

اثر ۶ هفته تمرین استقامتی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت تجربی

محمد رمی^{*}، عبدالحمید حبیبی^۱، مژده خواجه لندی^۲

مقاله پژوهشی

مقدمه: شواهد علمی حاکی از نقش برجسته استرس اکسایشی در دیابت و توسعه عوارض ناشی از آن است و پیش آماده‌سازی با فعالیت ورزشی هوازی همراه با افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی سلول‌های عصبی، می‌تواند موجب کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش مقاومت نورون‌های ناحیه هیپوکمپ گردد. از این‌رو هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر ۶ هفته تمرین استقامتی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت تجربی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی نر ($245 \pm 9/4$ گرم) بالغ با ۱۰ هفته سن به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های دیابتی از طریق تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین دیابتی شدند. برنامه تمرینی شامل ۶ هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط بود. در پایان ۶ هفته برنامه، ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین نمونه‌های بافت هیپوکمپ استخراج گردید. برای مقایسه بین گروهی از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه استفاده و سپس در صورت معناداری، از آزمون تعقیبی شفه برای بیان اختلاف معنادار بین گروه‌ها استفاده گردید. سطح معناداری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. بررسی‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت.

نتایج: پس از ۶ هفته تمرین استقامتی، میزان سوپراکسید دیسموتاز در هر دو گروه: تمرینی سالم و دیابتی تمرین افزایش معنادار و در گروه کنترل دیابتی کاهش معناداری داشت ($P < 0/001$). میزان گلوکاتایون پراکسیداز در دو گروه: تمرینی سالم و دیابتی تمرین و گروه کنترل سالم تفاوت معناداری در مقایسه با گروه کنترل دیابت داشت ($P \leq 0/05$)، درحالی که تفاوت بین سه گروه مذکور معنادار نبود ($P \geq 0/05$).

نتیجه‌گیری: براساس نتایج می‌توان بیان داشت که احتمالاً تمرین استقامتی می‌تواند در افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی بافت هیپوکمپ موش‌های دیابتی مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: ورزش هوازی، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، هیپوکمپ

ارجاع: رمی محمد، حبیبی عبدالحمید، خواجه لندی مژده. اثر ۶ هفته تمرین استقامتی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت تجربی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۶): ۹۴-۴۸۳.

۱-استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲-استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳-دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۶۶۴۰۹۴۷۴، پست الکترونیکی: m.rami@scu.ac.ir، کد پستی: ۶۱۳۵۷۸۳۱۵۱

مقدمه

دیابت شیرین (DM) شایع ترین اختلال متابولیک جدی در انسان است. قند خون بالا (هایپرگلیسمی) به عنوان عامل بیماری زای اصلی و زیربنایی توسعه عوارض دیابت است (۱). این بیماری به عنوان یک اختلال متابولیکی، از نظر نقصان در ترشح هورمونی، عملکرد انسولین و یا هر دو ناشی می گردد و با افزایش گلوکز خون که اغلب همراه با افزایش گلوکز ارادر، پرخوری و پرادراری است مشخص می گردد (۲). افزایش گلوکز خون بیماران دیابتی باعث تغییرات بیماری زایی گوناگونی در عروق کوچک، سرخرگ ها و اعصاب محیطی، فیبروز قلبی و عملکرد سلول های عضلات صاف عروقی (۳) از مسیر افزایش استرس اکسایشی می گردد (۴). استرس اکسایشی در اصطلاح به ازدیاد تولید گونه های فعال اکسیژن و نیتروژن و برداشت ناکارآمد آن ها از محیط های سلولی اطلاق می شود که تداوم این شرایط با وارد شدن آسیب به ساختارهای سلولی و پروتئینی همراه است (۵). به نظر می رسد چندین سازوکار از قبیل خود اکسایشی گلوکز، گلیکته شدن پروتئین ها، پراکسیداسیون لیپیدی، محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته و مسیر پلی آل در افزایش رادیکال های آزاد بیماران دیابتی و یا مدل های آزمایشگاهی دیابت درگیر هستند (۶)، که می تواند منجر به آسیب سلولی و افزایش مقاومت به انسولین گردند (۵).

وضعیت آنتی اکسیدانی بافتی در بیماران دیابتی تغییر کرده و باعث آسیب اکسایشی غشاها و آسیب بافتی می گردد (۷). رادیکال های آزاد توسط سیستم دفاعی شامل: آنزیم های سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و آنتی اکسیدان های با وزن مولکولی پایین مانند ویتامین های A، B و C خنثی می گردند (۸). شایان ذکر است که مقادیر پایین آنتی اکسیدان ها از جمله اسکوربات، گلوتاتیون و سوپراکسید دیسموتاز در بیماران دیابتی دیده شده است (۸). سوپراکسید دیسموتاز، یک آنزیم میتوکندریایی است که همراه با آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، آخرین آنزیمی است که وارد واکنش های ضد اکسایشی می شود، نقشی اساسی را در پیشگیری از اکسایش

و تخریب غشاء میتوکندری ها ایفا می کنند. ساخت و فعالیت این آنزیم منوط به وجود فلز منگنز، افزایش مصرف اکسیژن به بیش از بیست برابر حالت استراحت و بالا رفتن جریان اکسیژن به داخل زنجیره انتقال الکترون است. در زمان ورزش آنتی اکسیدان ها می توانند با مکانیسم های متعددی مانند برداشت اکسیژن یا کاهش غلظت موضعی اکسیژن، برداشت یون های فلزی کاتالیتیک مانند Fe^{2+} و Cu^{2+} و برداشت گونه های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) عمل نمایند (۹).

