پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش
دورهٔ ۱۳، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۴۰۰
ص ص : ۱۶۲- ۱۵۳

بررسی میزان تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت ریه پس از تمرین استقامتی همراه با مصرف بربرین کلراید در رت‌های ویستار دیابتی

الهام فرهادفر [۱] – ناصر بهپور*[۲] – محمدعلی آذربایجانی [۳] – علی مرادی [۴]

۱.دانشجوی دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران ۲. دانشیار، دانشکدهٔ علوم ورزشی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران۳. استاد، دانشکدهٔ علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران۴. دانشیار، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

(تاریخ دریافت : ۰۱/ ۰۴/ ۱۳۹۹ ، تاریخ تصویب : ۱۴ / ۰۷ / ۱۳۹۹)

چکیده

تمرین هوازی و بربرین کلراید هر دو خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند، بنابراین پژوهش حاضر درصدد بررسی میزان تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت ریه پس از تمرین استقامتی همراه با مصرف بربرین کلراید در رت‌های ویستار دیابتی بود. به این منظور، ۴۰ سر رت نر بالغ نژاد ویستار ۲۰۰ تا۲۵۰ گرمی به‌صورت تصادفی در ۵ گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی (با تزریق STZ)، تجربی دیابتی+تمرین بدنی، تجربی دیابتی+مصرف بربرین (۵۰ mg/kg)، تجربی دیابتی+تمرین بدنی+ مصرف بربرین قرار گرفتند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین، حیوانات با استفاده از تزریق درون‌صفاقی کتامین بی‌هوش شده و بافت ریه به‌منظور سنجش تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز جدا شد. از آزمون تی زوجی و آزمون تحلیل واریانس به‌منظور تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخهٔ ۲۲) و در سطح α=۰/۰۵ استفاده شد. نتایج نشان داد که نسبت به گروه کنترل میزان فعالیت‌های آنزیم CAT، SOD و GPX در تمامی گروه‌های تجربی به‌طور معناداری بالاتر بود (P=۰/۰۰۱). اثر مداخله در گروه دیابتی+تمرین+بربرین در مقایسه با گروه دیابتی+تمرین و گروه دیابتی+بربرین به‌طور معناداری بالاتر بود. نتیجهٔ نهایی اینکه تمرین استقامتی و مصرف بربرین کلراید می‌تواند سبب افزایش معنادار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت ریه در رت‌های دیابتی شود.

واژه‌های کلیدی

بربرین کلراید، دیابت شیرین، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز.

* نویسندهٔ مسئول : تلفن : ۰۹۱۲۳۲۷۱۸۷۳

Email: n_behpoor@yahoo.com

مقدمه

بیماران دیابتی مستعد مجموعه‌ای از مشکلات مزمن هستند و در خطر مرگ زودرس قرار دارند. مشکلات ریزعروقی در عرض ۵ تا ۱۰ سال اولیهٔ این بیماری بروز می‌کنند و شامل رتینوپاتی، نفروپاتی، و نوروپاتی دیابتی است (۱). مشکلات درشت عروقی شامل بیماری کرونر قلبی، حوادث عروق مغزی، و بیماری عروق محیطی ۱۵ تا ۲۰ سال پس از وقوع دیابت رخ می‌دهند و بسیار با مرگ‌ومیر همراهند. مشکلاتی نیز ممکن است در پوست و بافت همبند رخ دهد. مشکلاتی که دیابت در ریه‌ها و عملکرد تهویه‌ای ایجاد می‌کند، کمتر بررسی و شناخته شده‌اند. نقصان عملکرد تهویه‌ای در بیماران دیابتی بدون علامت گزارش شده است (۲). یافته‌های کالبدشکافی در آزمودنی‌های انسانی دیابتی و آزمایش روی موش‌های دیابتی دلالت بر ضخیم شدن اپیتلیای آلوئولی، لامینای پایهٔ مویرگ‌های ریوی، آمفیزم لوبول مرکزی، و میکروآنژیوپاتی ریوی دارند (۳). این تغییرات آناتومیکی می‌تواند از تغییرات بیوشیمیایی اجزای تشکیل‌دهندهٔ بافت همبند به‌علت گلیکوزیله شدن غیرآنزیمی پروتئین‌ها و پپتیدها در اثر غلظت‌های مزمن و بالای گلوکز گردش خونی ناشی شده باشد (۴). برخی محققان تغییرات فوق‌ساختاری در پنوموسیت‌ها، اپیتلیوم برونشی و پروتئین‌های بافت همبند را در موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین عنوان کرده‌اند (۵).

