effect of Vitamin C (Ascorbic Acid).** Pharmacology & Pharmacy; 4(1): 84-92.
21. Mena P, Mayanar M, Campillo JE. (1996). **Changes in plasma enzyme activities in professional racing cyclists.** Br J Sport Med; 30(2): pp: 122-4.
22. Obad A, Palada I, Valic Z, Ivancev V, Bakovic D, 1, Wisløff U et al. (2007). **The effects of acute oral antioxidants on diving-induced alterations in human cardiovascular function.** J Physiol; 578(pt3): pp: 859-870.
23. Padalino B, Rubino G, Centoducati P, Petazzi F. (2007). **Training versus overtraining: Evaluation of two protocols.** J Equine Vet Sci; 27(7): pp: 28-31.

24. Perry CG, Heigenhauser G J, Bonen A, Spriet LL. (2008). **High-intensity aerobic interval training increases fat and carbohydrate metabolic capacities in human skeletal muscle.** Appl Physiol Nutr Metab; 33(6): pp: 1112-23.
25. Pettersson J, Hindorf U, Persson P, Bengtsson T, Malmqvist U, Werkström V, Ekelund M. (2007). **Muscular exercise can cause highly pathological liver function tests in healthy men.** Br J Clin Pharmacol; 65(2): pp: 253-9.
26. Rahmioglu N, Andrew T, Cherkas L, Surdulescu G, Swaminatha R, Spector T, et al. (2009). **Epidemiology and Genetic Epidemiology of the Liver Function Test Proteins.** P LoS ONE; 4(1): e4435.
27. Salahshoor T, Farzanegi P, Habibian M. (2014). **Synergistic Effects of Omega 3 Supplementation and Exercise on Markers of Liver (ALP, AST, and ALT) and Muscle (LDH and CK) Damage in Male Karate Athletes.** J App Sci Agriculture; 9(1): pp: 245-249.
28. Smuts CM, Huang M, Mundy D, Plasse T, Major S, Carlson SE. (2003). **A randomized trial of docosahexaenoic acid supplementation during the third trimester of pregnancy.** Obstet Gynecol; 101(3): pp: 469-479.
29. Tartibian B, Maleki BH, Abbasi A. (2011). **Omega-3 fatty acids supplementation attenuates inflammatory markers after eccentric exercise in untrained men.** Clin J Sport Med; 21(2): pp: 131-137.
30. Toshio M, Satoshi S, Yoshitomo I, and Shigeo O. (2002). **Endurance exercise training inhibits activity of plasma GOT and liver caspase-3 of rats exposed to stress by induction of heat shock protein 70.** J Applied Physiol; 96(5): pp: 1776-1781.
31. Ucmakli E, Armutcu F and Ozturk A. (2013). **The effects of formaldehyde intoxication on the inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide level in the liver tissue of rats.** Turk J Med Sci; 43: pp: 52-56.