در حدود ۶۰ درصد از جمعیت مبتلایان به دیابت، آسیب های نورونی به دلیل استرس اکسیداتیو به وجود می آید و عامل استرس اکسیداتیو، عامل اصلی پیشرفت و گسترش نوروپاتی در بیماران دیابتی به شمار می رود (۱۰). در این رابطه، قشر مغز و هیپوکمپ، بیشتر از سایر مناطق مغز دچار استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از هیپرگلیسمی می شوند (۱۱). هیپرگلیسمی، مهمترین دلیل القای استرس اکسیداتیو در حین دیابت بوده و از طریق مکانیسم های آنزیمی و غیر آنزیمی، منجر به تولید بیش از حد رادیکال های آزاد اکسیژن می گردد (۱۰).

افزایش تولید انواع رادیکال های آزاد هم چون آنیون سوپراکساید و به دنبال آن فعال شدن سیگنال های مرگ برنامه ریزی شده سلولی، در بافت مغز باعث مرگ نورون ها می گردد (۱۲). تولید کننده گونه های واکنشگر اکسیژن می توانند موجب آسیب به میتوکندری، افزایش میزان Ca^{++} ، مهار عملکرد پروتئازوم ها و در نهایت به راه افتادن تخریب نورون شوند (۱۳). به دلایل فیزیولوژیک، عقیده بر این است که سیستم عصبی مرکزی (CNS) حساسیت بسیار زیادی به استرس اکسیداتیو دارد. اولین دلیل، مصرف بالای اکسیژن توسط مغز است، مغز انسان تنها درصد کوچکی از وزن کل بدن را تشکیل می دهد با این حال، ۲۰٪ مصرف پایه اکسیژن را مغز انجام می دهد. گونه های اصلی واکنشگر اکسیژن که در تخریب نورون ها نقش دارند رادیکال سوپراکسید (O_2)، پراکسید هیدروژن

بافت‌ها است. لذا، هدف از مطالعه اخیر بررسی اثر ۶ هفته تمرین استقامتی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکوتیون پراکسیداز بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت تجربی بود.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی به شیوه آزمایشگاهی با طرح پس‌آزمون به همراه گروه کنترل، با کد کمیته اخلاق پژوهش بر حیوانات به شماره LU.ECRA.2017.2 است. برای این منظور ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (Wistar) با ۱۰ هفته سن و میانگین وزن $245 \pm 9/4$ گرم به عنوان نمونه تحقیق در نظر گرفته شد. کلیه موش‌های صحرایی در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش نگه‌داری گردیدند. حیوانات به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایشگاه و نوارگردان (تردمیل حیوانی مدل آذرخش، شرکت مهندسی پیشرو اندیشه صنعت، ایران) مخصوص جوندگان آشنا شدند. در طول مرحله آشنا سازی، به منظور آشنا شدن با شرایط آزمایشگاه و نوارگردان، حیوانات ۵ روز در هفته به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه بر روی نوارگردان راه رفتند. پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، در ۱۲ سر از موش‌های صحرایی (با تزریق درون صفاقی 45 mg/kg محلول STZ (Sigma, St.)، Louis MO, USA، تهیه شده در بافر سیترات تازه ۰/۵ مولار با $\text{pH} = 4/5$) دیابت القاء گردید. به موش‌های صحرایی غیر دیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحی کوچک توسط لانس روی ورید دم موش‌های صحرایی، یک قطره خون روی نوار گلوکومتر قرار داده شد و قند خون با استفاده از دستگاه گلوکومتری (Roche Diagnostics K.K., Tokyo, Japan) قرائت گردید. موش‌های صحرایی که قند خون آن‌ها بالاتر از 240 mg/dl بود، به عنوان موش‌های صحرایی دیابتی در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفتند (۲۱). با توجه به این که قند خون تمامی موش‌های صحرایی مورد تزریق قرار

(H_2O_2) و رادیکال بسیار فعال هیدروکسیل هیدروژن (OH^\cdot) هستند (۱۴). در پژوهش شمسائی و همکاران (۱۳۹۶) که به بررسی اثر یک دوره فعالیت ورزشی هوازی بر پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هیپوکامپ به دنبال ایسکمی-ریپرفیوژن مغزی در موش‌های صحرایی نر پرداختند، نتایج نشان داد که فعالیت ورزشی موجب افزایش معنادار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در هیپوکامپ شد، که حاکی از اثرگذاری تمرین ورزشی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۱۵).