دیابت، مجموعه‌ای از اختلالات سوخت‌وسازی با هایپرگلایسمیا یا افزایش قند خون و بی‌کفایتی در تولید یا عمل انسولین تولیدشده توسط پانکراس است (۶). غیر از هایپرگلایسمیا، عوامل متعدد دیگری از جمله هایپرلیپیدمیا و استرس اکسایشی در پاتوژنز بیماری دیابت نقش دارند (۷) و گلیکوزیله شدن غیرآنزیمی پروتئین‌ها و تغییرات متابولیسم نیتریک اکساید نیز به‌عنوان نشانگرهای سوخت‌وسازی وضعیت دیابتی گزارش شده‌اند (۸). استرس اکسایشی تقریباً با انواع وضعیت‌های پاتولوژیک و به‌خصوص با روند التهاب مرتبط است (۹). مشخصهٔ استرس اکسایشی، افزایش تولید اکسیدان‌های سلولی (سوپراکساید دیسموتاز، پراکسید هیدروژن و نیتریک اکساید) یا کاهش غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (شامل گلوتاتیون پراکساید، سوپراکساید دیسموتاز و کاتالاز) است. افزایش فشار اکسایشی با بیماری‌هایی از جمله دیابت مرتبط دانسته شده است (۱۰، ۱۱). اغلب دیابت با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد (۱۲) یا نقص در سیستم آنتی‌اکسیدانی (۱۳) مرتبط است. فشار اکسایشی از طریق افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و نیز فعال کردن مسیرهای آپوپتوزی می‌تواند سبب آسیب بافتی و توسعهٔ مقاومت به انسولین شود (۱۴). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز در پیشگیری از آسیب اکسایشی نقش مهمی ایفا می‌کنند (۱۵). آنزیم گلوتاتیون پراکساید در سلول‌ها پراکساید را به آب تبدیل می‌کند (۶) و هرگونه تغییر در سطوح این آنزیم می‌تواند سلول را مستعد استرس اکسایشی و آسیب سلولی سازد. کاتالاز، سوخت‌وساز $H2O2$ را تنظیم می‌کند که عامل عمدهٔ آسیب به RNA و DNA است و افزایش آن می‌تواند فعالیت متابولیکی سلول‌های بتا را کاهش دهد (۱۶). آنزیم سوپراکساید دیسموتاز نیز اولین خط دفاعی علیه گونه‌های واکنشی اکسیژن است که عامل آسیب سلولی‌اند. این آنزیم سوپراکساید را به اکسیژن و پراکساید تبدیل می‌کند و می‌تواند سوپراکساید را به عناصر کمتر سمی تجزیه کند (۱۷).

با افزایش دانش بشری در مورد دیابت، نیاز شدیدی برای یافتن عوامل یا ترکیبات مؤثر با حداقل عوارض جانبی در درمان خود بیماری و اختلالات ناشی از آن احساس می‌شود (۱۸). از روزگاران قدیم از طب گیاهی برای درمان

دیابت و جلوگیری از پیشرفت آن استفاده می‌شده است (۱۹). در بین داروهای گیاهی مؤثر در دیابت، گیاه زرشک با داشتن جزء بربرین کلراید که یک آلکالوئید ایزوکوئینولین است، از پتانسیل بالای ضدالتهابی و ضداکسیدانی برخوردار بوده و پایین‌آورندهٔ قند خون است (۲۰). خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهاب و درد، کاهندهٔ فشار خون، هیپوگلیسیمی و پایین‌آورندهٔ چربی، تنظیم کلسترول خون، بهبود عملکرد قلب و عروق، بهبود عملکرد کبد، تنظیم قند خون، کاهش وزن، ضدسرطان و ضدمیکروب، برای بربرین گزارش شده است (۲۱، ۲۲). نشان داده شده است در جوندگانی که با دستکاری ژنتیکی و تغذیه‌ای دچار دیابت نوع ۲ شده‌اند، بربرین سبب کاهش قند خون، افزایش حساسیت به انسولین، کاهش وزن و کاهش انسولین ناشتا شده است (۲۲). گفته شده است که ریشهٔ زرشک می‌تواند هم نقش پیشگیری‌کننده و هم نقش درمانی را در برابر عوارض دیابت ایفا کند (۲۳). مقدم و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که درمان با بربرین به‌طور معناداری به کاهش استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین منجر شده است (۲۴). در درمان موش‌های دیابتی با بربرین نیز افزایش معناداری در بیان SOD مشاهده شده است (۲۵، ۲۶).

از سوی دیگر، شواهدی مبنی بر تأثیر معنادار ورزش و فعالیت بدنی در درمان دیابت وجود دارد. برای مثال، نشان داده شده است که ورزش می‌تواند اختلال در تحمل گلوکز را بهبود بخشد (۲۷) و موجب کاهش هایپرگلایسمیا در دیابت نوع یک (۲۸) شود. برخی تحقیقات هم نشان داده‌اند که تمرینات کوتاه‌مدت شدید ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام را کاهش می‌دهند (۱۵، ۱۸). پژوهش هایدیگر نشان داد که تمرین استقامتی و سازگاری با تمرینات سبک و هوازی، موجب کاهش معنادار فشار اکسایشی عضلات اسکلتی می‌شود و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند CAT و GPX را بالا می‌برد (۲۱، ۲۵).

