



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

C-vitamiinilisän vaikutus mitokondrioiden biogeneesiin kestävyysharjoittelussa

Essi Hyle

Ravitsemustieteen koulutusohjelma

Itä-Suomen yliopisto

Terveystieteiden tiedekunta

Lääketieteen laitos

Kansanterveystieteen ja kliinisen
ravitsemustieteen yksikkö

25.2.2024

Itä-Suomen yliopisto, Terveystieteiden tiedekunta

Lääketieteen laitos

Ravitsemustieteen koulutusohjelma

Hyle, Essi: C-vitamiinilisän vaikutus mitokondrioiden biogeneesiin kestävyysharjoittelussa

Opinnäytetutkielma, 45 sivua, 0 liitettä

Tutkielman ohjaaja: FT, dosentti Maria Lankinen

Helmikuu 2024

Asiasanat: antioksidanttipuolustus, C-vitamiinilisä, hapetusstressi, kestävyysharjoittelu, mitokondrioiden biogeneesi, reaktiiviset happilajit

C-vitamiini on yksi yleisimmistä ravintolisistä kestävyysurheilijoilla. C-vitamiinilisällä on kuitenkin arveltu olevan haitallisia vaikutuksia mitokondrioiden biogeneesiin eli uusien mitokondrioiden muodostamiseen ja niiden koon kasvuun. Mitokondrioiden biogeneesiä tapahtuu vasteena luustolihasen mukautumisessa kestävyysurjoitteluun. Harjoittelun aiheuttaman reaktiivisten happilajien muodostuksen tiedetään aktivoivan mitokondrioiden biogeneesiin johtavia solunsisäisiä signaalireittejä. C-vitamiini taas on antioksidantti, joka kykenee neutralisoimaan reaktiivisia happilajeja. Näin ollen C-vitamiinilisien etenkin suurilla annoksilla on arveltu vähentävän harjoittelusta johtuvan reaktiivisten happilajien määrän nousua ja tätä kautta heikentävän mitokondrioiden biogeneesin lisääntymistä kestävyysurjoittelussa.

Kirjallisuuskatsauksen tarkoituksena on selvittää C-vitamiinilisän vaikutuksia mitokondrioiden biogeneesiin kestävyysurjoittelussa ja tavoitteena on peilata tietoa kestävyysurheilua harrastavien C-vitamiinilisän käytön aiheellisuuteen. Katsaukseen valikoitui yhteensä seitsemän tutkimusta, joissa aihetta oli tutkittu ihmisillä ja rotilla. Tutkimusmenetelminä käytettiin pääasiassa mitokondrioiden biogeneesin signaaliproteiinien ja niiden lähetti-RNA:n mittausta, kun taas yhdessä tutkimuksessa mitattiin mitokondrioiden proteiinisynteesiä. Osassa tutkimuksista testattiin myös maksimaalista hapenottokykyä tai kestävyyskapasiteettia mitokondrioiden biogeneesimittausten ohella.

Yhteensä kolmessa tutkimuksessa tulokset viittasivat C-vitamiinilisän heikentävän mitokondrioiden biogeneesiä lisääntymistä. Neljässä tutkimuksessa vaikutusta ei nähty. C-vitamiinilisän vaikutukset suorituskykyyn olivat myös ristiriitaisia, eivätkä aina olleet yhtäläisiä mitokondrioiden biogeneesiä koskevien tulosten kanssa. Hyötyä C-vitamiinilisän käytöstä ei nähty. Johtopäätöksenä C-vitamiinilisän jatkuvaan käyttöön tulee suhtautua harkiten, johtuen osassa tutkimuksissa nähdystä haittavaikutuksista mitokondrioiden biogeneesiin ja kestävyys-suorituskykyyn.

Lyhenteet

AMP	adenosiinimonofosfaatti
ARE	antioksidanttivaste-elementti, antioxidant response element
ATP	adenosiinitrifosfaatti
COX	sytokromi c-oksidaasi
CS	sitraattisyntaasi
DNA	deoksiribonukleiinihappo
ERRs	oestrogen-related receptors
I-RNA	lähetti-RNA
MEF-2	myocyte enhancer factor-2
mtDNA	mitokondrioiden DNA
NAD ⁺	nikotiiniamidiadeniinidinukleotidi (hapettunut muoto)
NADH	nikotiiniamidiadeniinidinukleotidi (pelkistynyt muoto)
NF-kb	nuclear factor-kappa B
NOX	nikotiiniamidiadeniinidinukleotidifostaattioksidaasi
NRF-1	nuclear factor erythroid 1
NRF-2	nuclear factor erythroid 2
p38 MAPK	p38-mitogeneeniaktivoitunut proteiinkinaasi
PGC-1 α	peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α
PPARs	peroxisome proliferator-activated receptors
RNA	ribonukleiinihappo
ROS	reaktiiviset happilajit, reactive oxygen species
RT-PCR	käänteistranskriptaasipolymeraasiketjureaktio, reverse transcriptase polymerase chain reaction
sytC	sytokromi C
Tfam	nuclear-encoded mitochondrial transcriptionfactor A
VO ₂ max	maksimaalinen hapenotto-kyky
VO ₂ peak	huippuhapenkulutus

Sisällys

1	Johdanto.....	7
2	Kirjallisuuskatsauksen tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset.....	8
3	Kirjallisuuskatsauksen toteutus	9
4	C-vitamiini	12
4.1	Jaottelu, saantisuositukset ja lähteet	12
4.2	Imeytyminen, aineenvaihdunta ja toksisuus.....	12
4.3	C-vitamiini kestävyysurheilijoiden ravintolisänä.....	12
5	Hapetusstressi ja antioksidanttipuolustus.....	14
5.1	Reaktiiviset happilajit ja niiden syntymekanismi solussa.....	14
5.2	Reaktiivisten happilajien vaikutukset.....	16
5.3	Antioksidanttipuolustus	16
5.3.1	C-vitamiini antioksidanttipuolustuksessa.....	17
6	Kestävyysliikunta	18
6.1	Kestävyysharjoittelun vaikutukset hapetustilaan ja antioksidanttipuolustukseen.....	18
6.2	Kestävyyskunnan mittaaminen	19
7	Mitokondrioiden biogeneesi	20
7.1	Mekanismit liikuntavälitteisessä mitokondrioiden biogeneesissä	20
7.2	Mittaaminen.....	22
8	C-vitamiinilisän vaikutukset mitokondrioiden biogeneesiin kestävyysharjoittelussa	24
8.1	Tutkimusnäyttö.....	24
8.2	Yhteenveto	32

9	Pohdinta.....	34
10	Johtopäätökset ja jatkotutkimusaiheet	37

Lähteet

1 Johdanto

C-vitamiini on yleisesti käytetty ravintolisä kestävyysurheilijoilla (Heikkinen ym. 2011). Yksi syy C-vitamiinilisän käytölle on vähentää liikunnasta johtuvan hapetustilan nousua lihaksissa (Peternelj ja Coombes 2011). Hapetustilan nousu johtuu lisääntyneestä reaktiivisten happilajien (ROS, reactive oxygen species) tuotannosta solussa, mikä voi ilmetä lihasvaurioina ja -väsymyksenä (Wang ym. 2021). ROSn tiedetään kuitenkin olevan tärkeä signaalintekijä solutason harjoitusadaptaatioissa, kuten mitokondrioiden biogeneesissä (Bouviere ym. 2021). Tämän takia on arveltu, että C-vitamiinilisän kaltaiset antioksidantit voisivat vähentää liikunnanaikaisen ROSn nousua ja näin myös heikentää mitokondrioiden biogeneesiä (Kim ym. 2017).

Mitokondriot ovat soluelimiä, jotka huolehtivat ravinnosta saatavan energian muuntamisesta soluille käyttökelpoiseen muotoon aerobisessa energia-aineenvaihdunnassa (Solunetti: Mitokondrion tehtävät). Kestävyysharjoittelun myötä mitokondrioiden biogeneesi eli uusien mitokondrioiden muodostuminen jo olemassa olevista mitokondrioista sekä mitokondrioiden tilavuuden kasvu luustolihasoluissa kiihtyy (Hood ym. 2016, McQuate ja Raible 2023). Mitokondrioiden biogeneesin päävaikutus suorituskyvyn kannalta on kestävyyskapasiteetin kehittyminen (Bassett 2000).

Ravintolisiä käytetään usein turhaan ja niitä eniten käyttävät saavat usein tarpeeksi kyseistä ravintoainetta ruoasta (Valsta ym. 2018). Kilpaurheilussa on tärkeää tunnistaa ravintolisien vähäisetkin vaikutukset suoritukseen, sillä kilpailuissa pienetkin erot voivat johtaa merkittäviin eroihin sijoituksissa (Ilander ym. 2021 luku 13). Yleisesti antioksidanttilisien vaikutuksia ROS-välitteiseen solusignaalointiin ja mitokondrioiden biogeneesiin on käsitelty useammassa katsausartikkelissa (Peternelj ja Coombes 2011, Poljsak ym. 2013, Yavari ym. 2015, Bouviere ym. 2021, Azzi 2022), mutta yksittäisiä, antioksidanttikohtaisia vaikutuksia ei juurikaan ole käsitelty. Ravintolisäkohtaisten johtopäätösten tekemiseksi olisi kuitenkin tärkeää koota yhteen tutkimusnäyttöä erityisesti yleisimmin käytetyistä antioksidanttilisistä, kuten C-vitamiinista. Näin voidaan arvioida perusteita ravintolisän käytölle sekä välttyä mahdollisilta haittavaikutuksilta ja ylimääräisiltä kustannuksilta.

2 Kirjallisuuskatsauksen tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset

Kirjallisuuskatsauksen tarkoituksena on koota suomenkielistä tietoa C-vitamiinilisän vaikutuksista mitokondrioiden biogeneesiin kestävyysharjoittelussa. Tavoitteena on peilata tietoa kestävyysurheilua harrastavien C-vitamiinilisän käytön aiheellisuuteen.

Kirjallisuuskatsaus pyrkii vastaamaan seuraaviin kysymyksiin:

1. Miten C-vitamiinilisän käyttö vaikuttaa mitokondrioiden biogeneesiin kestävyysharjoittelussa verrattuna plasebon käyttöön tai ilman ravintolisää?
2. Ovatko C-vitamiinilisän mahdolliset vaikutukset mitokondrioiden biogeneesiin nähtävissä myös suorituskyvyssä?

3 Kirjallisuuskatsauksen toteutus

Tiedonhaku toteutettiin syyskuussa 2023. Tiedonhaussa ei käytetty aikarajausta. Tiedonhaussa käytettiin Cochrane-, EBSCOhost Academic Search Premier-, PubMed- ja SPORTDiscus - tietokantoja. Hakutulokset olivat suurilta osin päällekkäisiä. Tarkasteluun valittiin tutkimukset, joissa oli tutkittu C-vitamiinilisän tai C- ja E-vitamiinilisän vaikutuksia liikuntavälitteiseen mitokondrioiden biogeneesiin ihmisillä tai eläimillä. Tutkimukset, joissa käytettiin sekä C- että E-vitamiinia hyväksyttiin mukaan, koska ne täydentävät toistensa antioksidatiivista vaikutusta (Freese ym. 2021a). Pois jätettiin tutkimukset, joissa vaikutuksia oli tutkittu lihavilla, sairailta tai näytteet otettiin muusta kudoksesta kuin luustolihaksesta. Myös in vitro -kokeet jätettiin pois. Kuvaus tiedonhausta löytyy taulukosta 1 ja sisäänotto- ja poissulkukriteereistä taulukosta 2.