فعالیت ورزشی به عنوان ابزاری در جهت جلوگیری و کنترل بسیاری از بیماری‌ها به خصوص بیماری دیابت توصیه شده است (۱۶). فعالیت ورزشی برخلاف این که با ایجاد فشار اکسایشی موجب افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود، با افزایش تولید آنزیم‌های ضد اکسایشی موجب کاهش رادیکال‌های آزاد در بدن می‌گردد (۱۷). به نظر می‌رسد که اثر بخشی تمرینات ورزشی با توجه به نوع آزمودنی‌ها ممکن است تحت تأثیر متغیرهای شدت و مدت تمرین قرار گیرد، به طور مثال ورزش حاد و شدید باعث افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد. در بیماران دیابتی، تمرینات ورزشی با شدت متوسط برای بهتر شدن شرایط متابولیکی پیشنهاد شده است (۸). بر این اساس، از یک سو بافت هیپوکامپ یکی از حساس‌ترین بافت‌های CNS است که به تغییرات میزان گلوکز و هایپرگلیسمی سریع واکنش نشان می‌دهد و در شرایط هایپرگلیسمی سبب بروز التهاب و تولید گونه‌های ROS در این ناحیه می‌گردد و متعاقب آن سبب بروز تغییراتی نظیر تخریب عصب شده، لازم به ذکر است که هیپوکامپ نقش مهمی در یادگیری و حافظه دارد و آسیب به نورون‌های آن به اختلالات شناختی و نقص در حافظه و یادگیری منجر خواهد شد (۱۸). از سوی دیگر تحقیقات گذشته اکثراً آنتی‌اکسیدان‌ها را در خون اندازه‌گیری کرده‌اند (۱۹،۲۰) و این مقدار به دست آمده از طریق اندازه‌گیری خون شاخص خوبی برای تعمیم نتایج آنتی‌اکسیدان‌ها در CNS نیست؛ چراکه آنتی‌اکسیدان‌های موجود در خون نماینده آنتی‌اکسیدان کل

نگه داشته شدند (جدول ۱). ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش های صحرایی توسط تزریق درون صفاقی ترکیب کتامین (75 mg/kg^{-1}) و زایلازین (5 mg/kg^{-1}) بیهوش شده و پس از جدا کردن سر توسط گیوتین و تحت شرایط استریل بافت هیپوکمپ جدا شده و در ۲۰۰ میلی مولار بافرسدیم فسفات ($\text{pH}=6/5$) هموژن شد.

سپس به مدت ۲۰ دقیقه در 9000 rpm سانتری فیوژ شد و از سوپرنیتان به دست آمده برای سنجش سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) استفاده شد. سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) بر اساس مهار احیا نیتروبلوتترازولیوم توسط سیستم گزانتین-گزانتین اکسیداز به عنوان تولید کننده سوپراکسید می باشد. جذب نوری هر نمونه در طول موج نوری 550 nm متر به مدت ۵ دقیقه هر ۳۰ ثانیه یک بار خوانده شد. برای به دست آوردن درصد مهار احیا نیتروبلوتترازولیوم توسط آنزیم SOD، از فرمول مربوط به دستور العمل کیت رندوکس (rendox-uk) استفاده شد. با انطباق درصد مهار بر روی منحنی استاندارد، فعالیت آنزیم به دست آمد و فعالیت آن بر اساس واحد بین الملل (میکرو مول بر دقیقه در گرم بافت) پروتئین گزارش شد (۲۲).

برای سنجش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) از کیت رندوکس (rendox-uk) استفاده شد. آنزیم GPX در حضور کومن هیدرو پراکسید سبب تسریع در اکسیداسیون گلوتاتیون می شود. حال در صورت حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و نیکوتین آمید دی نوکلئوتید فسفات (NADPH)، گلوتاتیون اکسید شده سریعاً احیا و NADPH به NADP^+ تبدیل می شود. میزان حضور آنزیم GPX با اندازه گیری میزان کاهش رنگ ایجاد شده در طول موج 340 nm اشعه فرابنفش طی ۲ دقیقه قرائت شد. فعالیت بر اساس واحد بین الملل (میکرو مول بر دقیقه در گرم بافت) پروتئین گزارش شد (۲۲).

گرفته بالاتر از این مقدار بود، القاء دیابت در تمام موش های صحرایی گروه های دیابتی تایید شد (لازم به ذکر است که پس از القای دیابت در ۱۶ سر موش و متحمل شدن ۴ عدد تلفات ۱۲ موش دیابتی باقی ماند). پس از آن موش های دیابتی و غیر دیابتی که در مجموع ۲۴ سر بودند به روش تصادفی به چهار گروه بدین شرح تقسیم شدند: ۱) گروه دیابتی تمرین (DT): این گروه شامل ۶ سر موش صحرایی بود که از طریق تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) (USA, Sigma) دیابتی شده و از هفته دوازدهم زندگی به مدت ۶ هفته و هر هفته ۵ جلسه تمرین استقامتی انجام می دادند و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی تشریح شدند. ۲) گروه دیابتی کنترل (DC): این گروه شامل ۶ سر موش صحرایی بود که از طریق تزریق درون صفاقی STZ دیابتی شده و در هیچ گونه برنامه تمرینی شرکت داده نشدند. این موش های صحرایی هم زمان با بقیه گروه ها تشریح شده و کلیه مراحل و آزمایش ها مطابق دیگر گروه ها بر روی آنها انجام پذیرفت. ۳) گروه تمرینی سالم (HT): این گروه شامل ۶ موش صحرایی بود که همانند گروه DT در برنامه تمرینی نوار گردان شرکت داده شدند. ۴) گروه کنترل سالم (HC): این گروه شامل ۶ موش صحرایی بود که درگیر هیچ فعالیتی نبودند. در پژوهش حاضر از تمرین استقامتی با شدت متوسط استفاده شد؛ بدین صورت که گروه های ورزشی در معرض تمرین نوار گردان (تردمیل حیوانی مدل آذرخش، شرکت مهندسی پیش رو اندیشه صنعت، ایران) برای ۵ جلسه در هفته و به مدت ۶ هفته قرار گرفتند. سرعت و مدت تمرین نوار گردان به تدریج افزایش یافت و از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۵ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۷-۱۸ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت. جهت رسیدن به سازگاری های به دست آمده در حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت

جدول ۱: نمایش عددی پروتکل در هفته های مختلف

هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰
۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۱۷-۱۸	۱۷-۱۸

مدت تمرین (دقیقه)
سرعت نوارگردان (متر بر دقیقه)

تجزیه و تحلیل آماری

برای گزارش داده ها در نمودارها و جداول از میانگین \pm خطای معیار) استفاده شد. ابتدا نرمال بودن توزیع داده ها و همسان بودن واریانس ها به ترتیب با استفاده از آزمون های شاپیرو-ولیک و لون ارزیابی شد ($P \geq 0.05$) از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه تغییرات بین گروه های مختلف استفاده شد. به دنبال آنالیز واریانس برای مقایسه زوجی گروه ها از آزمون تعقیبی شفه استفاده شد. سطح معناداری نیز از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت.