از آنجا که تأثیر همزمان و جداگانهٔ تمرینات استقامتی و مصرف بربرین کلراید بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تاکنون به‌وضوح مشخص نشده است، پژوهش حاضر قصد دارد با پرداختن به این موضوع، خلأ اطلاعاتی موجود در این زمینه، و به‌خصوص بافت ریه را تا حدودی پر کند.

روش‌شناسی تحقیق

پس از اینکه تمامی مراحل پژوهش مورد تأیید کمیتهٔ اخلاق در پژوهش در پژوهشکدهٔ تحقیقات پردیس دانشگاه علوم پزشکی بین‌الملل یزد قرار گرفت، با مراجعه به انستیتو پاستور تهران، ۴۰ سر رت نر بالغ نژاد ویستار ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرمی خریداری شد. در محیط آزمایشگاه با دمای ۲۴±۱ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت نسبی (۴۰±۳ درصد)، رت‌ها در گروه‌های ۸ سری، در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف در چرخهٔ تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. دسترسی حیوانات به آب و غذا (شامل پروتئین ۲۳ درصد، چربی خام ۴/۵- ۳/۵ درصد، فیبر خام ۴/۵- ۴ درصد و مواد معدنی و ویتامین‌های کافی، ساخت شرکت بهپرور ایران) آزاد بود. برای گروه کنترل سالم، ۸ سر رت به‌طور تصادفی انتخاب شد که به آنها معادل STZ تزریقی در گروه‌های تجربی، محلول نرمال‌سالین تزریق شد. باقیماندهٔ رت‌ها برای القای دیابت توسط استرپتوزوتوسین استفاده شدند. ۱۲ ساعت پیش از تزریق STZ و القای دیابت، حیوانات در وضعیت گرسنگی قرار داده شدند. سپس، ۶۰ mg/kg داروی استرپتوزوتوسین حل‌شده در بافر سیترات سدیم (۱۰۰mM) با PH= ۴/۵، به‌صورت تک‌مرحله‌ای و داخل‌صفاقی تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق و ۱۲ ساعت گرسنگی شبانه، و برای کسب اطمینان از دیابتی شدن، به‌وسیلهٔ دستگاه گلوکومتر ۰۱ ساخت ژاپن، غلظت

گلوکز خون گرفته‌شده از دم اندازه‌گیری شد و حیواناتی که گلوکز خونشان بالاتر از mmol/l ۱۴ بود، انتخاب شدند. این حیوانات به‌صورت تصادفی در چهار گروه کنترل دیابتی (با تزریق STZ)، تجربی دیابتی+تمرین بدنی، تجربی دیابتی+مصرف بربرین (۵۰ mg/kg)، و تجربی دیابتی+تمرین بدنی+ مصرف بربرین قرار داده شدند. بربرین کلراید و استرپتوزوتوسین از شرکت سیگما تهیه شده بودند. برنامهٔ تمرینی کای (Chae)و همکاران (۲۹) نیز به‌عنوان پروتکل تمرینی در نظر گرفته شد. در این برنامه، طی دو هفته سازگاری با محیط، به رت‌ها راه رفتن روی تردمیل ۱۲کاناله با سرعت پایین [۴ -۵m/min] آموزش داده شد. برنامهٔ چهارهفته‌ای فعالیت بدنی استقامتی، که با افزایش تدریجی سرعت و زمان همراه بود، در هفتهٔ اول با سرعت ۱۰ m/min به مدت ۱۰ دقیقه، در هفتهٔ دوم با سرعت ۱۰ m/min و به مدت ۲۰ دقیقه، در هفتهٔ سوم با سرعت ۱۴-۱۵ m/min به مدت ۲۰ دقیقه، در هفتهٔ چهارم با سرعت ۱۴-۱۵ m/min به مدت ۳۰ دقیقه انجام گرفت. تمرینات ۵ روز در هفته بود و برای گرم کردن در ابتدا، و سرد کردن در انتهای جلسات، ۳ دقیقه فعالیت با سرعت ۴-۵ m/min انجام می‌گرفت. از شوک الکتریکی برای تحریک رت‌ها به فعالیت استفاده نشد تا استرسی بدین‌وسیله به آنها وارد نشود. به‌منظور پرهیز از تأثیرات حاد جلسهٔ تمرین، در انتهای دوره و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه و ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه خون‌گیری و سپس کشتن و خارج کردن بافت انجام گرفت. برای این کار، ابتدا با استفاده از تزریق کتامین و زایلازین، رت‌ها بی‌هوش و کشته شدند. سپس بافت ریه به‌سرعت خارج شده، در سالین بسیار سرد شست‌وشو داده شده، و هموژنات ۱۰ درصد در ۱/۱۵ درصد [w/v] کلرورپتاسیم تهیه شد. با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد هموژنات سانتریفیوژ شده و محلول شناور به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) با استفاده از کیت شرکت ZelliBio ساخت آلمان استفاده شد. تمامی مراحل در آزمایشگاه پردیس علوم پزشکی مرکز بین‌الملل یزد انجام گرفت. در پایان هر هفته برای بررسی تغییرات ظاهری رت‌ها، وزن، شاخص تودهٔ بدن، دور شکم به دور قفسهٔ سینه (مقیاس D)، و VO2max هر دو هفته یک‌بار اندازه‌گیری شد. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز توسط روش نیشیکیمی (Nishikimi) مورد سنجش قرار گرفت و از طریق روش کاکار نیز تعدیل شد (۳۰). فعالیت کاتالاز از طریق روش کلایبورن و براساس تجزیهٔ پراکسید هیدروژن در ۲۴۰nm به شکل «فعالیت کاتالاز در دقیقه» محاسبه شد. فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از روش روتروک و همکاران (۲۰۱۷) سنجش شد و به‌صورت میکرومول گلوتاتیون اکسید/ دقیقه/ میلی‌گرم پروتئین بیان شد. برای تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد استفاده شد (۳۰، ۳۱).