Taulukko 1. Tiedonhaun kuvaus

Tietokanta	Hakulauseke	Rajaukset	Hakutulos	Valitut
Cochrane	("mitochondrial biogenesis") AND (antioxidant*[Record Title] OR "vitamin c"[Record Title] OR vitamin-c[Record Title] OR "ascorbic acid"[Record Title])		3	3
EBSCOhost Academic Search Premier	("mitochondrial biogenesis") AND (antioxidant*[Title] OR "vitamin c"[Title] OR vitamin- c[Title] OR "ascorbic acid"[Title])	Tehty lihavilla	3	2
PubMed	("mitochondrial biogenesis"[Title]) AND (antioxidant*[Title] OR "vitamin c"[Title] OR vitamin-c[Title] OR "ascorbic acid"[Title])	Tehty sairaila Tutkittu muuta kuin luustolihas kudosta	38	4
SPORTDiscus	("mitochondrial biogenesis") AND (antioxidant OR "vitamin-c" OR vitamin-c OR "ascorbic acid")	Tehty lihavilla Tehty sairaila Koko tekstiin ei pääsyä Katsausartikkelit Tehty jollain muulla kuin C-vitamiinilla	53	2
Yhteensä				11
Päällekkäisyydet huomioon ottaen, valitut				7

Taulukko 2. Sisäänotto- ja poissulkukriteerit

Sisäänottokriteerit	Poissulkukriteerit
<ul style="list-style-type: none">• Tutkimus käsittelee C-vitamiinilisän vaikutusta liikuntavälitteiseen mitokondrioiden biogeneesiin• Tutkimus on julkaistu vertaisarvioidussa lehdessä• Tutkimusartikkeli on kokonaisuudessaan saatavilla Itä-Suomen yliopiston tietokantojen kautta• Julkaisukieli on englanti• Julkaisu on tieteellinen alkuperäisartikkeli	<ul style="list-style-type: none">• Julkaisu on katsausartikkeli• Tutkimus tehtiin lihavilla tai sairailta• Mitokondrioiden biogeneesiä tutkittiin muussa kudoksessa kuin luustolihasessa• Tutkimus tehtiin in vitro

4 C-vitamiini

4.1 Jaottelu, saantisuositukset ja lähteet

C-vitamiinilla tarkoitetaan askorbiinihappoa tai sen hapettunutta muotoa dehydroaskorbiinihappoa (Freese ym. 2021b). Suurin osa ravinnon C-vitamiinista on askorbiinihappona. Ihmiselimistö ei pysty tuottamaan C-vitamiinia itse, vaan sitä tarvitaan ravinnosta. C-vitamiinia saadaan kasvikunnan tuotteista (Freese ym. 2021b), mutta määrä vaihtelee paljon riippuen tuotteesta. Hyviä C-vitamiinin lähteitä ovat esimerkiksi sitrushedelmät, kiivi, mustaherukka, paprika ja kaali (Ilander ym. 2021 luku 3). C-vitamiinin saantisuositus aikuisille on 75 mg vuorokaudessa (Valtion ravitsemusneuvottelukunta 2014).

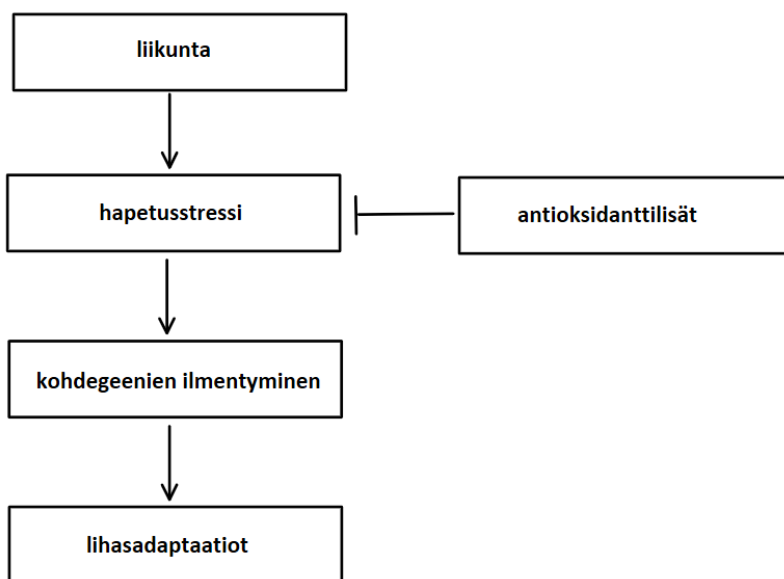
4.2 Imeytyminen, aineenvaihdunta ja toksisuus

C-vitamiinin imeytyminen tapahtuu pääasiassa ohutsuolen keskimmäisestä osasta, jejunumista (Freese ym. 2021b). Imeytyminen on tavanomaisista, ravinnosta saatavista annoksista tehokasta. Annoksen suuretessa suhteellinen imeytyminen heikkenee. Esimerkiksi 200–500 mg annoksista imeytyy enää noin 60–70 %. C-vitamiini ei vesiliukoisena vitamiinina varastoidu elimistöön, vaan ylimäärä erittyy virtsaan (Freese ym. 2021b). Yleisesti ottaen C-vitamiinia pidetään hyvin siedettynä ja sitä on käytetty niin eläin- kuin ihmistutkimuksissakin suurina annoksina ilman merkittävää toksisuutta (Mäntylä ja Vuori 1994). Suuret kerta-annokset voivat kuitenkin aiheuttaa ruoansulatuskanavan oireita, kuten ripulia ja kaasun muodostusta (Freese ym. 2021b). C-vitamiinin turvallisen saannin yläraja on 1000 mg/vrk (Schwab 2021).

4.3 C-vitamiini kestävyysurheilijoiden ravintolisänä

Heikkisen ym. (2011) tutkimuksessa 55 % suomalaisista huippukestävyysurheilijoista käytti C-vitamiinilisää vuonna 2002 ja 38 % vuonna 2009. Lisäksi C-vitamiinilisän käyttö oli yleisempää kestävyysurheilijoilla kuin muiden lajien urheilijoilla (Heikkinen ym. 2011). C-vitamiinilisällä

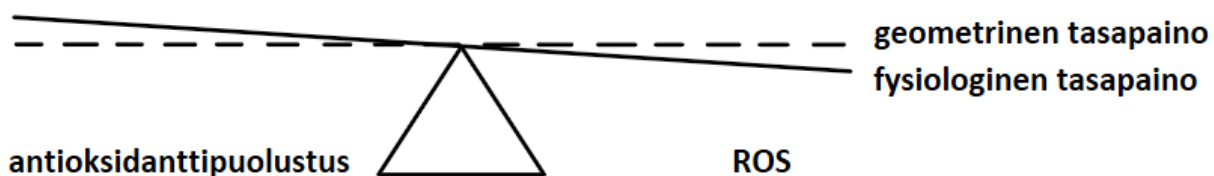
voidaan pyrkiä lisäämään antioksidanttikapasiteettia ja vähentämään harjoittelusta johtuvaa hapetusstressin nousua (Peternelj ja Coombes 2011), joista kerrotaan tarkemmin kappaleessa 5.3.1. Hapetusstressin on kuitenkin osoitettu olevan tärkeä signaalitekijä harjoitteluun sopeutumisessa (Close ym. 2006), jonka vuoksi C-vitamiinin kaltaisten antioksidanttien on arveltu heikentävän harjoittelun hyödyllisiä vaikutuksia (Kuvio 1) (Kim ym. 2017). C-vitamiinilisän hyödyistä on kohtalaisesti näyttöä ylähengitystieinfektioiden ehkäisyssä ja taudin keston lyhentämisessä urheilijoilla, mutta ei yleisessä väestössä (Ilander ym. 2021 luku 3). Tällä hetkellä C-vitamiinilisän jatkuvaa käyttöä ei suositella, sillä se voi häiritä lihasten harjoitteluun sopeutumista. Käyttöä voi kuitenkin halutessaan ajoittaa tärkeisiin ajanjaksoihin, jolloin halutaan minimoida ylähengitystieinfektioiden riski. Muutoin riittävästä C-vitamiinin saannista on hyvä huolehtia ruokavalion avulla (Ilander ym. 2021 luku 3).



Kuvio 1. Liikuntavälitteinen hapetusstressi lisää luustolihasadaptaatioita harjoitteluun. Antioksidanttilisien avulla heikentävän vaikutusta vähentämällä hapetusstressin nousua.

5 Hapetusstressi ja antioksidanttipuolustus

Hapetusstressi on seurausta normaalia suuremmasta ROS:n tuotannosta tai niiden heikentyneestä neutralisoinnista (Poljsak ym. 2013). Huolimatta sanan ”hapetusstressi” yleistyneestä käytöstä, termin tarkemmassa määritelmässä on eroja lähteestä riippuen (Mohd Sukri 2021). Tiukemmissa määrittelyissä hapetusstressiä pidetään eräänlaisena elimistön häiriötilana, kun taas laajemmissa määrittelyissä hapetusstressillä voi olla joko hyödyllisiä tai haitallisia vaikutuksia riippuen sen kestosta ja voimakkuudesta (Mohd Sukri 2021). Tässä katsauksessa hapetusstressillä ei viitata pelkästään haitalliseen tilaan, johtuen ensinnäkin siitä, että hapetusstilalle ei voida määrittää tarkkaa raja-arvoa, jolloin sen voitaisi sanoa muuttuvan haitalliseksi (Argüelles ym. 2007) ja toiseksi hapetusstressin vaurioittavat vaikutukset, kuten huonosti toimivien solujen tuhoutuminen voivat olla elimistön kokonaistilaa ajatellen hyödyllisiä (Freese ym. 2021c). Normaaliin fysiologian toimintojen kannalta elimistö suosii lievästi hapettavaa tilaa (Poljsak ym. 2013). Liialliselta hapetusstressiltä elimistö suojautuu antioksidanttipuolustuksella (Poljsak ym. 2013) (Kuva 1).



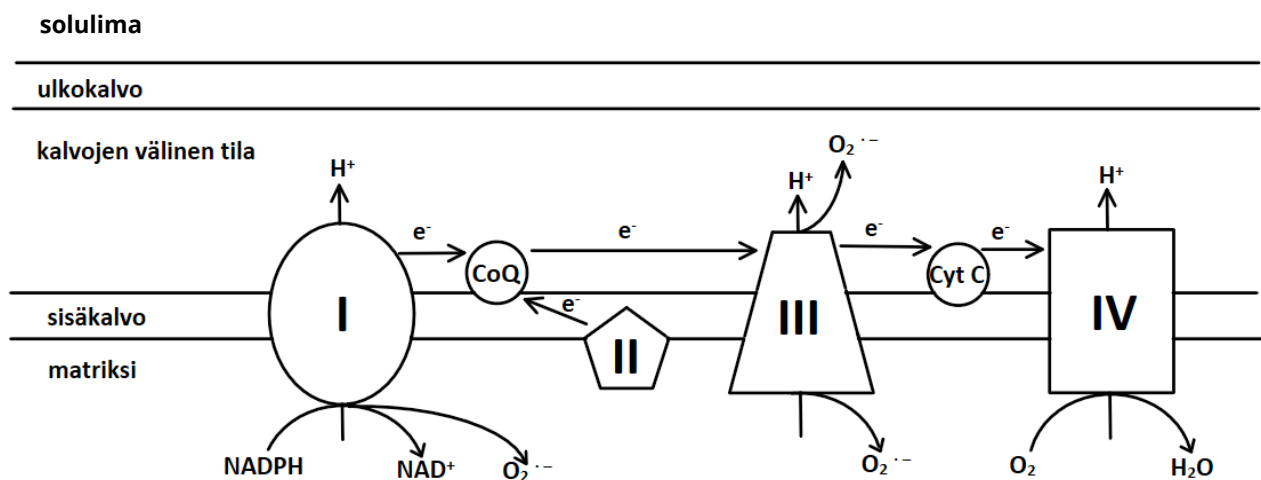
Kuva 1. ROS:n ja antioksidanttipuolustuksen optimaalinen suhde (mukaillen Poljsak ym. 2013). Fysiologinen tasapaino ROS:n ja antioksidanttipuolustuksen välillä estää ROS:n aiheuttamien vaurioiden kertymisen, mutta mahdollistaa riittävän ROS-välitteisten signaalien toiminnan.