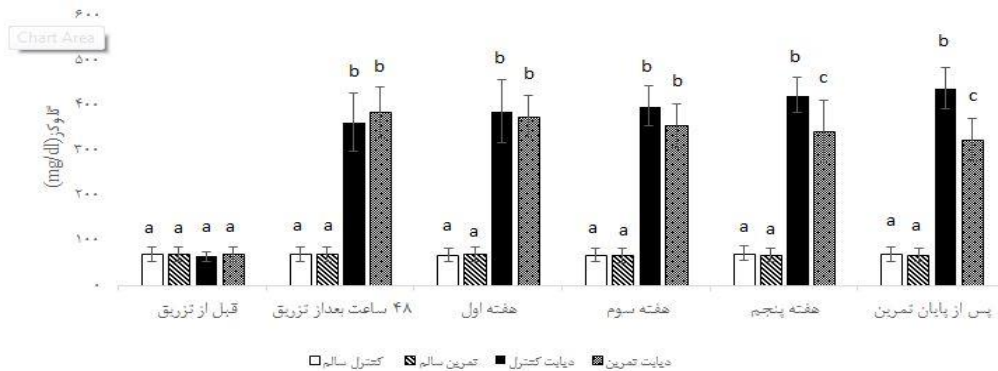
ملاحظات اخلاقی

این تحقیق (با کد کمیته اخلاق 2017.2 LU.ECRA) در دانشگاه شهید چمران اهواز تایید و انجام شد.

نتایج

سطح گلوکز خون و وزن

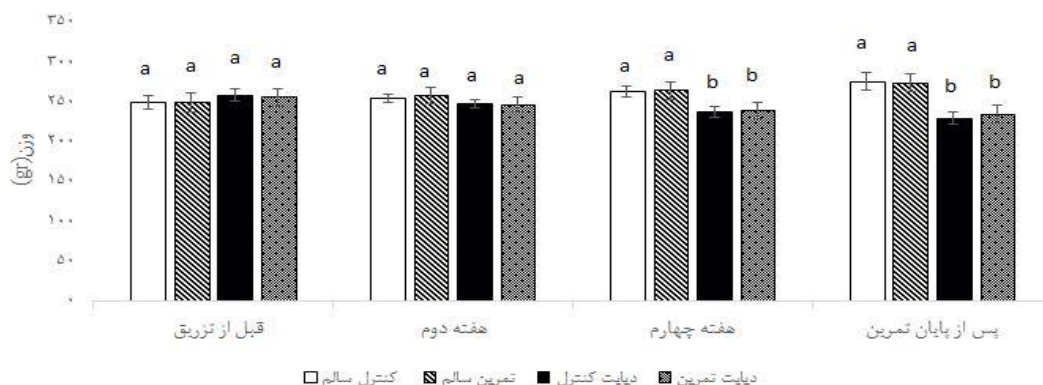
در شروع برنامه تمرینی سطح گلوکز خون به صورت معناداری ۴۸ ساعت پس از القای دیابت توسط استرپتوزوتوسین در موش های گروه های دیابتی افزایش یافت ($P < 0.001$)، و پس از ۶ هفته تمرین استقامتی در مقایسه با گروه های سالم هم چنان از اختلاف معناداری برخوردار بود ($P < 0.001$)، هم چنین، در پایان برنامه تمرینی، غلظت گلوکز خون گروه دیابت تمرین کرده نسبت به گروه دیابت کنترل به صورت معناداری پایین تر بود ($P < 0.001$) (نمودار ۱).

نمودار ۱: سطح سرمی گلوکز ناشتا (Mean \pm SEM) در موش های صحرایی گروه های مختلف.

حروف نامتشابه بیانگر وجود اختلاف آماری معنادار در بین گروه ها می باشد ($P \leq 0.05$).

گروه سالم تمرین کرده به صورت معناداری کمتر بود ($P < 0.001$). میانگین تغییرات وزن گروه های تمرین کرده سالم نسبت به کنترل سالم معنادار نبود ($P \geq 0.05$). همچنین، میانگین تغییرات وزن گروه های دیابت تمرین کرده نسبت به کنترل دیابت اگرچه پس از شش هفته تمرین افزایش یافت، اما این افزایش معنادار نبود ($P \geq 0.05$). (نمودار ۲).

در ابتدا وزن اولیه گروه ها اختلاف معناداری با یکدیگر نداشت ($P \geq 0.05$)، اما در پایان پژوهش، میانگین تغییرات وزن موش های گروه کنترل دیابت نسبت به کنترل سالم و نیز گروه دیابتی تمرین کرده نسبت به گروه کنترل سالم به صورت معناداری کمتر بود ($P < 0.001$). نتایج تحلیل های آماری نشان داد که میانگین تغییرات وزن گروه دیابت تمرین کرده نسبت به



نمودار ۲: تغییرات وزن (Mean±SEM) در موش های گروه های مختلف.

