فیزیولوژی ورزشی شماره ۲۵، بهار ۱۳۹۴. صص ۱۳۰-۱۰۹

اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف عصارهٔ آبی کلالهٔ زعفران بر میزان مالون‌دی‌آلدئید و سیستم آنتی‌اکسیدانی قلب و ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز موش‌های صحرایی نر جوان پس از یک جلسه فعالیت حاد وامانده‌ساز

امیر خسروی[۱]، بهمن میرزایی[۲]، جواد مهربانی[۳]، بهرام رسولیان[۴]

۱. استادیار دانشگاه آیت الله العظمی بروجردی(ره) بروجرد
۲. دانشیار دانشگاه گیلان*
۳. استادیار دانشگاه گیلان
۴. دانشیار دانشگاه علوم پزشکی لرستان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۷/۰۳

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف عصارهٔ آبی کلالهٔ زعفران بر میزان مالون‌دی‌آلدئید و سیستم آنتی‌اکسیدانی قلب و ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز موش‌های صحرایی نر جوان پس از یک جلسه فعالیت حاد وامانده‌ساز بود. ۶۴ سر موش سه ماهه (وزن۲۶±۲۱۲) در چهار زیرگروه (هر زیرگروه ۱۶ سر) (CW-۱= مصرف آب مقطر ؛CSW -۲= مصرف عصارهٔ آبی زعفران ؛ETW-۳ = مصرف آب مقطر +تمرین ؛ETSW-۴ = مصرف عصارهٔ آبی زعفران +تمرین) دسته‌بندی شدند. موش‌های زیرگروه تمرین در پنج روز متوالی هفته، پنج جلسهٔ ۶۰ دقیقه‌ای با سرعت ۲۵ متر در دقیقه در شیب ۱۰ درصد روی نوارگردان دویدند. در پایان دورهٔ آزمایش، نیمی از هر زیرگروه بدون وامانده‌شدن و نیم دیگر بلافاصله پس از وامانده‌شدن قربانی شدند و مقادیر سوپراکسیداز دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پروکسیداز، غلظت پروتئین و مالون‌دی‌آلدئید قلب و ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز به‌صورت دستی اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل از آنالیز واریانس دوراهه و تک‌راهه با اندازه‌گیری‌های مکرر نشان داد که در نتیجه وامانده‌سازی سطوح مالون‌دی‌آلدئید بافت‌های قلب (زیرگروه یک و سه) و ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز (زیرگروه یک، دو و سه) بطور معناداری افزایش نشان داد. با وجود این، اثر تعاملی تمرین هوازی و عصارهٔ زعفران (زیرگروه سه) از افزایش سطوح پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کرد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد اثر تعاملی تمرین هوازی و عصارهٔ زعفران آسیب‌های اکسایشی ناشی از فعالیت‌های وامانده‌ساز را در قلب و ناحیهٔ پیش‌حرکتی مغز کاهش می‌دهد. با این وجود با توجه به مطالعات اندک صورت‌گرفته در این زمینه، نیاز به پژوهش‌های بیشتری است.