از آزمون t وابسته برای بررسی تغییرات درون‌گروهی و از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) برای بررسی تغییرات بین‌گروهی استفاده شد. در صورت مشاهدهٔ تفاوت معنادار بین گروه‌ها، از آزمون تعقیبی توکی (Tukey) برای مقایسهٔ دوبه‌دوی میانگین گروه‌ها استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ انجام گرفت و P≤۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج تحقیق

نتایج نشان داد که نسبت به گروه کنترل، وزن موش‌های گروه دیابتی کاهش معناداری (P≤۰/۵) داشت (جدول ۱). درمان با بربرین سبب افزایش معنادار (P=۰/۰۲۱) وزن بدن موش‌های دیابتی شد و بین گروه‌ها

تفاوت معناداری در مقادیر میانگین‌های SOD، CAT و GPx وجود داشت (جدول ۲). نتایج مقایسهٔ دوبه‌دوی گروه‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنزیم CAT، SOD و GPx در گروه کنترل سالم در مقایسه با گروه‌های تجربی به‌طور معناداری (P=۰/۰۰۱) پایین‌تر بود. همچنین میزان فعالیت آنزیم‌ها در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به‌طور معناداری بالاتر بود. بین دو گروه دیابتی+بربرین و گروه دیابتی+تمرین، در هیچ‌کدام از متغیرهای وابسته تفاوت معناداری مشاهده نشد.

جدول ۱. میانگین و انحراف استاندارد وزن بدن پس از اعمال برنامهٔ تمرین در گروه‌های مطالعه

	کنترل	کنترل دیابتی	دیابتی+تمرین	دیابتی+بربرین	دیابتی+تمرین+بربرین
پیش از تمرین (گرم)	۲۱۱/۲±۱/۲	۲۳۲/۱±۴/۷	۲۱۵/۲±۱/۷	۲۱۷/۲±۳/۵	۲۱۱/۱±۵/۸
پس از تمرین (گرم)	۲۱۱/۲±۴/۴	۲۱۱/۲±۵/۵	۲۱۹/۱±۴/۳ *	۲۲۵/۲±۴/۱ *	۲۳۱/۱±۴/۴ *

«مقادیر به‌صورت میانگین و خطای استاندارد گزارش شده‌اند، در تمامی گروه‌ها n=۸، * $P\leq$۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل»

جدول ۲. مقادیر فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و GPX در گروه‌های مورد مطالعه (U/mL)، آزمون آنوا

	گروه‌ها		f	*P*
SOD	کنترل سالم	۲۳/۳±۳/۱		
	کنترل دیابتی	۲۵/۴±۱/۷		
	دیابتی+تمرین	۲۵/۳±۷/۲	۴/۳۵	۰/۰۱ *
	دیابتی+بربرین	۲۹/۴±۶/۳		
	دیابتی+تمرین+بربرین	۲۶/۳±۶/۷		
CAT	کنترل سالم	۱۸/۲±۳/۶		
	کنترل دیابتی	۱۶/۳±۴/۵		
	دیابتی+تمرین	۲۲/۱±۷/۷	۳/۸	۰/۰۱ *
	دیابتی+بربرین	۲۰/۱±۱/۴		
	دیابتی+تمرین+بربرین	۱۹/۲±۵/۴		
GPX	کنترل سالم	۳۶/۴±۸/۷		
	کنترل دیابتی	۴۹/۵±۳/۳		
	دیابتی+تمرین	۳۷/۶±۴/۴	۶/۱۳	۰/۰۲ *
	دیابتی+بربرین	۵۰/۳±۱/۲		
	دیابتی+تمرین+بربرین	۴۰/۴±۸/۶		

نشانهٔ تفاوت معنادار *

بحث و نتیجه‌گیری

نشان داده شده است که در دیابتی‌ها، استرس اکسایشی با تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد و ازاین‌رو، به‌عنوان عامل سهیم در پیشرفت دیابت در نظر گرفته شده است (۳۲). اعتقاد بر این است که در پاسخ به افزایش استرس اکسیداتیو، و برای حفظ هموستاز، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باید از سلول حفاظت کنند (۳۳). بر همین اساس، پژوهش حاضر به بررسی تأثیر جداگانه و توأمان تمرین استقامتی و مصرف مکمل بربرین کلراید بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت ریهٔ موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین پرداخته است.