حروف نامتشابه بیانگر وجود اختلاف آماری معنادار در بین گروه ها می باشد ($P \leq 0.05$).

نتایج تجزیه و تحلیل بافت هیپوکمپ

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل بافت هیپوکمپ در نمودار ۳ و ۴ نشان داده شده است. نتایج آزمون تعقیبی شفه (جدول ۲) نشان داد که پس از ۶ هفته تمرین استقامتی میزان میانگین غلظت SOD در هر دو گروه تمرینی دیابت و تمرینی سالم افزایش معناداری و در گروه کنترل دیابت نسبت به سایر گروه ها کاهش معناداری داشته است ($P < 0.001$). میزان

میانگین غلظت GPX در دو گروه تمرینی دیابت، تمرینی سالم افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت مشاهده گردید ($P \leq 0.05$). هم چنین نتایج نشان داد که میزان این آنزیم در گروه دیابت تمرینی نسبت به گروه کنترل سالم تفاوت معناداری نداشته و در واقع تا مقادیر گروه سالم کنترل افزایش یافته است ($P = 0.949$).

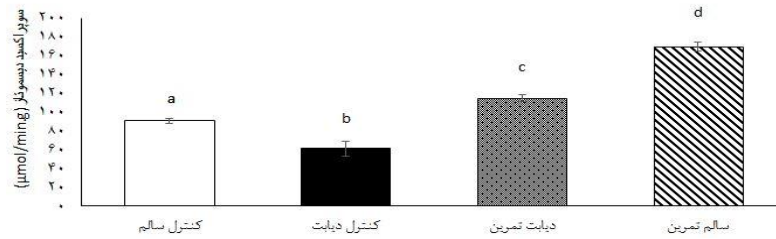
جدول ۲: نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی شفه در سطوح SOD و GPX پس از ۶ هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط در رت های دیابتی

آزمون تعقیبی GPX			آزمون تعقیبی SOD			تحلیل واریانس یک راهه	
P	گروه ها		P	گروه ها		P	فاکتورها
#/0.02	CD	CH	#/0.00	CD	CH		
#/0.949	DT		#/0.001	DT			
#/0.006	HT		#/0.00	HT		*/0.001	SOD
#/0.002	CD	CH	#/0.00	CD	CH		
#/0.005	DT		#/0.00	DT			
#/0.00	HT		#/0.00	HT			
#/0.949	CH	DT	#/0.001	CH	DT		
#/0.005	CD		#/0.00	CD			
#/0.001	HT		#/0.00	HT		*/0.001	GPX
#/0.006	CH	HT	#/0.00	CH	HT		
#/0.00	CD		#/0.00	CD			
#/0.001	DT		#/0.00	DT			

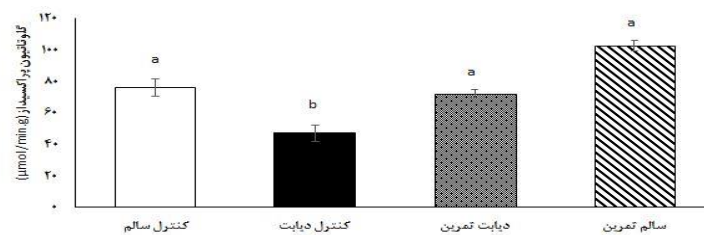
CH=گروه کنترل سالم ، CD=گروه کنترل دیابتی، DT=گروه دیابت تمرین، H

T=گروه سالم تمرین

*سطح معناداری در آزمون تحلیل واریانس یک راهه، # سطح معناداری در آزمون تعقیبی شفه



نمودار ۳: تغییرات میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Mean±SEM) در موش‌های گروه‌های مختلف. حروف نامتشابه بیانگر وجود اختلاف آماری معنادار در بین گروه‌ها می‌باشد ($P \leq 0.05$).



نمودار ۴: تغییرات میزان آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز (Mean±SEM) در موش‌های گروه‌های مختلف. حروف نامتشابه بیانگر وجود اختلاف آماری معنادار در بین گروه‌ها می‌باشد ($P \leq 0.05$).

به واسطه فعال کردن آبشارهای رها کننده رادیکال‌های آزاد سبب مسمومیت نورونی و متعاقب آن مرگ نورونی شود (۲۳). افزایش تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی، اغلب با سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی طبیعی سازگار شده در بافت‌های دیابتی مرتبط است. باور بر این است که در پاسخ به استرس اکسایشی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بایستی از عملکردهای سلولی در جهت حفظ هموستاز محافظت کنند (۲۴،۲۵). در بسیاری از مطالعات، اثرات مثبت تمرینات حاد و استقامتی بر عوامل اکسایشی و کاهش آسیب ناشی از آن گزارش شده است (۲۶). مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات استقامتی با شدت پایین تا متوسط باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی در عضلات اسکلتی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شوند که این امر با نتایج پژوهش حاضر همسو می‌باشد (۲۷) چنانچه در مطالعه حاضر پس از اجرای یک دوره تمرین استقامتی افزایش معناداری در میزان میانگین غلظت آنتی‌اکسیدان‌های SOD و GPX در گروه‌های تمرینی مشاهده گردید. که این امر نشان می‌دهد تمرینات هوازی به تنهایی

بحث

در مطالعه حاضر به بررسی اثر ۶ هفته تمرین استقامتی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکوتاتیون پراکسیداز بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت تجربی پرداخته شد. تمرینات ورزشی منظم، می‌تواند موجب ایجاد سازوکارهای مفیدی در عملکرد مغز شود و در آماده‌سازی سلول‌ها برای مقابله با سطوح بالاتر استرس اکسیداتیو، نقش داشته باشد که از جمله این تمرینات، تمرین استقامتی است. بنابر نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر ۶ هفته تمرین استقامتی موجب کاهش معنادار غلظت گلوکز خون در گروه تمرین دیابتی شده است.