5.1 Reaktiiviset happilajit ja niiden syntymekanismi solussa

Reaktiiviset happilajit ovat happea sisältäviä molekyyliä tai molekyylifragmentteja, jotka joko itse reagoivat herkästi elimistön makromolekyylien kanssa tai pystyvät tuottamaan muita herkästi reagoivia happilajeja (Bayr 2005, Freese ym. 2021a). Reaktiivisia happilajeja syntyy jatkuvasti elimistön normaalin aineenvaihdunnan ja ulkoisten tekijöiden vaikutuksesta. (Freese

ym. 2021 a). Keskeisiä reaktiivisia happilajeja ovat superoksidiradikaali ($O_2^{\cdot -}$), hydroksyyliiradikaali ($\cdot OH$) ja vetyperoksidi (H_2O_2) (Zuo ym. 2015).

Yksi keskeisimmistä reaktiivisten happilajien lähteistä ovat mitokondriot, joissa ROSia syntyy aerobisen aineenvaihdunnan aikana (He ym. 2017). Reaktiivisten happilajien tuotanto sijoittuu elektroninsiirtoketjuun, joka koostuu neljästä proteiinikompleksista (I, II, III, IV) (Bourens ym. 2013). Elektroninsiirtoketjussa elektroninsiirtomolekyylit kulkeutuvat vaiheittain kompleksilta toiselle. Ketjun loppupäässä happi (O_2) ottaa elektronit vastaan ja pelkistyy vedeksi. Pelkistymistä katalysoi elektroninsiirtoketjun viimeinen proteiinikompleksi, sytokromi c-oksidaasi (Bourens ym. 2013). Elektronien siirtyminen ei kuitenkaan ole täydellistä (Nolfi-Donagan ym. 2020). Reaktiivisia happilajeja syntyy, kun osa elektroneista pääsee ennen aikaisesti vuotamaan pois komplekseista, jolloin elektronit voivat reagoida hapen kanssa. Tällöin happi ei pääse pelkistymään täydellisesti, vaan muodostaa superoksidiradikaalia ($O_2^{\cdot -}$), joka voi muuttua vetyperoksidiksi (H_2O_2) (Nolfi-Donagan ym. 2020). Vetyperoksidi puolestaan on taipuvainen hajoamaan erittäin reaktiiviseksi hydroksyyliiradikaaliksi ($\cdot OH$) (Bayr 2005) (Kuva 2.).



Kuva 2. ROSn muodostus elektroninsiirtoketjussa (mukaillen Lee ja Song 2021). Elektronit (e^-) siirtyvät kompleksilta toiselle ja lopulta pelkistyvät vedeksi (H_2O). Osa elektroneista vuotaa ennen aikaisesti pois komplekseista, jolloin syntyy superoksidiradikaalia ($O_2^{\cdot -}$).

Mitokondrioita on aiemmin pidetty ROSn suurimpana lähteenä, mutta nykytiedon mukaan pääasiallisia lähteitä ovat myös peroksisomit, solulimakalvosto ja solukalvo (Zhang ja Wong

2021). Näiden soluelimien entsyymit osallistuvat ROSn tuotantoon. Nikotiinamidiadeniini-dinukleotidifostaattioksideaasit (NOX) ovat kalvoproteiineja, jotka ovat vastuussa elektronien kuljettamisesta biologisten kalvojen läpi, mikä johtaa hapen pelkistymiseen ja ROSn muodostumiseen (Prieto-Bermejo ja Hernández-Hernández 2017). NOX:eja sijaitsee solukalvoilla ja soluelinten kalvoilla (Bedard ja Krause 2007, Lambeth 2007). Soluelimistä löytyy myös lukuisia muita entsyymejä, kuten ksantiinioksideaasia, sytokromi P450 mono-oksigenaasia, myeloperoksideaasia ja syklo-oksigenaasia, jotka ovat mukana hapetus-pelkistysreaktioissa ja tuottavat ROSia (Bae ym. 2011, Battelli ym. 2015, Di Meo ym. 2016).

5.2 Reaktiivisten happilajien vaikutukset

ROSt voivat liiallisina määrinä vaurioittaa elimistön rasvahappoja, proteiineja, hiilihydraattiketjuja ja perimäainesta (DNA:ta ja RNA:ta) (Freese ym. 2021a) sekä aiheuttaa nekroosia eli hallitsematonta solukuolemaa (Zuo ym. 2015). Vauriot makromolekyyleissä ja solurakenteissa voivat johtaa erilaisiin kroonisiin sairauksiin, kuten syöpiin, keuhkosairauksiin, sydän- ja verisuonisairauksiin ja neurodegeneratiivisiin sairauksiin. Toisaalta ROSt ovat välttämättömiä monien fysiologisten vasteiden kannalta (Freese ym. 2021a). Reaktiiviset happilajit osallistuvat muun muassa kasvitekijöiden toimintaan, solujen erilaistumiseen, immunitettivasteen säätelyyn ja apoptoosin eli ohjelmoituun solukuolemaan (Freese ym. 2021a). Liikuntaharjoittelussa ROSn tuotto on hyödyllistä harjoitusvasteen aikaansaamiselle (Ilander ym. 2021 luku 10).

5.3 Antioksidanttipuolustus

Antioksidantit ovat yhdisteitä, jotka viivästyttävät tai estävät muiden yhdisteiden hapettumista (Poljsak ym. 2013). Antioksidanttipuolustuksen tehtävänä on neutraloida reaktiivisia happilajeja, keskeyttää niiden aiheuttamia reaktioita (Freese ym. 2021a) ja näin pitää elimistön hapetus- ja pelkistystilaa sopivassa suhteessa (He ym. 2017). Antioksidanttipuolustus voidaan jakaa endogeeniseen ja eksogeeniseen järjestelmään (He ym. 2017). Endogeeniseen antioksidanttipuolustukseen kuuluvat elimistön tuottamat entsyymit, kuten

superoksididismutaasi, katalaasi, glutationireduktaasi ja glutationiperoksidaasi (Hamza 2017, He ym. 2017, Freese ym. 2021a) sekä ei-entsymaattiset molekyylit, muun muassa glutationi (GSH) ja koentsyymi Q (Mohd Sukri 2021). Eksogeeninen antioksidanttipuolustus koostuu ruoan mukana saatavista antioksidanteista, kuten fenolisista yhdisteistä, flavonoideista, karotenoideista, vitamiineista (A-, C- ja E-vitamiini) ja tietyistä mineraaleista, kuten sinkistä ja seleenistä (He ym. 2017). Antioksidantit toimivat yhteisvaikutuksessa (Freese ym. 2021c).

5.3.1 C-vitamiini antioksidanttipuolustuksessa

C-vitamiini on tehokas estämään ROSn hapettavia vaikutuksia (Hamza 2017). Vesiliukoisena molekyylinä C-vitamiini voi toimia sekä solujen ulkopuolella että sisällä, jossa se suojelee lipidikalvoja ja proteiinirakenteita hapetusvaurioilta (Hamza 2017). C-vitamiinin antioksidatiivisuus perustuu sen kykyyn luovuttaa elektroneja sekä toisesta että kolmannelta hiilestään. Vapaiden radikaalien reaktiivisuus lakkaa, kun ne ottavat vastaan C-vitamiinilta elektroneja (Bindhumol ym. 2003, Rouhier ym. 2008). Tällöin C-vitamiini itse hapettuu dehydroaskorbiinihapoksi (Hamza 2017). Dehydroaskorbiinihappo voidaan palauttaa takaisin toiminnalliseen muotoonsa esimerkiksi glutationiperoksidaasin toimesta (Freese ym. 2021a).

Antioksidantteja, kuten C-vitamiinia käytetään yleisesti ravintolisinä (Poljsak ym. 2013). Kirjallisuudessa on tuotu esille kolmea erilaista mahdollista vaikutustapaa suurten annosten antioksidantti- tai C-vitamiinilisten käytössä liittyen hapetustilan muutoksiin. 1) Kun ROSn määrää vähennetään liikaa antioksidanttilisillä, voidaan menettää myös ROSn aiheuttamat hyödylliset vaikutukset. 2) Liiallinen antioksidanttilisten käyttö voi johtaa antioksidatiiviseen stressiin, joka vaurioittaa soluja (Poljsak ym. 2013). Tutkimustulokset C-vitamiinilisen vaikutuksista hapetustilaan ovat kuitenkin osittain ristiriitaisia ja kaikissa tutkimuksissa C-vitamiinilisen ei ole huomattu vaikuttavan hapetustilaan (Morrison ym. 2015, Bruns ym. 2018). Tosin hapetustilan mittareita on paljon ja niiden käyttökelpoisuuksissa on epävarmuutta (Cheng ym. 2016). 3) Suurina annoksina C-vitamiinin vaikutukset voivat kääntyä pro-oksidatiivisiksi, mutta toistaiseksi tällaisia vaikutuksia on huomattu lähinnä in vitro -malleissa (Hamza 2017).

6 Kestävyyssiikunta

Käypä hoito (2015) määrittelee kestävyysliikunnan vähintään kohtalaisesti suuria lihasryhmiä kuormittavaksi liikunnaksi, joka kestää ainakin kymmeniä minutteja yhtäjaksoisesti tai jaksoittain ja kehittää tai ylläpitää jaksamista tällaisessa liikunnassa. Kestävyysliikuntaa ovat muun muassa juoksu, pyöräily, uinti, hiihto, soutu ja reipas kävely (Kutinlahti 2021). Kestävyysliikunnalla on suotuisia vaikutuksia esimerkiksi hengitys- ja verenkiertoelimistöön sekä lihasten energiantuotantoon (Kutinlahti 2021).

6.1 Kestävyysharjoittelun vaikutukset hapetustilaan ja antioksidanttipuolustukseen

Liikunnan aikainen lihasten supistumisaktiivisuus lisää ROSn tuotantoa lihaksissa (Bouviere ym. 2021, Wang ym. 2021). On arvioitu, että aerobinen harjoittelu lisää superoksidiradikaalin tuottoa jopa kolminkertaiseksi (Sakellariou ym. 2014). Mitokondrioita pidettiin aiemmin tärkeimpänä ROSn lähteenä liikunnan aikana, kunnes huomattiin, että superoksidiradikaalin tuotanto mitokondrioissa on itseasiassa hieman pienempää fyysisen aktiivisuuden aikana kuin lepotilassa (Powers ja Jackson 2008, Kavazis ym. 2009, Sakellariou ym. 2014). Näin ollen liikunnanaikaisen ROSn tuotannon nousun arvellaan johtuvan solunsisäisistä entsyymeistä, jotka osallistuvat hapetus-pelkistystilan säätelyyn, kuten NOX:ista ja ksantiinioksidaasista (He ym. 2017). ROSn tuotanto saa aikaan hyödyllisiä vasteita liikuntaharjoitteluun sopeutumisessa, kuten mitokondrioiden biogeneesiä (Wang ym. 2021). Tosin liiallinen ROSn määrä, kuten ylirasitustilassa, on terveydelle haitallista (He ym. 2017).

Lihassupistelun tiedetään lisäävän antioksidanttipuolustusta kolmen eri transkriptiotekijän kautta, joita ovat nuclear factor erythroid 2 (NRF-2), peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1α (PGC-1α) ja nuclear factor-kappa B (NF-kb) (Bouviere ym. 2021). ROSn määrän noustessa liikunnan vaikutuksesta nämä transkriptiotekijät sitoutuvat tumassa sijaitsevaan antioksidanttivaste-elementtiin (ARE, antioxidant response element), mikä lisää endogeeniseen antioksidanttipuolustukseen osallistuvien geenien ilmentymistä (Bouviere ym. 2021).

Liikuntaharjoittelu kehittää elimistön antioksidanttipuolustusta (Wang ym. 2021), jonka vuoksi voidaankin ajatella, että harjoittelu itsessään toimii antioksidanttina aiheuttamalleen hapetustilan nousulle (Gomez-Cabrera ym. 2008).