نتایج نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل دیابتی، فعالیت آنزیم SOD بافت ریه در گروه تمرین استقامتی، گروه مصرف بربرین، و گروه تمرین و مصرف همزمان بربرین به‌طور معناداری بالاتر بود. همچنین میزان فعالیت این آنزیم در گروه دیابتی+بربرین+تمرین در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معناداری بالاتر بود. سوپراکساید دیسموتاز، با کاتالیز کردن رادیکال‌های سوپراکساید و زدایش آنها بافت

را در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. کاهش این آنزیم در دیابتی‌ها می‌تواند ناشی از غیرفعال‌سازی از طریق H2o2 یا آنزیم‌های گلیکوزیله‌کننده باشد (۳۴). در پژوهش حاضر، بالاتر بودن فعالیت این آنزیم در گروه‌های تجربی، و به‌خصوص بالاتر بودن معنادار آن در گروه تمرین استقامتی به‌همراه مصرف بربرین می‌تواند حاکی از کاهش استرس اکسایشی ناشی از رادیکال‌های آزاد و نشان‌دهندهٔ افزایش محافظت سلولی ناشی از افزایش آنزیم سوپراکساید دیسموتاز باشد. در بررسی و مقایسهٔ اثر ۸ هفته تمرین هوازی و مکمل بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مردان دیابتی، شیرابراهیمی و همکاران (۲۰۱۸) کاهش معنادار در مقادیر مالون‌دی‌آلدئید، افزایش معنادار سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز مردان دیابتی نوع ۲ را نشان دادند و از این روش به‌عنوان روش درمانی غیردارویی مؤثر برای پیشگیری از تأثیرات سوء ناشی از افزایش بروز بیماری دیابت نام بردند (۳۵). مدیری و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان دادند که تمرین استقامتی سبب افزایش معنادار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و CAT بلافاصله پس از تمرین در موش‌ها می‌شود (۳۶). عزیزبیگی و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی پاسخ آنتی‌اکسیدانی به شیوه‌های مختلف تمرین استقامتی (۸ هفته، ۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر ضربان قلب)، تمرین مقاومتی (۸ هفته، ۸۰ تا ۸۵ درصد یک تکرار بیشینه) و تمرین موازی (۸ هفته، ۸۰ تا ۸۵ درصد یک تکرار بیشینه برای گروه مقاومتی و برای گروه استقامتی ۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر ضربان قلب) به این نتیجه رسیدند که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (CAT، SOD، GPx) پس از هر سه نوع تمرین به‌طور معناداری افزایش پیدا کرده است (۳۷). در حمایت از نتیجهٔ افزایش میزان SOD در پی تمرین استقامتی همراه با مصرف بربرین در تحقیق حاضر، علی‌پور و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی اثر تمرین بر استرس اکسایشی در رت‌های دیابتی نشان دادند که برنامهٔ تمرینی شامل دویدن روی تردمیل ۷ روز در هفته، ۴۰ دقیقه با سرعت ۱۷ متر در دقیقه، به مدت ۸ هفته می‌تواند سبب افزایش معنادار فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD شود (۳۰). با ۱۲ هفته تمرین منظم شنا با شدت متوسط، یک ساعت در روز و سه بار در هفته نیز در رت‌های دیابتی چاق، کاهش استرس اکسایشی و افزایش فعالیت SOD گزارش شده است (۳۸). برخلاف این نتایج، اوزکایا و همکاران (۲۰۰۲) در تحقیق روی ۴۰ رت ویستار دیابتی، افزایش غیرمعنادار SOD در گروه تمرین+دیابت را نشان دادند، ولی فعالیت CAT در آنها بی‌تغییر بود (۳۹). فعالیت ورزشی منظم به‌عنوان عامل محرک تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است. اعتقاد بر این است که در پاسخ به تمرینات استقامتی، با وجود افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بهبود می‌یابد (۴۰). افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند پاسخ جبرانی در جهت مقابله با افزایش استرس اکسایشی ناشی از تولید بیش از حدّ رادیکال‌های آزاد باشد (۳۹). به‌طوری‌که مبنی بر شواهد علمی، پراکسید هیدروژن که در سلول‌ها توسط GPx یا CAT و SOD خنثی می‌شود، در عروق بیماران دیابتی افزایش می‌یابد که می‌تواند نشان‌دهندهٔ قرارگیری طولانی‌مدت در معرض استرس اکسایشی و دلیلی مبنی بر افزایش فعالیت GPx یا CAT و SOD برای مقابله با این استرس باشد (۳۸).