مطالعات نشان می‌دهند که ورزش می‌تواند جهت کاهش سطح گلوکز پلاسما در طول ورزش و پس از آن مفید واقع شود. هم‌چنین نشان داده شده ورزش می‌تواند حساسیت انسولینی را نیز افزایش دهد (۲۰). نشان داده شده است که هایپرگلیسمی به واسطه فعال کردن گیرنده؛ N-Methyl-D-aspartate (NMDA)، ورود کلسیم به درون نورون‌ها را افزایش می‌دهد و ممکن است

گروه تمرین بدنی پایین تر بود. شدت و مدت فعالیت بدنی متغیرهای مهمی هستند که می توانند در نوع فعالیت بدنی و بر اثرگذاری روی شاخص های استرس اکسایشی و وضعیت آنتی اکسیدانی بدن دخالت نمایند (۳۲). عدم ناهم خوانی این مطالعات به دلایل مختلفی برمی گردد.

چنان چه بررسی پژوهش ها نشان می دهد تمرینات ورزشی فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدانی بافت ها را با توجه به نوع پروتکل ورزشی، حجم تمرین، وجود دوره های استراحت بین برنامه های تمرینی، تغییر می دهد (۳۳، ۳۴، ۳۵). به عنوان مثال تمرینات شدید همراه با استراحت غیر کافی منجر به تحریک نوتروفیل ها گردند و نوتروفیل ها می توانند باعث تولید در ROS می شود و در نهایت منجر به ایجاد یا افزایش فشار اکسایشی گردند و یا در هنگام ورزش شدید، مصرف اکسیژن در بدن حدود ۱۰-۸ برابر افزایش می یابد (۳۵).

به همین دلیل با افزایش تولید رادیکال های آزاد، ممکن است ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی بدن تضعیف گردد، بنابراین ورزش حاد و شدید منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می گردد اما ورزش منظم و متوسط از طریق افزایش دفاع آنتی اکسیدانی منجر به کاهش استرس اکسیداتیو خواهد شد (۳۷).

نتیجه گیری

با توجه به این که آزمودنی ها، موش های دیابتی، با مقادیر پایه عوامل اکسایشی بالاتر و سطح دفاع آنتی اکسیدانی پایین تر بودند، براساس یافته ها به نظر می رسد ۶ هفته تمرینات هوازی موجب افزایش غلظت آنتی اکسیدان های SOD و GPX در گروه های تجربی گردید. می توان بیان داشت که تمرین استقامتی می تواند به عنوان یک راه برد غیر دارویی باعث کاهش استرس اکسایشی ناشی از دیابت در هیپوکمپ موش های دیابتی گردد و آسیب به نورون های هیپوکمپ و متعاقباً اختلالات شناختی و نقص در حافظه و یادگیری را کاهش دهد. بنابراین، پیشنهاد می شود نظارت بر ظرفیت آنتی اکسیدانی از طریق فعالیت بدنی به عنوان یک هدف درمانی مؤثر در بیماری دیابت مورد توجه قرار گیرد؛ هر چند

می تواند در بهتر شدن فرآیند متابولیسم اکسایشی در درون سلول اثرگذار باشد.

در واقع علت افزایش ظرفیت این آنتی اکسیدان ها می تواند یک پاسخ جبرانی در جهت مقابله با افزایش استرس اکسایشی ناشی از تولید بیش از حد رادیکال های آزاد باشد (۲۸). به طوری که پراکسید هیدروژن که در سلول ها توسط GPX یا CAT خنثی می گردد در عروق بیماران دیابتی افزایش می یابد، می تواند نشان دهنده قرار گیری طولانی مدت بدن در معرض استرس اکسایشی باشد.

نتیجه پژوهش حاضر با نتایج وینتی و همکاران (۲۰۱۵) (۱۹) و القدير و همکاران (۲۰۱۵) (۲۹) هم سو است. وینتی و همکاران (۲۰۱۵)، تأثیر دوازده ماه تمرینات نظارتی (شامل تمرینات هوازی، مقاومتی و انعطاف پذیری) را روی افراد دیابتی نوع ۲ بررسی کردند. تمرینات نظارتی موجب بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی و کاهش اکسیدان ها شد که هم راستا با نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، دلالت بر نقش تمرینات با شدت متوسط بر کنترل شاخص های استرس اکسایشی و پیشگیری از پراکسیداسیون لیپید و آسیب پذیری غشاء دارد (۱۹). به نظر می رسد بخشی از مکانیسم اثر فعالیت ورزشی در کاهش استرس اکسیداتیو مربوط به سایر مکانیسم های حفاظتی فعالیت ورزشی از جمله افزایش آنژیوژنز باشد که موجب بهبود نسبی جریان خون مغزی در طول ایسکمی می شود (۳۰). به علاوه، نشان داده شده است که افزایش عوامل نوروتروفیک از جمله عامل رشد عصبی مشتق از مغز (BDNF) می تواند در پی پیش آماده سازی با فعالیت ورزشی موجب کاهش استرس اکسیداتیو شود، زیرا BDNF موجب بهبود عملکرد میتوکندریایی می شود و میتوکندری منشأ تولید میزان زیادی از رادیکال های آزاد به هنگام ایسکمی است (۳۱).