6.2 Kestävyyuskunnan mittaaminen

Yhtenä tärkeimpänä kestävyyskunnan mittarina pidetään hapenottokykyä (Kutinlahti 2021). Maksimaalinen hapenottokyky eli $VO_2\max$ tarkoittaa elimistön kykyä ottaa, kuljettaa ja hyödyntää happea maksimaalisessa rasituksessa. $VO_2\max$ ilmoitetaan joko absoluuttisena arvona eli kuinka monta litraa happea elimistö pystyy käyttämään minuutissa (l/min) tai suhteellisena arvona, jolloin hapenottokyky ilmoitetaan millilitroina kehon painokiloa kohden (ml/kg/min) (Kutinlahti 2021). Gomez-Cabrera ym. (2018) eläin- ja ihmiskokeessa sekä Paulsenin ym. (2014) tutkimuksessa $VO_2\max$ määritettiin moniportaisella eli asteittain kiihtyvällä juoksu- tai pyöräergometritestillä. Lisäksi Morrison ym. (2015) mittasivat samalla periaatteella huippuhapenkulutusta ($VO_2\text{peak}$) eli testin aikana korkeinta mitattua hapenkulutuksen arvoa.

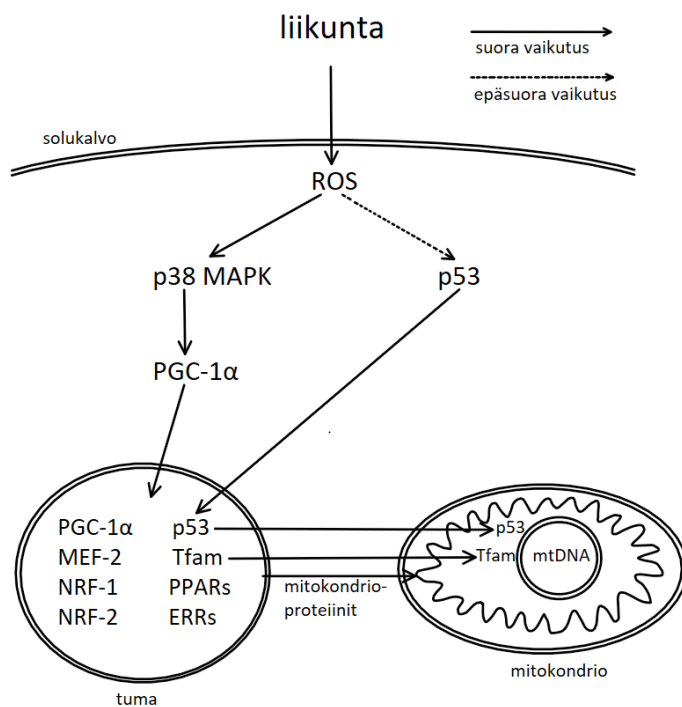
Kestävyyskapasiteetilla tarkoitetaan kykyä ylläpitää tietty tehotaso kestävyysasuorituksessa (Bassett 2000). $VO_2\max$ ei suoranaisesti kerro kestävyyskapasiteetista, sillä se ei mittaa lihasten kykyä tehdä pitkäkestoista työtä (Chandler 1994). Kestävyyskapasiteettia mitattiin Gomez-Cabrera ym. (2018) eläinkokeessa sekä Kimin ym. (2017) ja Paulsenin ym. (2014) tutkimuksissa. Testit tehtiin juosten uupumukseen asti tasavauhtisena (Gomez-Cabrera ym. 2018), kiihtyvänä (Kim ym. 2017) ja piip-testinä (Paulsen ym. 2014). Tulokset ilmoitettiin joko saavutettuna kokonaisaikana tai -matkana.

7 Mitokondrioiden biogeneesi

Mitokondriot ovat soluelimiä, jotka huolehtivat ravinnosta saatavan energian muuttamisesta soluille käyttökelpoiseen muotoon aerobisessa energia-aineenvaihdunnassa (Solunetti: Mitokondrion tehtävät). Luustolihasmitokondrioiden määrän ja koon merkitys kestävyysuorituksessa liittyy parantuneeseen rasvojen hapetuskykyyn ja hiilihydraattivarastojen säästämiseen, mikä lykkää suorituksen aikaista väsymystä (Brooks ja Mercier 1994). Luustolihasmitokondriosisältö näyttäisi olevan määräävin tekijä kestävyyskapasiteetin kannalta, kun taas VO_2 maxiin sillä on vain epäsuora vaikutus (Bassett 2000, Gomez-Cabrera ym. 2008, Lundby ja Jacobs 2016).

Mitokondrioiden biogeneesillä tarkoitetaan uusien mitokondrioiden muodostumista jo olemassa olevista mitokondrioista sekä mitokondrioiden tilavuuden kasvua (McQuate ja Raible 2023). Luustolihas mukautuu lisääntyneeseen liikuntaharjoitteluun käynnistämällä mitokondrioiden biogeneesin (Hood ym. 2016) ja voi kasvattaa mitokondrioiden tilavuustiheyttä eli osuutta lihassolutilavuudesta jopa 40 % (Montero ym. 2015). Toisaalta harjoittelu edistää myös heikosti toimivien mitokondrioiden hajoamista eli mitofagiaa, mikä nopeuttaa mitokondrioiden kiertoa (Hood ym. 2016). Näin liikuntaharjoittelu lisää hyvin toimivien mitokondrioiden suhteellista osuutta (Hood ym. 2016).

7.1 Mekanismit liikuntavälitteisessä mitokondrioiden biogeneesissä



Kuva 3. ROS-pitoisuuden muutoksen kautta tapahtuva liikuntavälitteinen mitokondrioiden biogeneesi (mukaillen Hood ym. 2016, Lundby ja Jacobs 2016). p38 MAPK: p38 mitogen-activated protein kinase; PGC-1 α : peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1- α ; MEF-2: myocyte enhancer factor-2; NRF1 ja 2: nuclear respiratory factors 1 ja 2; Tfam: nuclear-encoded mitochondrial transcription factor A; PPARs: peroxisome proliferator-activated receptors; ERRs: oestrogen-related receptors; mtDNA: mitokondrioiden DNA.

Lihasten supistumisaktiivisuus lisää mitokondrioiden biogeneesiin osallistuvien molekyylien, kuten AMP/ATP- ja NAD⁺/NADH-suhdetta sekä soluliman kalsiumin ja ROS:n määrää (Hood ym. 2016, Lundby ja Jacobs 2016). Tässä katsauksessa keskitytään mitokondrioiden biogeneesiin ROS:n lisääntymisen kautta, johtuen C-vitamiinilisän todennäköisestä vaikutuksesta juuri tähän reittiin. ROS:n pitoisuuden muutos tehostaa p38-mitogeeniaktivoitujen proteiinikinaasien (p38 MAPK) ja p53 aktiivisuutta. p38 MAPK aktivoi mitokondrioiden biogeneesin pääsäätelijänä pidettyä PGC-1 α :a. PGC-1 α siirtyy tumaan, jossa se stimuloi sekä omiensa että muiden mitokondrioproteiinien tuottoa säätelevien transkriptiotekijöiden (ERRs MEF-2, NRF-1, NRF-2, PPARs, Tfam) ilmentymistä. Myös p53 siirtyy tumaan edistämällä transkriptiotekijöiden ilmentymistä. Tuman geneististä koodatut laskostumattomat proteiinit kuljetetaan mitokondrioon, jossa ne jakautuvat eri mitokondrio-osastoihin. Mitokondrion oman genomien

ilmentyminen saadaan aikaan Tfam:n ja p53:n vaikutuksesta, jotka kulkeutuvat matriksiin ja vuorovaikuttavat mitokondrioiden DNA:n (mtDNA) kanssa edistäen transkriptiota (Hood ym. 2016, Lundby ja Jacobs 2016). Noin 99 % mitokondrioproteiineista koodataan tuman DNA:sta ja loput mitokondrioiden omasta DNA:sta (Pfanner ym. 2019). Sekä mitokondrion että tuman koodaamien mitokondrioproteiinien lisääntyminen mahdollistaa mitokondriokalvoston laajenemisen (Hood ym. 2016) (Kuva 3.).

7.2 Mittaaminen

Yleisiä kirjallisuuskatsauksen aineistossa käytettyjä merkkiaineita ovat mitokondrioiden biogeneesin signaalimolekyylit PGC-1 α , NRF-1, NRF-2 ja Tfam. Lisäksi mitokondrioiden määrää kuvaavina merkkiaineina käytetään elektroninsiirtoketjuun osallistuvia proteiineja, kuten sytokromi c-oksidaaseja (COX) ja sytokromi C:tä (cytC). Näiden merkkiaineiden lähetti-RNA-pitoisuutta (l-RNA) näytteestä voidaan mitata käänteistranskriptaasipolymeraasiketjureaktiolla (RT-PCR) (Miller ym. 2011). l-RNA:n määrät eivät kuitenkaan aina vastaa niistä ilmentyvien proteiinien määrää (Miller ja Hamilton 2012, Miller ym. 2016). Siksi tutkimuksissa käytetään immunoblot -menetelmää (kutsutaan myös nimellä Western Blot), jota käytetään proteiinien tunnistamiseen näytteestä (Mahmood ja Yang 2012). Mitokondrioiden biogeneesiä voidaan arvioida myös mitokondrioentsyymien aktiivisuudella, jota mitataan spektrofotometrillä (Morrison ym. 2015). Proteiinien tai niiden l-RNA:n mittaaminen ja entsyymiaktiivisuus ovat mitokondrioiden biogeneesin epäsuoria menetelmiä (Medeiros 2008). Bruns ym. (2018) käyttivät muista aineiston tutkimuksista poiketen suoraa menetelmää, jossa mitattiin mitokondrioiden proteiinisynteesiä (Taulukko 3). Eri mittausmenetelmien luotettavuuteen palataan kappaleessa 9.

Taulukko 3. Kirjallisuuskatsauksen tutkimusaineiston menetelmiä mitokondrioiden biogeneesin mittaamiseen.

Epäsuorat menetelmät	
Mittauksen kohde	Menetelmä
Signaalimolekyylit (PGC-1 α , Tfam, NRF-1, NRF-2)	RT-PCR (l-RNA) Immunoblot (syntyvät proteiinit)
Elektroninsiirtoketjuun osallistuvat proteiinit (COX, sytC)	RT-PCR Immunoblot
Entsyymiaktiivisuus (CS)	Spektrofotometria
Suorat menetelmät	
Proteiinisynteesin mittaus	

PGC-1 α : Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1- α ; Tfam: nuclear-encoded mitochondrial transcription factor A; NRF-1 ja -2: nuclear respiratory factors 1 ja 2; RT-PCR: käänteistranskriptaasipolymeraasiketjureaktio; COX: sytokromi c-oksidaasi; sytC: sytokromi C; CS: sitraattisyntaasi.

8 C-vitamiinilisän vaikutukset mitokondrioiden biogeneesiin kestävyysharjoittelussa

8.1 Tutkimusnäyttö

Brunsin ym. (2018) tutkimuksessa mitattiin mitokondrioiden proteiinisynteesiä vapaaehtoisen kestävyysharjoittelujakson jälkeen. Rotilla oli vapaa pääsy juoksupyörään kuuden viikon ajan. Rotat juoksivat keskimäärin kuusi kilometriä päivässä. Puolet rotista saivat C-vitamiinilisää viimeisen kolmen viikon ajan. Näytteet otettiin soleus- ja plantaris-lihaksista. C-vitamiinilisä heikensi mitokondrioiden proteiinisynteesin kiihtymistä, mutta ei vaikuttanut hapetustilaan. Tutkimus tuki käsitystä, että C-vitamiinilisä heikentää harjoituksen aiheuttamaa mitokondrioiden biogeneesin lisääntymistä (Bruns ym. 2018).