GPx از طریق اکسایش گلوتاتیون و تبدیل H2o2 به آب، می‌تواند در محافظت سلولی شرکت کند (۴۱). کاهش فعالیت این آنزیم در بافت‌ها در دیابت می‌تواند به آثار مخربی در اثر تجمع محصولات سمی منجر شود (۴۲). در حال حاضر توجه وافری به ایدهٔ نقش احتمالی آسیب بافتی القاشده با رادیکال‌های آزاد در توسعهٔ عوارض ناشی از دیابت معطوف شده است (۴۳).

H2o2 یکی از محصولات متابولیسمی است که باید به‌سرعت از بدن دفع و زدایش شود. این کار توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر آنزیم کاتالاز انجام می‌گیرد و در غیر این صورت، تجمع این ماده در بدن ممکن است سبب اختلال عملکرد سلول‌های بتا و در نهایت دیابت شود (۴۴). کاتالاز نقش مهمی در از بین بردن خاصیت سمی آب‌اکسیژنه دارد (۴۵).

افزایش چشمگیر سطح کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز متعاقب مداخلهٔ تمرین در پژوهش حاضر می‌تواند نشان‌دهندهٔ اثر مداخله تمرین در کاهش یا مهار استرس اکسیداتیو در بافت ریهٔ موش‌های دیابتی از مسیر افزایش سطح آنتی‌اکسیدانی باشد. مکمل‌های غذایی، منابع مناسب ترکیبات آنتی‌اکسیدانی‌اند و در بهبود سلامت عمومی بدن مؤثرند. مکمل بربرین به‌عنوان پاک‌کنندهٔ مستقیم و آنتی‌اکسیدان غیرمستقیم در سلول عمل می‌کند. همچنین بربرین به‌طور مستقیم انواع گونه‌های اکسیدکننده را خنثی کرده و سلول‌ها را از آسیب اکسیداتیو با تحریک سنتز GSH و ارتقای فعالیت آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدان محافظت می‌کند (۱۵). از سازوکارهای دیگر تأثیر این مکمل می‌توان از اثر مهاری بربرین بر نوراپی‌نفرین و افزایش القای H2O2 نام برد (۲۵). به‌نظر می‌رسد بربرین با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، به‌عنوان جمع‌کنندهٔ رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند و با جلوگیری از تجمع گونه‌های اکسیژن فعال و تنش اکسیداتیو، سبب افزایش آنزیم‌های CAT و SOD و GPX می‌شود. مکمل بربرین مسیر مکانیسم عمل آمینوترانسفرازها را از طریق بهبود وضعیت در تولید آنزیم پیریدوکسال فسفات و همچنین با تولید آنتی‌اکسیدان تسهیل می‌بخشد و سبب ترمیم آسیب DNA پروتئین‌ها و لیپیدها می‌شود. در مجموع آسیب‌های پروتئینی ایجادشده توسط ROS در محیط‌های طبیعی داخلی بدن مهم است (۲۲)، چراکه بر عملکرد رسپتورها، آنزیم‌ها و پروتئین‌های انتقالی اثر می‌گذارد و در تخریب‌های ثانویهٔ دیگر بیومولکول‌ها از طریق غیرفعال کردن آنزیم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های بازسازی‌کننده هم شرکت دارد (۲۵).

نتیجهٔ تحقیق حاضر نشان داد تمرینات استقامتی به‌همراه مکمل بربرین می‌تواند بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت ریه در رت‌های دیابتی تأثیر معنادار و مؤثری داشته باشد و از استرس اکسایشی ناشی از ورزش و همچنین بیماری دیابت جلوگیری کند. با توجه به اینکه بین آثار تمرین و مکمل به‌تنهایی و همچنین توأمان تفاوت معناداری وجود نداشت، به‌نظر می‌رسد که می‌توان به بیماران دیابتی استفاده از هر کدام از مداخلات تجربی به‌کاررفته در این پژوهش را توصیه کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از رسالهٔ دکتری الهام فرهادفر در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد است. نویسندگان مراتب تشکر و سپاس خود را از تمامی کسانی که به هر نحوی ما را در انجام این تحقیق یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع و مآخذ