نتایج پژوهش حاضر با نتایج تحقیقات پری پرا و همکاران (۲۰۱۶) (۳۲) نا هم سو است. در مطالعه پری پرا و همکاران که به بررسی اثر هشت هفته تمرین شنای یک ساعته روی ۴۰ سر موش دیابتی پرداختند، به این نتیجه رسیدند که تمرین بدنی منجر به کاهش گلوکز خون، و کلسترول می شود و سطح SOD در موش های دیابتی نسبت به گروه کنترل و

در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند، تشکر و قدردانی می شود. هزینه اجرای این پژوهش از محل اعتبارات پژوهانه واحد پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز تامین شده است.
تعارض در منافع: وجود ندارد.

که نکات متعددی در این ارتباط وجود دارد و در آینده باید مورد مطالعه قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی و معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که

References:

- 1- Aronson D. *Hyperglycemia and the pathobiology of diabetic complications*. Adv Cardiol. 2008; 45:1-16
- 2- American Diabetes Association. *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care 2014; 37(1): S81-90. [Persian]
- 3- Porter KE, Riches K. *The vascular smooth muscle cell: a therapeutic target in Type 2 diabetes?* Clin Sci (Lond) 2013; 125(4): 167-82.
- 4- Hsu WT, Tsai LY, Lin SK, Hsiao JK, Chen BH. *Effects of diabetes duration and glycemic control on free radicals in children with type 1 diabetes mellitus*. Ann Clin Lab Sci 2006; 36(2): 174-8.
- 5- Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. *Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history*. Dyn Med 2009; 8(1): 1-25.
- 6- West IC. *Radicals and oxidative stress in diabetes*. Diabetic Medicine. 2000; 17(3): 171-80.
- 7- Asmat U, Abad K, Ismail K. *Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review*. Saudi Pharm J 2016; 24(5): 547-53.
- 8- Abdi A, Ramezani N, Abbasi Daloie A, Ganji N. *The Effect of Aerobic Training and Coriandrum Sativum Extract on Some Oxidative Stress Factors in Male Diabetic Wistar Rats*. Tabari J Prev Med. Winter 2016; 2(4): 34-3. [Persian]
- 9- Saritaş N, Uyanik F, Hamurcu Z. *Effects of acute twelve minute run test on oxidative stress and antioxidant enzyme activities*. African Pharmacy Pharmacol 2011 8; 5(9):1218-22.
- 10- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB 3rd. *Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review*. J Biochem Mol Toxicol 2003; 17(1): 24-38.
- 11- Sytze Van Dam P, Cotter MA, Bravenboer B, and Cameron NE. *Pathogenesis of diabetic neuropathy: focus on neurovascular mechanisms*. Eur J Pharmacol 2013; 719(1-3): 180-6.
- 12- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. Int J Biochem Cell Biol 2007; 39(1): 44-84.
- 13- Chen X, Guo C, Kong J. *Oxidative stress in neurodegenerative diseases*. Neural regeneration research. 2012; 7(5):376.

- 14- Melo A, Monteiro L, Lima RM, de Oliveira DM, de Cerqueira MD, El-Bachá RS. **Oxidative stress in neurodegenerative diseases: mechanisms and therapeutic perspectives.** *Oxid Med Cell Longev* 2011; 1-14.
- 15- Weinger K, Groot M, William T. **Cefalu Psychosocial Research and Care in Diabetes: Altering Lives by Understanding Attitudes.** *Diabetes Care* 2016; 39(12): 2122-25.
- 16- Shamsaei N, Abdi H, Farzad B. **The protective effect of exercise on lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in hippocampus following the cerebral ischemia in male rats.** *Sport Physiology & Management Investigations* 2017; 9(3): 33-40. [Persian]
- 17- Nakhaee H, Nazarali P, Hanachi P, Hedayati M. **The effect of Aerobic Training and Cinnamon Zeylanicum Intake on Total Antioxidant Capacity in Active Women** *Horizon Med Sci* 2018; 24(2): 88-95
- 18- Nojima H, Watanabe H, Yamane K, Kitahara Y, Sekikawa K, Yamamoto H, et al. **Effect of aerobic exercise training on oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus.** *Metabol* 2008; 57(2): 170-6.
- 19- Albasser MM, Amin E, Lin TC, Iordanova MD, Aggleton JP. **Evidence that the rat hippocampus has contrasting roles in object recognition memory and object recency memory.** *Behav Neurosci* 2012; 126(5): 659-69.
- 20- Vinetti G, Mozzini C, Desenzani P, Boni E, Bulla L, Lorenzetti I, et al. **Supervised exercise training reduces oxidative stress and cardiometabolic risk in adults with type 2diabetes: a randomized controlled trial.** *Sci Rep* 2015; 5: 9238.
- 21- Szkudelski T. **The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas.** *Physio Res* 2001; 50(6): 537-46.
- 22- Kakkar P, B Das, P Viswanathan. **A modified spectrophotometric Assay of superoxide dismutase.** *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics* 1984. Vol (21): 130-132.
- 23- Chen Z, He Y, Song C, Dong Z, Su Z, Xue J. **Sericin can reduce hippocampal neuronal apoptosis by activating the Akt signal transduction pathway in a rat model of diabetes mellitus.** *Neural regeneration research* 2012; 7(3):197-201.
- 24- Li PA, Shuaib A, Miyashita H, He QP, Siesjö BK. **Hyperglycemia enhances extracellular glutamate accumulation in rats subjected to forebrain ischemia.** *Stroke* 2000; 31(1): 183-92.
- 25- Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S, Yokota T. **Oxidative stress in cardiac and skeletal muscle dysfunction associated with diabetes mellitus.** *J Clin Bioche Nutr* 2011; 48(1): 68-71.
- 26- Oztasan N, Taysi S, Gumustekin K, Altinkaynak K, Aktas O, Timur H, et al. **Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rat.** *Eur J Appl Physiol* 2004; 91(5-6): 622-7.
- 27- Cunha TF, Bacurau AV, Moreira JBN, Paixaõ NA, Campos JC, Ferreira JC, et al. **Exercise training prevents oxidative stress and**