Gomez-Gabreran ym. (2008) tutkimus sisälsi rottakokeen, jossa mitattiin hapenottokykyä, kestävyyskapasiteettia ja mitokondrioiden biogeneesiä sekä ihmisillä tehdyn kaksoissokkoutetun satunnaistetun tutkimuksen, jossa mitattiin vain hapenottokykyä. Rotat jaettiin kahteen eri harjoitteluryhmään, joista molemmat harjoittelivat viidesti viikossa juoksumatolla. Toisen ryhmän rotat harjoittelivat yhteensä kolme viikkoa 25–85 minuuttia päivässä teholla 75 % VO₂maxista nostaen harjoitusaikaa 5 minuuttia joka päivä. Toisen ryhmän rotat harjoittelivat kuuden viikon ajan 85 minuuttia päivässä ennalta määritetyillä vauhdilla ja kulmalla. Kahden vuorokauden jälkeen lopputestien päättymisestä rotilta otettiin lihasnäytteet soleus- ja gastrocnemius-lihaksista. Ihmisillä tehdyssä tutkimusasetelmassa harjoiteltiin kolmesti viikossa 40 minuuttia teholla 65–80 % VO₂maxista nostaen tehoa 5 % jokaisen kahden viikon jälkeen. C-vitamiinilisä heikensi selvästi rottien kestävyyskapasiteetin kehittymistä (p = 0,014). C-vitamiinia saaneet rotat paransivat VO₂maxia 4,7 % ja rotat ilman ravintolisää 17,0 %. Tutkimustulos ihmisillä oli samansuuntainen, kun VO₂max parantui C-vitamiinia saaneilla 10,8 % ja ilman ravintolisää 22,0 %. Tulokset VO₂maxin osalta eivät olleet tilastollisesti merkitseviä. C-vitamiini ehkäisi täysin liikuntaharjoittelun aiheuttaman PGC-1-proteiinipitoisuuden nousun. Lisäksi C-vitamiini heikensi NRF-1:n ja Tfam:n l-RNA-pitoisuuksien nousua (p < 0,0001). Tämä näkyi myös syntyvien proteiinien tasolla, mutta ei tilastollisesti merkitsevästi. Sytokromi C -pitoisuus

suurentui harjoittelun myötä ($p = 0,04$), mutta ei C-vitamiinia saaneilla rotilla. C-vitamiini vähensi elimistön endogeeniseen antioksidanttipuolustukseen kuuluvien entsyymien pitoisuuksia. Johtopäätöksenä todettiin, että C-vitamiinilisä heikentää kestävyysuoritusta, koska se ehkäisee harjoittelun solutason adaptaatioita (Gomez-Cabrera ym. 2008).

Kimin ym. (2017) rottakokeessa tutkittiin C-vitamiinilisän vaikutusta kestävyyskapasiteettiin ja mitokondrioiden biogeneesin merkkiaineisiin kestävyysuorittelussa. Rotat laitettiin uimaan kolmen päivän totuttelujakson jälkeen kuusi tuntia päivässä neljän viikon ajan. Harjoittelujakson jälkeen rotat suorittivat juoksumattotestin uupumukseen asti. Näytteet otettiin triceps -lihaksesta. C-vitamiinilisällä ei ollut vaikutusta kestävyyskapasiteettiin, mitokondrioiden biogeneesin merkkiaineisiin eikä sytokromi C:n pitoisuuteen, vaikka C-vitamiini esti täysin harjoittelun aiheuttaman hapetustilan nousun. Johtopäätöksenä oli, että mitokondrioiden biogeneesi ja kestävyyskapasiteetti kehittyvät harjoittelun myötä riippumatta C-vitamiinilisästä (Kim ym. 2017).

Morrisonin ym. (2015) tutkimuksessa mitattiin antioksidanttilisän vaikutuksia kestävyysuorittelusta johtuvaan VO_2 peakin ja mitokondrioiden biogeneesin merkkiaineiden nousuun. Tutkittavat satunnaistettiin saamaan joko C- ja E-vitamiinia tai plaseboa. He tekivät pyöräergometrillä noin tunnin pituisia kovatehoisia intervalliharjoituksia kolmesti viikossa yhteensä neljä viikkoa. Samaa harjoitusta käytettiin tutkimuksen lopputestinä. Näytteet otettiin vastus lateralis -lihaksesta. C- ja E-vitamiinilla ei ollut vaikutusta VO_2 peakiin eikä luustolihasen hapetustilaan. Superoksididismutaasin entsyymiaktiivisuus nousi harjoittelun myötä merkitsevästi vain lumeryhmällä ($p < 0,05$), mutta ei ravintolisää saaneella ryhmällä. Ravintolisä heikensi Tfamin pitoisuutta ($p < 0,05$), mutta ei muita mitokondrioiden biogeneesin merkkiaineita. Johtopäätös oli, että C- ja E-vitamiini eivät vaimenna harjoittelun jälkeistä hapetusstressin nousua tai mitokondrioiden biogeneesin markkereita, mutta C- ja E-vitamiinilisä voi heikentää jotain lihasadaptaatioita, kuten superoksididismutaasin entsyymiaktiivisuutta ja Tfamin pitoisuutta (Morrison ym. 2015).

Paulsenin ym. (2014) tutkivat antioksidanttilisän vaikutuksia VO_2 maxin ja kestävyyskapasiteetin kehittymiseen sekä mitokondrioiden biogeneesiin kestävyysuorittelussa 19–30-vuotiailla

miehillä ja naisilla. Tutkittavat satunnaistettiin saamaan joko C- ja E-vitamiinia tai plaseboa 11 viikon ajan. Samalla he harjoittelivat juoksumatolla noin 1,5–2,5 h viikossa. Harjoittelu oli progressiivista ja sisälsi sekä kovatehoisia intervaleja että matalatehoista harjoittelua. Kestävyyskapasiteettia tutkittiin sukkulajuoksutestillä (piip-testi) uupumukseen asti, jonka tutkittavat suorittivat ennen ja jälkeen intervention. Molemmat ryhmät paransivat yhtä paljon sukkulajuoksutestiä. Myös $VO_2\text{max}$ -testi juoksumatolla parantui molemmilla ryhmillä yhtä paljon. Lihasnäytteet otettiin vastus lateralis -lihaksesta. C- ja E-vitamiinilisä inhiboivat hapetustilan nousua. Lihaksen COX4-pitoisuus lisääntyi vain lumeryhmällä ($p = 0,01$) ja sama trendi näkyi COX4:n l-RNA-tasoissa. PGC-1 α -pitoisuus sytosolissa suureni merkitsevästi enemmän lumeryhmällä ($p = 0,03$), mutta eroa ei nähty tuman pitoisuuksissa. Yllättävää oli, että PGC-1 α :n l-RNA lisääntyi ainoastaan ravintolisää saaneella ryhmällä. Tutkimuksen johtopäätöksenä oli, että suuret annokset C- ja E-vitamiinia voivat heikentää mitokondrioiden biogeneesiin merkkiaineiden lisääntymistä ilman vaikutusta kestävyysuorituksen (Paulsen ym. 2014).

Wadley ja McConellin (2010) rottakokeessa tutkittiin C-vitamiinilisän vaikutuksia mitokondrioiden biogeneesiin yhden harjoittelukerran jälkeen. Puolet rotista saivat C-vitamiinilisää viikon ajan, jonka jälkeen kaikki rotat suorittivat juoksumattotestin. Näyte otettiin gastrocnemius-lihaksesta. C-vitamiini lisäsi mitattujen antioksidanttientsyymien l-RNA-pitoisuuksia. C-vitamiinilla ei ollut merkitsevää vaikutusta PGC-1 α - eikä Tfam -pitoisuuksiin. Yllättävää oli, että C-vitamiini edisti NRF-1:n ja NRF-2:n l-RNA:n lisääntymistä ($p < 0,05$). Lisäksi hapetustila oli vastoin oletuksia suurempi C-vitamiiniryhmällä ($p < 0,05$). Johtopäätöksenä oli, että C-vitamiinilisä ei ehkäissyt ROSn, mitokondrioiden biogeneesiin merkkereiden tai antioksidanttipuolustuksen lisääntymistä. (Wadley ja McConell 2010).

Yada ja Matoba (2014) tutkivat C-vitamiinilisän vaikutuksia mitokondrioiden biogeneesiin kovatehoisessa kestävyysharjoittelussa. Rotat saivat C-vitamiinia joko 250 mg/kg, 500 mg/kg tai 750 mg/kg vuorokaudessa tai eivät saaneet sitä. C-vitamiinilisää annettiin kuusi viikkoa, josta neljä viikkoa rotat toteuttivat kovatehoista uintiharjoittelua. Näyte otettiin epitrochlearis-

lihaksesta. C-vitamiini ei vaikuttanut harjoittelun jälkeiseen PGC-1 α :n nousuun riippumatta C-vitamiinilisän määrästä (Yada ja Matoba 2014) (Taulukko 4).

Taulukko 4. Tutkimuksia C-vitamiinilisän vaikutuksesta mitokondrioiden biogeneesiin kestävyysharjoittelussa.

Viite	Tutkimusaineisto (n = kokonaisaineisto/tarkasteltava aineisto) Harjoittelustatus	Tutkimusasetelma	Kesto Harjoitusprotokolla	Menetelmät	Tulokset
Bruns ym. 2018	Rotat (n = 16/8)	Eläinkoe Tutkimusryhmät* 1) Harjoittelu (n = 4) 2) Harjoittelu + C-vitamiini 500 mg/kg/vrk (n = 4)	6 viikkoa harjoittelua, josta 3 viikkoa C-vitamiinilisää Vapaa pääsy juoksupyörään	Mitokondrioiden proteiinisynteesin mittaaminen	C-vitamiini heikensi mitokondrioiden biogeneesiin lisääntymistä
Gomez-Cabrera ym. 2008	Rotat (n = 36/24)	Eläinkoe Tutkimusryhmät* 1) Harjoittelu (n = 6) 2) Harjoittelu + C-vitamiini 500 mg/kg/vrk (n = 6) 3) Harjoittelu (n = 6) 4) Harjoittelu + C-vitamiini 500 mg/kg/vrk (n = 6)	3 viikkoa ryhmät 1 ja 2 6 viikkoa ryhmät 3 ja 4 Harjoittelu ryhmissä 1 ja 2: juoksumattoharjoittelu 5x25–85 min/vko 75 % VO ₂ max Harjoittelu ryhmissä 3 ja 4: juoksumattoharjoittelu 85 min/vrk	Juoksumattotesti (kestävyyskapasiteetti) (ryhmät 3 ja 4) Juoksumattotesti (VO ₂ max) RT-PCR (ryhmät 1 ja 2) Immunoblot -analyysi	Ryhmät 1 ja 2: C-vitamiini heikensi NRF-1:n (p < 0,0001) ja Tfam:n (p < 0,0001) l-RNA-pitoisuuksien nousua C-vitamiini ehkäisi täysin PGC-1:n nousun Ryhmät 3 ja 4: C-vitamiini heikensi kestävyyskapasiteetin kehittymistä (p = 0,014) VO ₂ max, Tfam ja NRF-1 eivät eronneet tilastollisesti ryhmien välillä SytC -pitoisuus lisääntyi ryhmällä 3, mutta ei ryhmällä 4 (p = 0,04)

(jatkuu)

(Taulukko 4, jatkuu)