1. Cefalu, W.T., Medical management of diabetes mellitus. 2000: CRC Press.
2. Cooper, B., et al., Lung function in patients with diabetes mellitus. Respiratory medicine, 1990. 84(3): p. 235-239.
3. Kodolova, I., L. Lysenko, and B. Saltykov, Changes in the lungs in diabetes mellitus. Arkhiv patologii, 1982. 44(7): p. 35-40.
4. Brownlee, M., H. VLASSARA, and A. Cerami, Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. Annals of internal medicine, 1984. 101(4): p. 527-537.
5. OFUWE ,A.F., K. Kida, and W.M. Thurlbeck, Experimental diabetes and the lung. Am Rev Respir Dis, 1988. 137: p. 162-166.
6. Maritim, A., a. Sanders, and J. Watkins Iii, Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. Journal of biochemical and molecular toxicology, 2003. 17(1): p. 24-38.
7. Kangralkar, V., S.D. Patil, and R. Bandivadekar, Oxidative stress and diabetes: a review. International Journal of Pharmaceutical Applications, 2010. 1(1): p. 38-45.
8. Marvisi, M., et al., Pulmonary complications in diabetes mellitus. Recenti progressi in medicina, 1996. 87(12): p. 623-627.
9. McLeay, Y., et al., Dietary thiols in exercise: oxidative stress defence, exercise performance, and adaptation. Journal of the international society of sports nutrition, 2017. 1 :(١)١٤p. 1-8.
10. McCord, J.M., Superoxide radical: controversies, contradictions, and paradoxes. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1995. 209(2): p. 112-117.
11. Ceriello, A., Oxidative stress and glycemic regulation. Metabolism, 2000. 49(2): p. 27-29.
12. Baynes, J.W. and S.R. Thorpe, Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. Diabetes, 1999. 48(1): p. 1-9.
13. Saxena, A.K., et al., Impaired antioxidant status in diabetic rat liver: effect of vanadate. Biochemical pharmacology, 1993. 45(3): p. 539-542.
14. Fattahi Bafghi, A., H.M. Homaee, and M.A. Azarbayjani, Effects of high intensity interval training and curcumin supplement on antioxidant enzyme in heart tissue of diabetic rats. Iranian Journal of Diabetes and Obesity, 2016. 8(3): p. 135-141.
15. Almani, S.A., et al., Free radical scavenging activity of Berberine in acetaminophen induced liver injury. International Journal of Surgery and Medicine, 2017. 3(1): p. 27-36.
16. Maechler, P., L. Jornot, and C.B. Wollheim, Hydrogen peroxide alters mitochondrial activation and insulin secretion in pancreatic beta cells. Journal of Biological Chemistry, 1999. 274(39): p. 27905-27913.
17. Tiwari, B.K., et al., Markers of oxidative stress during diabetes mellitus. Journal of biomarkers, 2013. 2013.
18. Pitocco, D., et al., Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. The review of diabetic studies: RDS, 2010. 7(1): p. 15.

19. Ning, G., et al., Progress in diabetes research in China .Journal of Diabetes, 2009. 1(3): p. 163-172.
20. Wang, Y., et al., Hypoglycemic and insulin-sensitizing effects of berberine in high-fat diet- and streptozotocin-induced diabetic rats. Metabolism, 2011. 60(2): p. 298-305.
21. Derosa, G., P. Maffioli, and A.F. Cicero, Berberine on metabolic and cardiovascular risk factors: an analysis from preclinical evidences to clinical trials. Expert opinion on biological therapy, 2012. 12(8): p. 1113-1124.
22. Amritpal, S., et al., Berberine: alkaloid with wide spectrum of pharmacological activities. Journal of Natural Products (India), 2010. 3: p. 64-75.
23. Ashraf, H., et al., Evaluation of aqueous extract of Berberis Integerrima root on the testis tissue and testosterone levels in stereptozotocine (stz) induced diabetic rats. Qom University of Medical Sciences Journal, 2013. 7(4): p. 28-35.
24. Kalalianmoghadam, H., et al.,The effect of berberine chloride on hippocampus oxidative stress of streptozotocin-diabetic rats. 2014
25. Cicero, A.F. and A. Baggioni, Berberine and its role in chronic disease, in Anti-inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases. 2016, Springer. p. 27-45.
26. Xiao, D., et al., Berberine derivatives with different pharmacological activities via structural modifications. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2018. 18(17): p. 1424-1441.
27. Pan, X.-R., et al., Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance: the Da Qing IGT and Diabetes Study. Diabetes care, 1997. 20(4): p. 537-544.
28. Yardley, J.E ,.et al., Resistance versus aerobic exercise: acute effects on glycemia in type 1 diabetes. Diabetes care, 2013. 36(3): p. 537-542.
29. Lesslie, M., Investigations of biologically relevant free radicals utilizing novel gas-phase analytical techniques. 20.۱۷
30. Alipour, M., I. Salehi, and F.G. Soufi, Effect of exercise on diabetes-induced oxidative stress in the rat hippocampus. Iranian red crescent medical journal, 2012. 14(4): p. 222.
31. Farhangi, N., F. Nazem, and F. Zehsaz, Effect of endurance exercise on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the heart of the streptozotocin-induced diabetic rats. SSU_Journals, 2017. 24(10): p. 798-809.
32. Chae, C., et al., RETRACTED: Treadmill exercise improves cognitive function and facilitates nerve growth factor signaling by activating mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase1/2 in the streptozotocin-induced diabetic rat hippocampus. 2009, Elsevier.
33. Tsutsui, H., et al., Oxidative stress in cardiac and skeletal muscle dysfunction associated with diabetes mellitus. Journal of clinical biochemistry and nutrition, 2010. 48(1): p. 68-71.
34. Sözmen, E.Y., et al., Catalase/superoxide dismutase (SOD) and catalase/paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control. Archives of medical research, 2001. 32(4): p. 283-287.