- ubiquitin proteasome system over activity and reverse skeletal muscle atrophyn heart failure.* PLoS One 2012; 7(8): e41701.
- 28- Farhangi N, Nazem F, Zehsaz F. *Effect of Endurance Exercise on Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation in the Heart of the Streptozotocin-Induced Diabetic Rats.* JSSU 2017; 24 (10): 798-809. [Persian]
- 29- Alghadir AH, Gabr SA Anwer S, Al-Eisa E. *Fatigue and oxidative stress response to physical activity in type 2 diabetic patients.* Int J Diabetes Dev Ctries 2015; 36(1): 59-64. [Persian]
- 30- Hamakawa M, Ishida A, Tamakoshi K, Shimada H, Nakashima H, Noguchi T, et al. *Repeated short-term daily exercise ameliorates oxidative cerebral damage and the resultant motor dysfunction after transient ischemia in rats.* J Clin Biochem Nutr 2013; 53(1): 8-14.
- 31- Laufs U, Werner N, Link A, Endres M, Wassmann S, JürgensK, et al. *Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis.* Circulation 2004; 109(2): 220-26.
- 32- Pereira AdS, Spagnol AR, Luciano E, Leme JACdA. *Influence of aerobic exercise training on serum markers of oxidative stress in diabetic rats.* J Physical Education 2016; 27(3): 20-9.
- 33- Pilch W, Szygula Z, Tyka AK, Palka T, Tyka A, Cison T, et al. *Disturbances in pro-oxidant-antioxidant balance after passive body overheating and after exercise in elevated ambient temperatures in athletes and untrained men.* PloS one 2014; 9(1): 85320.
- 34- Aksoy Y, Yapanoğlu T, Aksoy H, Demircan B, Öztaşan N, Canakci E, Malkoc I. *Effects of endurance training on antioxidant defense mechanisms and lipid peroxidation in testis of rats.* Archives of andrology 2006; 52(4): 319-23.
- 35- Ogonovszky H, Sasvári M, Dosek A, Berkes I, Kaneko T, Tahara S, et al. *The effects of moderate, strenuous, and overtraining on oxidative markers and DNA repair in rat liver.* Can J Appl physiol 2005; 30(2): 186-95.
- 36- Finkel T, Holbrook NJ. *Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing.* Nature 2000; 9; 408(6809): 239-47.
- 37- Wei D, Zhang XL, Wang YZ, Yang CX, Chen G. *Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy.* Aust Dent 2010; 55(1):70-8.

Effect of 6-weeks of endurance training on the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes in the hippocampus of experimental diabetic male Wistar rats

Mohammad Rami^{*1}, Abdolhamid Habibi², Mozhdeh Khajehlandi³

Original Article

Introduction: Scientific evidence suggests the role of oxidative stress in diabetes and the development of its complications. Pre-preparation by aerobic exercise with increasing antioxidant power of neuronal cells can reduce oxidative stress and increase the resistance of the hippocampal region neurons. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of 6weeks of endurance training on the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes in the hippocampus of experimental diabetic male Wistar rats.

Methods: In this experimental study, 24 male rats (245 ± 9.4 g) aged 10 weeks were divided into 4 groups of 6 rats each. The diabetic rats were diabetic by intraperitoneal injection of STZ. The exercise program included 6 weeks of moderate intensity endurance training. At the end of 6 weeks, the hippocampal tissue samples were extracted, 24 hours after the last training session. Descriptive one-way analysis of variance (ANOVA) was used in different group. If analysis were significant, differences between groups were estimated using Scheffe post-hoc test. Significance was defined as $P \leq 0.05$. Statistical analysis was performed using SPSS software version 23.

Results: After 6 weeks of endurance training, the level of superoxide dismutase in both groups, healthy training and diabetic training, was significantly increased, and in the diabetic control group, there was a significant decrease ($P < 0.001$). Glutathione peroxidase levels in the two groups, training and healthy control group, were significantly different compare to the diabetic control group ($P \geq 0.05$). There was no significant difference between the three groups ($P \geq 0.05$).

Conclusion: Based on the results, it can be concluded that endurance training may be effective in increasing the anti-oxidant defense of the hippocampal tissue of diabetic rats.

Keywords: Aerobic exercise, Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase, Hippocampus

Citation: Rami M, Habibi A, Khajehlandi M. Effect of 6-weeks of endurance training on the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes in the hippocampus of experimental diabetic male Wistar rats. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2018; 26(6): 483-94.

¹Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

²Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

³Department of Sport Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

*Corresponding Author: Tel: 09166409474, email: M.rami@scu.ac.ir