Viite	Tutkimusaineisto (n = kokonaisaineisto/tarkasteltava aineisto) Harjoittelustatus	Tutkimusasetelma	Kesto Harjoitusprotokolla	Menetelmät	Tulokset
Gomez-Cabrera ym. 2008	27–36-vuotiaat miehet (n = 14) Harjoittelustatus: ennestään vähän liikkuvia	Kaksoissokkoutettu satunnaistettu tutkimus Tutkimusryhmät 1) Harjoittelu (n = 9) 2) Harjoittelu + C-vitamiini 1000 mg/vrk (n = 5)	8 viikkoa Pyöräergometriharjoittelu 3x40 min/vko 65–80 % VO ₂ max	Pyöräergometritesti	VO ₂ max ei eronnut tilastollisesti merkitsevästi ryhmien välillä
Kim ym. 2017	Rotat (n = 24/12)	Eläinkoe Tutkimusryhmät* 1) Harjoittelu + kuljetin (n = 6) 2) Harjoittelu + C-vitamiini 500 mg/kg (n = 6)	8 viikkoa Uintiharjoittelu 5x10min–2x3 h/pvä neljän viikon ajan	Juoksumattotesti Immunoblot -analyysi	Kestävyyskapasiteetti, PGC-1 α , Tfam, NRF-1, sytC, COX1 ja COX4 eivät eronneet tilastollisesti merkitsevästi ryhmien välillä
Morrison ym. 2015	18–35-vuotiaat miehet (n = 11)	Kaksoissokkoutettu satunnaistettu tutkimus Tutkimusryhmät 1) Harjoittelu + plasebo (n = 5) 2) Harjoittelu + C-vitamiini 2x500 mg/vrk + E-vitamiini 400 IU/vrk (n = 6)	8 viikkoa ravintolisien käyttöä, josta 4 viikkoa harjoittelua Pyöräergometriharjoittelu 3x/vko 10x4 min 90 % VO ₂ peak neljän viikon ajan	Pyöräergometritesti RT-PCR Immunoblot -analyysi Spektrofotometria	C-vitamiini heikensi Tfam-pitoisuuden lisääntymistä (p < 0,05) VO ₂ peak, PGC-1 α (l-RNA) Tfam (l-RNA) COX4 (l-RNA), Tfam, COX4 ja CS-aktiivisuus eivät eronneet tilastollisesti merkitsevästi ryhmien välillä

(jatkuu)

(Taulukko 4, jatkuu)

Viite	Tutkimusaineisto (n = kokonaisaineisto/tarkasteltava aineisto) Harjoittelustatus	Tutkimusasetelma	Kesto Harjoitusprotokolla	Menetelmät	Tulokset
Paulsen ym. 2014	19–30-vuotiaat miehet ja naiset (n = 54) Harjoittelustatus: kestävyysharjoittelua (pääasiassa juoksua ja pyöräilyä) 1–4 kertaa viikossa 6 kuukauden ajan (n = 40) ja harjoittelemattomia (n = 14)	Kaksoissokkoutettu satunnaistettu tutkimus Tutkimusryhmät 1) Harjoittelu + plasebo (n = 27) 2) Harjoittelu + C-vitamiini 1000 mg/vrk + E-vitamiini 235 mg/vrk (n = 27)	11 viikkoa Juoksumattoharjoittelu Viikot 1–3: 30 min, 4 x 4 min, 45–60 min Viikot 4–8: 30 min, 5 x 4 min, 60 min, 4 x 6 min Viikot 9–11: 30 min, 6 x 4 min, 60 min, 5 x 6 min 72–90 % HRmax	Juoksumattotesti Sukkulajuoksutesti (piip -testi) RT-PCR (vain ennestään harjoitteleville) Immunoblot -analyysi (vain ennestään harjoitteleville)	COX4 lisääntyi vain ryhmällä 1 (p = 0,01) C-vitamiini heikensi PGC-1 α :n pitoisuuden lisääntymistä sytosolissa (p = 0,03) VO ₂ max, kestävyyskapasiteetti, PGC-1 α (l-RNA) ja COX4 (l-RNA) eivät eronneet tilastollisesti merkitsevästi ryhmien välillä
Wadley ja McConell 2010	Rotat (n = 24/16)	Eläinkoe Tutkimusryhmät* 1) Juoksumattotesti 60 min + näytteenotto heti (n = 8) 2) Juoksumattotesti 60 min + näytteenotto 4 tunnin kuluttua (n = 8) • Puolet saivat C-vitamiinia 500 mg/kg/vrk	1 viikko Intervention päätteeksi yksi harjoitus juoksumatolla.	RT-PCR	C-vitamiini edisti NRF-1:n ja NRF-2:n l-RNA-pitoisuuksien lisääntymistä (p < 0,05) PGC-1 α (l-RNA) ja Tfam (l-RNA) eivät eronneet tilastollisesti merkitsevästi C-vitamiinia saaneilla verrattuna ei-C-vitamiinia saaneihin

(jatkuu)

(Taulukko 4, jatkuu)

Viite	Tutkimusaineisto (n = kokonaisaineisto/tarkasteltava aineisto) Harjoittelustatus	Tutkimusasetelma	Kesto Harjoitusprotokolla	Menetelmät	Tulokset
Yada ja Matoba 2014	Rotat (n = 33/27)	Eläinkoe Tutkimusryhmät* 1) Harjoittelu (n = 7) 2) Harjoittelu + C-vitamiini 250 mg/kg/vrk (n = 6) 3) Harjoittelu + C-vitamiini 500 mg/kg/vrk (n = 7) 4) Harjoittelu + C-vitamiini 750 mg/kg/vrk (n = 7)	6 viikkoa Uintiharjoittelu 4 viikkoa 5x/vko 3-12 x 20s	Immunoblot -analyysi	PGC-1 α ja CS-aktiivisuus eivät eronneet tilastollisesti merkitsevästi ryhmien välillä

Lyhenteet: mg: milligramma; kg: kilogramma; vrk: vuorokausi; min: minuutti; vko: viikko; VO₂max: maksimaalinen hapenottokyky; RT-PCR: käänteistranskriptaasipolymeraasiketjureaktio; NRF-1: nuclear factor erythroid 1; Tfam: nuclear-encoded mitochondrial transcriptionfactor A; l-RNA: lähetti-RNA; PGC-1: peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1; SytC: sytokromi C; IU: kansainvälinen yksikkö; VO₂peak: huippuhapenkulutus; PGC-1 α : peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α ; COX4: sytokromi c-oksidaasi alayksikkö 4; CS: sitraattisyntaasi; HRmax: maksimisyke; NRF-2: nuclear factor erythroid 2; s: sekunti.

*Tutkimuskysymysten kannalta epärelevanttejä ryhmiä ei raportoida tässä.

8.2 Yhteenveto

Yhteensä kolmessa tutkimuksessa tulokset viittasivat C-vitamiinilisän heikentävän mitokondrioiden biogeneesin lisääntymistä (Gomez-Cabrera ym. 2008, Paulsen ym. 2014, Bruns ym. 2018). Näistä Paulsenin ym. (2014) tutkimuksessa C-vitamiinilisän kanssa käytettiin myös E-vitamiinilisää. Gomez-Cabreran ym. (2008) ja Paulsenin ym. (2014) tutkimuksissa mitokondrioiden biogeneesin pääsäätelijänä pidetyn PGC-1-proteiinin pitoisuudet olivat pienempiä ravintolisää saaneilla ryhmillä. Erikoista kuitenkin oli, että Paulsenin ym. (2014) tutkimuksessa ei havaittu vaikutusta PGC-1 α :n l-RNA-pitoisuuteen. Brunsin ym. (2018) tutkimuksessa mitokondrioiden biogeneesiä arvioitiin mittaamalla mitokondrioiden proteiinisynteesiä, joka oli nopeampaa ilman C-vitamiinilisää.

Gomez-Gabreran ym. (2008) tutkimuksessa C-vitamiinilisä vaikutti myös suorituskykyyn. Rottakokeessa kestävyyskapasiteetin kehittyminen oli vähäisempää C-vitamiinilisää saaneilla rotilla verrattuna rottiin, jotka eivät saaneet C-vitamiinilisää ($p = 0,014$). Lisäksi VO₂max kasvoi 12,3 % enemmän rotilla, jotka eivät saaneet C-vitamiinilisää ja 11,2 % enemmän ihmisillä, jotka eivät saaneet C-vitamiinilisää verrattuna C-vitamiinilisää saaneisiin. Tulokset VO₂maxin osalta eivät kuitenkaan riittäneet tilastollisesti merkitseviin eroihin (Gomez-Gabrera ym. 2008). Huolimatta siitä, että Paulsenin ym. (2014) tutkimuksessa C-vitamiinilisä heikensi mitokondrioiden biogeneesin merkkiaineiden lisääntymistä, sillä ei nähty vaikutuksia kestävyyskapasiteettiin tai VO₂maxiin.

Neljässä tutkimuksessa tutkimuksessa C-vitamiinilisän ei nähty vaikuttavan mitokondrioiden biogeneesiin (Kim ym. 2017, Morrison ym. 2015, Wadley ja McConell 2010, Yada ja Matoba 2014). Missään näistä tutkimuksista C-vitamiinilisä ei vaikuttanut PGC-1 α :n tai sen l-RNA:n pitoisuuksiin. C-vitamiinilisä ei heikentänyt myöskään muiden merkkiaineiden nousua lukuun ottamatta Morrisonin ym. (2015) tutkimusta, jossa se heikensi Tfam-pitoisuuden lisääntymistä ($p < 0,05$). Yllättävää oli, että Wadleyn ja McConellin (2010) tutkimuksessa C-vitamiinilisä edisti NRF-1:n ja

NRF-2:n l-RNA-pitoisuuksien lisääntymistä ($p < 0,05$). Kimin ym. (2017) ja Morrisonin ym. (2015) tutkimuksissa C-vitamiinilisällä ei ollut vaikutusta kestävyyskapasiteettiin (Kim ym. 2017) eikä VO_2 peakiin (Morrison ym. 2015).

Tulosten ristiriitaisuudelle ei löydy selittävää tekijää tarkasteltaessa C-vitamiinilisän vaikutuksia hapetustilaan tai antioksidanttipuolustukseen. Näitä ei kuitenkaan mitattu kaikissa tutkimuksissa, joka hankaloittaa tarkastelua jo valmiiksi pienessä aineistossa. Teoriassa antioksidanttilisien ajatellaan lieventävän harjoittelun aiheuttamaa hapetustilan nousua, jonka takia ROSn signaloima mitokondrioiden biogeneesi heikentyisi (Kim ym. 2017). Brunsin ym. (2018) tutkimus viittasi C-vitamiinin heikentävän mitokondrioiden biogeneesiä, vaikka hapetustilassa ei nähty lieventymistä. Kimin ym. (2017) tutkimuksessa C-vitamiinilisä esti hapetustilan nousun täysin, mutta silti vaikutusta ei nähty mitokondrioiden biogeneesissä. Morrison ym. (2015) tutkimuksessa vaikutusta ei nähty kumpaakaan. Antioksidanttilisien arvellaan heikentävän endogeenistä antioksidanttipuolustusta, joka normaalisti estäisi harjoittelunaikaisen liiallisen ROSn lisääntymisen, mutta pitäisi sen kuitenkin riittävällä tasolla mitokondrioiden biogeneesin mahdollistamiseksi (Poljsak ym. 2013). C-vitamiinilisä vähensi endogeeniseen antioksidanttipuolustukseen kuuluvien entsyymien määrän nousua Morrisonin ym. (2015) tutkimuksessa ja esti niiden nousun täysin Gomez-Cabreran (2008) tutkimuksessa. Wadley ja McConellin (2010) tutkimuksessa C-vitamiinilla ei nähty vaikutuksia endogeeniseen antioksidanttipuolustukseen. Edellä mainittujen lisäksi myöskään lihasnäytteen kohdelihaksella tai C-vitamiinilisän annostuksella ei näy merkitystä tulosten kannalta.