35. Shirebrahimi, E., M.R. Ramezan poor, and M. Hejazi, A Comparison of the Effect of Eight Weeks Aerobic Training and Vitamin C Supplements Consumption on Antioxidant Enzymes in Men With Type ۲ Diabetes. Quarterly of Horizon of Medical Sciences, 2018. 24(2): p. 103-110.
36. Modir, M., et al., The effects of short and middle times aerobic exercise with high intensities on ingredients antioxidant in female Sprague Dawley rats. medical journal of mashhad university of medical sciences, 2014. 57(3): p. 587-595.
37. Azizbeigi, K., et al., Antioxidant enzymes and oxidative stress adaptation to exercise training: Comparison of endurance, resistance, and concurrent training in untrained males. Journal of Exercise Science & Fitness, 2014. 12(1): p. 1-6.
38. Teixeira-Lemos, E., et al., Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. Cardiovascular diabetology, 2011. 10(1): p. 12.
39. Ozkaya, Y., et al., The effect of exercise on brain antioxidant status of diabetic rats. Diabetes & metabolism, 2002. 28(5): p. 377-384.
40. Dong, C.-X., et al., Characterization of structures and antiviral effects of polysaccharides from Portulaca oleracea L. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 2010. 58(4): p. 507-510.
41. Golbidi, S., M. Badran, and I. Laher, Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise in diabetic patients. Experimental diabetes research, 2011. 201.2.
42. Pereira, A.d.S., et al., Influence of aerobic exercise training on serum markers of oxidative stress in diabetic rats. Journal of physical education, 2016. 27.
43. Mirzaei, B., Comparing the effects of acute exhaustive exercise on cardiac troponin T serum and malondialdehyde of heart tissue response levels of endurance trained young rats. Journal of Sport and Biomotor Sciences, 2013. 5(9): p. 16-24.
44. Jamieson, D., et al., The relation of free radical production to hyperoxia. Annual review of physiology, 1986. 48(1): p. 703-719.
45. Songstad, N.T., et al., Effects of high intensity interval training on pregnant rats, and the placenta, heart and liver of their fetuses. PloS one, 2015. 10(11): p. e0143095.

Evaluation of Changes in Lung Tissue Antioxidant Enzymes after Endurance Training with The Berberine Chloride Usage in Diabetic Wistar Rats

Elham Farhadfar[1]- Naser Behpour*[2] - MohammadAli Azarbaaeijani[3] - Ali Moradi[4]

1. Ph.D student, Islamic Azad University, Boroujerd Branch, Boroujerd, Iran2. Associate Professor, Faculty of physical education and sport sciences. Razi University, Kermanshah, Iran3. Professor, Islamic Azad University, Tehran Branch, Tehran, Iran4. Associate Professor, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

(Received:2020/6/21;Accepted:2020/10/5)

Abstract

Aerobic training and berberine chloride both have antioxidant characteristics, therefore the present study aimed to evaluate the changes in lung tissue antioxidant enzymes after endurance training with the use of berberine chloride in diabetic vestibular rats. For this purpose, 40 adult male Wistar rats weighing approximately 200-250 g were randomly divided into 5 groups including healthy control ,diabetic control group (with STZ injection), diabetic experimental group+physical Exercise, diabetic experimental group + berberine Intake (50 mg/kg), diabetic experimental group+physical exercise+ berberine Intake. 24 hours after the last exercise session, the animals were anesthetized with an intraperitoneal injection of Ketamine and lung tissue was harvested to measure the antioxidant enzyme activity of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase. Paired t-test and ANOVA were used to analyze the data using SPSS software (version 22) with significant level $\alpha=0.05$. The results showed that compare to control group, the level of CAT, SOD and GPX activity was significantly higher in all of the experimental groups (P=0.001). In comparison to the diabetic + training group and the diabetic + berbine group, the effects of intervention was significantly higher in the diabetic+training+berberine group. The final conclusion indicated that endurance training with berberin chloride consumption can cause a significant increase in the anti-oxidant enzyme activity in the lung tissue of diabetic rats.

Keywords

Berberine chloride, Catalase, Diabetes mellitus, Glutathione peroxidase, Superoxide dismutase.

* Corresponding Author: Email: n_behpoor@yahoo.com Tel:+989123271873