9 Pohdinta

Tämän kirjallisuuskatsauksen tarkoituksena oli saada tietoa C-vitamiinilisän vaikutuksesta mitokondrioiden biogeneesiin kestävyysharjoittelussa ja tavoitteena oli peilata tietoa kestävyysurheilua harrastavien C-vitamiinilisän käytön aiheellisuuteen. Kestävyyskapasiteetin kehittyminen on käytännön vaste mitokondrioiden biogeneesille. Sen vuoksi tarkastelussa otettiin huomioon myös suorituskykytestaukset, mikäli niitä oli mitattu. Tutkimustulokset C-vitamiinilisän vaikutuksista mitokondrioiden biogeneesiin ja suorituskykyyn ovat ristiriitaisia niin tutkimusten välillä kuin tutkimusten sisälläkin. Osassa tutkimuksista C-vitamiinilisän käyttö heikensi mitokondrioiden biogeneesin lisääntymistä, ja osassa sillä ei ollut vaikutusta. Vaikutukset mitatun merkkiaineen l-RNA- ja proteiinipitoisuuteen eivät aina olleet linjassa toistensa kanssa ja vaikutuksia ei välttämättä nähty suorituskyvyssä, vaikka niitä nähtiin biogeneesin merkkiaineissa. Sen sijaan hyötyä C-vitamiinilisän käytöstä ei näytä olevan.

Tutkimusten vähäisyys ja otoskokojen pienuus loivat haasteita aineiston analysoinnissa. Laajasta tiedonhaun prosessista huolimatta kirjallisuuskatsaukseen valikoitui vain seitsemän aiheen tutkimusta. Tutkimukset olivat kestoaltaan keskimäärin 6,75 viikkoa. Ravintolisien vaikutukset liikuntaharjoittelussa ovat usein hyvin vähäisiä, jonka vuoksi tarvittaisiin suuret otoskoot ja pitkäkestoiset interventiot näiden pienten, mutta urheilussa merkittävien erojen löytämiseksi.

Suurin osa tutkimuksista oli tehty rotilla, jotka eroavat fysiologisilta ominaisuuksiltaan ihmisistä. C-vitamiiniin liittyvän tutkimuksen kannalta yksi rottatutkimusten heikkous on siinä, että rotat kykenevät tuottamaan C-vitamiinia itse toisin kuin ihmiset (Wadley ja McConell 2010). Rotille annetut C-vitamiinimäärät olivat suuria, pääsääntöisesti 500 mg/kg/vrk, eivätkä millään tasolla vastaa ihmisten C-vitamiinin käyttöä. On mahdollista, että liian suuret määrät myös aiheuttavat sivuoireita ja vääristävät tuloksia. Antioksidanttivaikutusten ja hapetusstressin tutkiminen ei kuitenkaan ole helppoa elävissä elimistössä (Freese ym. 2021b), mikä lienee syynä rottien käyttöön, jotka lopetetaan interventioiden jälkeen. Toinen eläinkokeiden vahvuus on tutkittavien samankaltaisuudessa. Aiheen tutkiminen on kuitenkin mahdollista, vertailukelpoisempaa ja eettisempää ihmisillä, mikä antaa vasta-aihetta rottakokeiden käytölle.

Tutkimusmenetelmänä käytettiin pääasiassa mitokondrioiden biogeneesin merkkiaineiden, erityisesti PGC-1a:n mittausta, mikä mahdollisti tulosten vertailua. Sen sijaan proteiinisynteesin mittausta käytettiin vain yhdessä tutkimuksessa, jolloin sille ei ollut vertailukohtaa. Harjoitusprotokollat vaihtelivat paljon etenkin kestoiltaan ja tehoiltaan, jolloin myöskään niitä ei voitu vertailla keskenään. Osassa tutkimuksissa haasteen loi myös monta eri tutkimusryhmää, jolloin tuloksissa ei aina raportoitu tilastollisia arvoja C-vitamiinia saaneiden harjoitteluiden ja ilman C-vitamiinia harjoitteluiden ryhmien välille, vaan vertailu tehtiin esimerkiksi vain kontrolliryhmään (ei harjoittelua ja ei C-vitamiinia). Otoksen jakaminen moneen eri tutkimusryhmään myös väistämättä heikensi tilastollista voimaa osassa tutkimuksissa ryhmäkokojen muodostuttua niin pieniksi.

Mitokondrioiden biogeneesiä voidaan mitata usealla eri tavalla, mutta toistaiseksi ei voida nimetä yhtä luotettavinta menetelmää (Bishop ym. 2019). Epäsuorat menetelmät voivat kertoa siitä, että mitokondrioiden biogeneesi on aktivoitunut, mutta eivät välttämättä kerro suoraan lopputulemasta eli siitä, kuinka paljon mitokondriosisältöä lopulta syntyi (Bishop ym. 2019). Tämän vuoksi Bruns ym. (2018) käyttivät tutkimuksessaan proteiinisynteesin suoraa mittausta. Bishopin ym. (2019) mukaan on kuitenkin epäselvää, voidaanko mitokondrioproteiinisynteesin mittauksenaikaisesta muutoksesta vetää suoria johtopäätöksiä lihasten myöhempään mitokondriosisältöön, sillä esimerkiksi lihasproteiinisynteesin nopeutumisen ei aina ole havaittu olevan yhteydessä myöhempään lihasmassan määrään (Mayhew ym. 2009, Mitchell ym. 2014). Huomionarvoista on myös se, että edellä mainitut menetelmät mittaavat mitokondrioiden biogeneesiä, eivätkä niiden toimintakykyä tai vaihtuvuutta (Bishop ym. 2019), mitkä todennäköisesti ovat tärkeitä tekijöitä kestävyyskapasiteetin kannalta.

Osassa tutkimuksista tehtiin mitokondrioiden biogeneesin mittauksen lisäksi suorituskykytestit, jotka täydensivät tuloksia aiheen käytännön merkittävyyden kannalta. $VO_2\max$ on yleisimmin käytetty kestävyyskunnan mittari ja sitä käytettiin myös Gomez-Cabreran ym. (2008) ja Paulsenin ym. (2014) tutkimuksissa sekä lisäksi Morrison ym. (2015) käyttivät $VO_2\text{peakin}$ mittausta. Hapenottokykyyn vaikuttavat mitokondrioiden lisäksi kuitenkin monet tekijät, kuten keuhkojen

diffuusiokapasiteetti, sydämen minuuttitilavuus ja veren hapenkuljetuskapasiteetti (Bassett 2000). Näin ollen $VO_2\text{max}$ ei välttämättä ole paras mittari kuvaamaan mitokondrioiden biogeneesin vaikutusta kestävyysuoritukseen. Sen sijaan mitokondrioiden biogeneesin päävaikutuksena on kehittää kestävyyskapasiteettia eli kykyä pitää yllä tietty tehotaso kestävyysuorituksessa (Bassett 2000), jolloin testit tulisi valita sen mukaisesti. Toisaalta moniportaisesta $VO_2\text{max}$ -testistä voitaisiin pelkän $VO_2\text{max}$ -arvon sijaan raportoida myös laktaattikynnykset, joiden perusteella voitaisiin arvioida mitokondrioiden biogeneesin vaikutuksia alempiin tehoalueisiin.

C-vitamiinilla ei nähty vaikutusta mitokondrioiden biogeneesiin tai hapetustilaan kaikissa tutkimuksissa. On mahdollista, että soluilla on homeostaattisia mekanismeja, jotka pitävät antioksidanttikapasiteettia tietyissä rajoissa (Verhaegen ym. 1995). Yksittäisen antioksidanttipitoisuuden lisääminen voi näin aiheuttaa kompensoivia muutoksia muiden antioksidanttien tasoissa, jolloin kokonaisantioksidanttikapasiteetti säilyy ennallaan (Verhaegen ym. 1995). Näin ollen pelkän C-vitamiinilisän nauttiminen ei välttämättä vaikuta merkittävästi ROSn määrään, milloin vaikutuksia ei nähdä myöskään mitokondrioiden biogeneesissä.

Kestävyysharjoittelun tiedetään ROSn lisäksi lisäävän muidenkin mitokondrioiden biogeneesiin osallistuvien molekyylien määrää, kuten soluliman kalsiumia sekä AMP/ATP- ja $NAD^+/NADH$ -suhdetta. Voi olla, että ROSn nousu ei siis aina ole välttämätöntä mitokondrioiden biogeneesin alkamiseksi tai on olemassa joitain muita mekanismeja, jotka kompensoivat mitokondrioiden biogeneesiin kohdistuvia haitallisia vaikutuksia.

10 Johtopäätökset ja jatkotutkimusaiheet

Tämän kirjallisuuskatsauksen perusteella C-vitamiinilisästä ei ole hyötyä kestävyysharjoittelussa mitokondrioiden biogeneesin kannalta. Sen sijaan C-vitamiinilisä saattaa haitata mitokondrioiden biogeneesiä, mutta vaikutusta ei nähty kaikissa tutkimuksissa. ROS:n hyödyllinen rooli solusignaaloinnissa ja antioksidanttikapasiteetin kehittyminen kestävyysharjoittelussa puoltavat sitä, ettei C-vitamiinilisää ole tarpeen käyttää neutralisoimaan harjoittelun myötä kohonnutta ROS-tasoa. Näin ollen etenkin jatkuvaan C-vitamiinilisän käyttöön tulee suhtautua harkiten.

Ensisijaisesti aiheesta tarvitaan lisää perustutkimusta. Mitokondrioiden biogeneesi on monimutkainen sarja erilaisia ketjureaktioita, joiden tarkempi tunteminen auttaisi selvittämään mahdollisia vaihtoehtoisia biogeneesiin johtavia reittejä, kun yhtä mekanismia häiritään. Samoin C-vitamiinilisän vaikutukset kokonaisantioksidanttipuolustuksen ja hapetustilan kannalta eivät ole täysin selviä ja vaativat lisää tutkimusta. Tutkimusmenetelmien osalta tulisi tunnistaa parhaiten mitokondrioiden biogeneesiä ja hapetustilaa kuvaavat mittarit. Suorituskykytestausten tulisi kuvata nimenomaan mitokondriovaikutuksia, jotka korreloivat pääasiassa kestävyyskapasiteettiin. Kun aiheen teoriatausta tunnetaan paremmin ja tutkimusmenetelmät ovat riittävän pitkälle validoituja, on mahdollista toteuttaa enemmän laadukasta ja vertailukelpoista tutkimusta. Tutkimusaineiston laajenemisen myötä voidaan tehdä tarkempia johtopäätöksiä C-vitamiinilisän vaikutuksesta mitokondrioiden biogeneesiin kestävyysharjoittelussa.

Lähteet

Argüelles S, Gómez A, Machado A, Ayala A. A preliminary analysis of within-subject variation in human serum oxidative stress parameters as a function of time. *Rejuvenation Research* 2007;10;621–636. doi:10.1089/rej.2006.0528.

Azzi A. Oxidative Stress: What Is It? Can It Be Measured? Where Is It Located? Can It Be Good or Bad? Can It Be Prevented? Can It Be Cured? *Antioxidants* 2022;11:1431.
doi:10.3390/antiox11081431

Bae YS, Oh H, Rhee SG, Yoo YD. Regulation of reactive oxygen species generation in cell signaling. *Mol Cells* 2011;32:491–509. doi:10.1007/s10059-011-0276-3

Bassett DRJETH. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:70.

Battelli MG, Polito L, Bortolotti M, Bolognesi A. Xanthine Oxidoreductase-Derived Reactive Species: Physiological and Pathological Effects. *Oxid Med Cell Longev* 2015;2016:e3527579.
doi:10.1155/2016/3527579

Bayr H. Reactive oxygen species. *Crit Care Med* 2005;33:S498.
doi:10.1097/01.CCM.0000186787.64500.12

Bedard K, Krause K-H. The NOX Family of ROS-Generating NADPH Oxidases: Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev* 2007;87:245–313. doi:10.1152/physrev.00044.2005

Bindhumol V, Chitra KC, Mathur PP. Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats. *Toxicology* 2003;188:117–124. doi:10.1016/S0300-483X(03)00056-8

Bishop DJ, Botella J, Genders AJ, ym. High-Intensity Exercise and Mitochondrial Biogenesis: Current Controversies and Future Research Directions. *Physiology* 2019;34:56–70. doi:10.1152/physiol.00038.2018

Bourens M, Fontanesi F, Soto IC, Liu J, Barrientos A. Redox and Reactive Oxygen Species Regulation of Mitochondrial Cytochrome c Oxidase Biogenesis. *Antioxid Redox Signal* 2013;19:1940–1952. doi:10.1089/ars.2012.4847

Bouviere J, Fortunato RS, Dupuy C, Werneck-de-Castro JP, Carvalho DP, Louzada RA. Exercise-Stimulated ROS Sensitive Signaling Pathways in Skeletal Muscle. *Antioxidants* 2021;10:537. doi:10.3390/antiox10040537

Bruns DR, Ehrlicher SE, Khademi S, ym. Differential effects of vitamin C or protandim on skeletal muscle adaptation to exercise. *J Appl Physiol* 2018;125:661–671. doi:10.1152/jappphysiol.00277.2018

Chandler TJ. Physiology of aerobic fitness/endurance. *Instr Course Lect* 1994;43:11–15.

Cheng AJ, Yamada T, Rassier DE, Andersson DC, Westerblad H, Lanner JT. Reactive oxygen/nitrogen species and contractile function in skeletal muscle during fatigue and recovery. *J Physiol* 2016;594:5149–5160. doi:10.1113/JP270650

Close GL, Ashton T, Cable T, ym. Ascorbic acid supplementation does not attenuate post-exercise muscle soreness following muscle-damaging exercise but may delay the recovery process. *Br J Nutr* 2006;95:976–981. doi:10.1079/BJN20061732

Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016:e1245049. doi:10.1155/2016/1245049

Freese R, Voutilainen E, Mutanen M. E-vitamiini eli alfatokoferoli - Duodecim Oppiportti.

<https://www.oppoportti.fi/op/rvt00063/do> (Luettu 3.11.2023a).

Freese R, Voutilainen E, Mutanen M. Askorbiinihappo eli C-vitamiini - Duodecim Oppiportti.

Teoksessa: 2021b

Freese R, Voutilainen E, Mutanen M. Solun oksidatiivisia ja antioksidatiivisia tapahtumia -

Duodecim Oppiportti.

https://www.oppoportti.fi/op/rvi00240/do?p_haku=superoksididismutaasi#q=superoksididismutaasi (Luettu 3.11.2023c).

Gomez-Cabrera M-C, Domenech E, Romagnoli M, ym. Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. *Am J Clin Nutr* 2008;87:142–149. doi:10.1093/ajcn/87.1.142

Hamza AH. (toim.). Vitamin C. InTech 2017.

He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell Physiol Biochem* 2017;44:532–553.

doi:10.1159/000485089

Heikkinen A, Alaranta A, Helenius I, Vasankari T. Dietary Supplementation Habits and Perceptions of Supplement Use Among Elite Finnish Athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2011;21:271–279.

Hood DA, Tryon LD, Carter HN, Kim Y, Chen CCW. Unravelling the mechanisms regulating muscle mitochondrial biogenesis. *Biochem J* 2016;473:2295–2314. doi:10.1042/BCJ20160009

Ilander O, Heikura I, Hietavala E-M, Laakso M, Manner L, Mursu J. Liikuntaravitsemus 3.0. 1. painos. Lahti: VK-Kustannus Oy 2021. E-kirja. Luku 3. (Luettu 10.2.2024)

(Tekstissä viite: Ilander 2021 luku 3)

Ilander O, Heikura I, Hietavala E-M, Laakso M, Manner L, Mursu J. Liikuntaravitsemus 3.0. 1. painos. Lahti: VK-Kustannus Oy 2021. E-kirja. Luku 10. (Luettu 10.2.2024)

(Tekstissä viite: Ilander 2021 luku 10)

Ilander O, Heikura I, Hietavala E-M, Laakso M, Manner L, Mursu J. Liikuntaravitsemus 3.0. 1. painos. Lahti: VK-Kustannus Oy 2021. E-kirja. Luku 13. (Luettu 10.2.2024)

(Tekstissä viite: Ilander 2021 luku 13)

Kavazis AN, Talbert EE, Smuder AJ, Hudson MB, Nelson WB, Powers SK. Mechanical ventilation induces diaphragmatic mitochondrial dysfunction and increased oxidant production. *Free Radic Biol Med* 2009;46:842–850. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2009.01.002

Kim JC, Park GD, Kim SH. Inhibition of Oxidative Stress by Antioxidant Supplementation Does Not Limit Muscle Mitochondrial Biogenesis or Endurance Capacity in Rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2017;63:277–283. doi:10.3177/jnsv.63.277

Kutinlahti E. Maksimaalinen hapenottokyky kestävyyskunnan mittarina.
<https://www.terveyskirjasto.fi/dlk01038> (Luettu 9.12.2023).

Lambeth JD. Nox enzymes, ROS, and chronic disease: An example of antagonistic pleiotropy. *Free Radic Biol Med* 2007;43:332–347. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.027

Lee J, Song C-H. Effect of Reactive Oxygen Species on the Endoplasmic Reticulum and Mitochondria during Intracellular Pathogen Infection of Mammalian Cells. *Antioxid Basel Switz* 2021;10:872. doi:10.3390/antiox10060872

Lundby C, Jacobs RA. Adaptations of skeletal muscle mitochondria to exercise training. *Exp Physiol* 2016;101:17–22. doi:10.1113/EP085319

Mahmood T, Yang P-C. Western Blot: Technique, Theory, and Trouble Shooting. *North Am J Med Sci* 2012;4:429–434. doi:10.4103/1947-2714.100998

Mayhew DL, Kim J, Cross JM, Ferrando AA, Bamman MM. Translational signaling responses preceding resistance training-mediated myofiber hypertrophy in young and old humans. *J Appl Physiol* 2009;107:1655–1662. doi:10.1152/jappphysiol.91234.2008

McQuate A, Raible DW. Finding the balance: The elusive mechanisms underlying auditory hair cell mitochondrial biogenesis and mitophagy. *Hear Res* 2023;428:108664. doi:10.1016/j.heares.2022.108664

Medeiros DM. Assessing mitochondria biogenesis. *Methods* 2008;46:288–294. doi:10.1016/j.ymeth.2008.09.026

Miller BF, Hamilton KL. A perspective on the determination of mitochondrial biogenesis. *Am J Physiol-Endocrinol Metab* 2012;302:E496–E499. doi:10.1152/ajpendo.00578.2011

Miller BF, Konopka AR, Hamilton KL. The rigorous study of exercise adaptations: why mRNA might not be enough. *J Appl Physiol* 2016;121:594–596. doi:10.1152/jappphysiol.00137.2016

Miller HB, Witherow DS, Carson S. *Molecular Biology Techniques: A Classroom Laboratory Manual*. San Diego, UNITED STATES: Elsevier Science & Technology 2011.

Mitchell CJ, Churchward-Venne TA, Parise G, ym. Acute Post-Exercise Myofibrillar Protein Synthesis Is Not Correlated with Resistance Training-Induced Muscle Hypertrophy in Young Men. *PLOS ONE* 2014;9:e89431. doi:10.1371/journal.pone.0089431

Mohd Sukri N. Does vitamin C minimise exercise-induced oxidative stress? *Sport Sci Health* 2021;17:505–533. doi:10.1007/s11332-021-00756-5

Montero D, Cathomen A, Jacobs RA, ym. Haematological rather than skeletal muscle adaptations contribute to the increase in peak oxygen uptake induced by moderate endurance training. *J Physiol* 2015;593:4677–4688. doi:10.1113/JP270250

Morrison D, Hughes J, Della Gatta PA, ym. Vitamin C and E supplementation prevents some of the cellular adaptations to endurance-training in humans. *Free Radic Biol Med* 2015;89:852–862. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2015.10.412

Mäntylä E, Vuori E. Antioksidanttien turvallisuus. <https://www.duodecimlehti.fi/duo40366> (Luettu 9.1.2024).

Valsta L, Kaartinen N, Tapaninen H, Männistö S, Sääksjärvi K. Ravitsemus Suomessa - Finravinto 2017 -tutkimus.

Nolfi-Donagan D, Braganza A, Shiva S. Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox Biol* 2020;37:101674. doi:10.1016/j.redox.2020.101674

Paulsen G, Cumming KT, Holden G, ym. Vitamin C and E supplementation hampers cellular adaptation to endurance training in humans: a double-blind, randomised, controlled trial. *J Physiol* 2014;592:1887–1901. doi:10.1113/jphysiol.2013.267419

Peternelj T-T, Coombes JS. Antioxidant Supplementation during Exercise Training. *Sports Med* 2011;41:1043–1069. doi:10.2165/11594400-000000000-00000

Pfanner N, Warscheid B, Wiedemann N. Mitochondrial protein organization: from biogenesis to networks and function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019;20:267–284. doi:10.1038/s41580-018-0092-0

Poljsak B, Šuput D, Milisav I. Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. *Oxid Med Cell Longev* 2013;2013:e956792. doi:10.1155/2013/956792

Powers SK, Jackson MJ. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol Rev* 2008;88:1243–1276. doi:10.1152/physrev.00031.2007

Prieto-Bermejo R, Hernández-Hernández A. The Importance of NADPH Oxidases and Redox Signaling in Angiogenesis. *Antioxidants* 2017;6:32. doi:10.3390/antiox6020032

Rouhier N, Lemaire SD, Jacquot J-P. The Role of Glutathione in Photosynthetic Organisms: Emerging Functions for Glutaredoxins and Glutathionylation. *Annu Rev Plant Biol* 2008;59:143–166. doi:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092811

Sakellariou GK, Jackson MJ, Vasilaki A. Redefining the major contributors to superoxide production in contracting skeletal muscle. The role of NAD(P)H oxidases. *Free Radic Res* 2014;48:12–29. doi:10.3109/10715762.2013.830718

Schwab U. Vitamiinit. <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk01300> (Luettu 15.2.2024).

Solunetti: Mitokondrion tehtävät

https://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/mitokondrion_tehtavat/2/ (Luettu 19.1.2024).

Valtion ravitsemusneuvottelukunta. Terveyttä ruoasta. Suomalaiset ravitsemussuositukset 2014. Tampere Juvenes Print Suomen Yliopistopaino 2014.

(Tekstissä viite: Valtion ravitsemusneuvottelukunta 2014)

Verhaegen S, McGowan AJ, Brophy AR, Fernandes RS, Cotter TG. Inhibition of apoptosis by antioxidants in the human HL-60 leukemia cell line. *Biochem Pharmacol* 1995;50:1021–1029. doi:10.1016/0006-2952(95)00233-P

Wadley GD, McConell GK. High-dose antioxidant vitamin C supplementation does not prevent acute exercise-induced increases in markers of skeletal muscle mitochondrial biogenesis in rats. *J Appl Physiol* 2010;108:1719–1726. doi:10.1152/jappphysiol.00127.2010

Wang F, Wang X, Liu Y, Zhang Z. Effects of Exercise-Induced ROS on the Pathophysiological Functions of Skeletal Muscle. *Oxid Med Cell Longev* 2021;2021:3846122. doi:10.1155/2021/3846122

Yada K, Matoba H. Vitamin C supplementation does not alter high-intensity endurance training-induced mitochondrial biogenesis in rat epitrochlearis muscle. *J Physiol Sci* 2014;64:113–118. doi:10.1007/s12576-013-0300-9

Yavari A, Javadi M, Mirmiran P, Bahadoran Z. Exercise-Induced Oxidative Stress and Dietary Antioxidants. *Asian J Sports Med* 2015;6:e24898. doi:10.5812/asjasm.24898

Zhang Y, Wong HS. Are mitochondria the main contributor of reactive oxygen species in cells? *J Exp Biol* 2021;224:jeb221606. doi:10.1242/jeb.221606

Zuo L, Zhou T, Pannell BK, Ziegler AC, Best TM. Biological and physiological role of reactive oxygen species – the good, the bad and the ugly. *Acta Physiol* 2015;214:329–348. doi:10.1111/apha.12515