واژگان کلیدی: فعالیت وامانده‌ساز، زعفران، مالون‌دی‌آلدئید، آنتی‌اکسیدان

* نویسنده مسئول Email: bmirzaei2000@yahoo.com

مقدمه

فعالیت‌بدنی منظم هوازی با شدت پایین تا متوسط، ابزاری مناسب برای جلوگیری و یا درمان بسیاری از بیماری‌ها، کاهش شاخص‌های پایه‌ای عوامل خطرزای سکته و وقوع سکته‌های قلبی، کاهش مرگ و میر ناشی از بیماری‌های کرونر قلبی (۱،۲)، جلوگیری از اختلالات عصبی مثل اضطراب، افسردگی، بیماری‌های مرتبط با تخریب و تضعیف سیستم اعصاب مرکزی از جمله پارکینسون، آلزایمر و بهبود عملکرد مغز هستند (۳). گرچه هنوز علل دقیق اثرات ورزش در حال بررسی است اما مشخص شده که بخش مهمی از این تأثیرات با گونه‌های فعال اکسیژن[1] و تغییرات در هموستاز ردوکس سلول‌ها در ارتباط است. در خلال این نوع فعالیت‌ها افزایش مصرف اکسیژن، تولید گونه‌های فعال اکسیژن را به غلظتی می‌رساند که منجر به بهینه کردن سیگنال‌های اکسیداتیو و تنظیم مسیرهای سیگنالینگ و بیان ژنی در بافت‌های مختلف از جمله مغز و قلب می‌شود و منجر به بهبود عملکرد تنفس میتوکندریایی، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، بیان پروتئین‌های شوک گرمایی در حد نیاز و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در این بافت‌ها می‌شود (۴). برخلاف فعالیت‌بدنی هوازی سبک، فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز، به‌ویژه در مواقعی که در مدت و یا شدت غیر متعارف انجام شوند، اثرات نامطلوبی بر قلب از جمله افزایش خطر آسیب به عملکرد بطن، ایسکمی، سکته، ایست قلبی و افزایش خطر وقوع حملات قلبی منجر به مرگ و غیر آن چهار تا ۵۶ برابر مواقع استراحت دارد (۵). مغز نیز همچون قلب از عوارض ناشی از فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز در امان نیست. پژوهش‌های متعدد نشان داده که میزان پراکسیداسیون لیپیدی بافت مغز متعاقب این نوع فعالیت‌ها به‌طور معناداری افزایش یافته که منجر به تضعیف حافظه، یادگیری و به‌طور کلی کاهش عملکرد مغز می‌شود (۸-۶). دقیقاً مشخص نیست که چرا فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز چنین اثرات خطرناکی بر سلامتی اشخاص دارند، ولی بدون شک یکی از عوامل اصلی وقوع این رخدادها مربوط به تولید گونه‌های فعال اکسیژن فراتر از ظرفیت دفع سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی این سلول‌ها، بروز استرس اکسیداتیو و در پی آن نکروز و آپوپتوز سلولی است (۹). در طی این‌گونه فعالیت‌ها، اکسیژن مصرفی کل بدن به ۱۰ تا ۲۰ برابر و در سطح برخی سلول‌های فعال تا ۲۰۰ برابر سطوح استراحتی افزایش می‌یابد. قلب نیز از این شرایط مستثنی نیست، حتی در وضعیت استراحت میزان اکسیژن مصرفی به‌ازای هر گرم عضلهٔ قلبی بیشتر از اکسیژن مصرفی عضلات اسکلتی در وضعیت تمرینات بیشینه است. در خلال تمرینات ورزشی نیز جریان خون قلب به بیش از چهار برابر وضعیت استراحت افزایش یافته و ظرفیت استخراج اکسیژن سلول‌های قلبی از

1. Reactive oxygen species

مویرگ‌ها به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. میزان جریان خون مغز نیز در حین فعالیت‌های ورزشی سبک تا متوسط افزایش یافته و با افزایش شدت ورزش در فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز، میزان افزایش اکسیژن مصرفی از طریق افزایش برداشت اکسیژن از خون تأمین می‌شود و احتمال هیپوکسی نیز در طی این‌گونه فعالیت‌ها وجود دارد. در چنین شرایطی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بافت‌های مغز و قلب به‌علت هیپوکسی (۱۰)، کاهش منابع گلیکوژن، تغییرات در درجه حرارت و pH، برهم خوردن هموستاز یون‌های کلسیم و عدم زوجیت تنفس میتوکندریایی همچنین تبدیل گزانتین دهیدروژناز[1] به گزانتین اکسیداز[2] در عضلات قلبی (۱۱) و واکنش هابر وایس به‌علت غلظت بالای آهن و مس آزاد در مغز، تولید هیدروژن پراکسیداز از طریق واکنش‌های تسریع‌شده توسط مونو آمین اکسیدازA، B در غشاء میتوکندری گلیال و نورون‌ها، واکنش‌های هیدروژن پراکسیداز و یون کلسیم، نیکوتین آدنین دی‌نوکلئید فسفات‌اکسیداز و عوامل التهابی موجود در سیستم گردش خون و در انتها ضعف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز (۱۲) منجر به برهم‌خوردن تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و مواد پراکسیدان از یک طرف و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از طرف دیگر شده و منجر به بروز استرس اکسیداتیو در سلول بافت‌های قلب و مغز می‌شود. در صورت به‌وجودآمدن استرس اکسیداتیو خفیف یا ملایم، غالباً بافت‌ها با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اثر آن را خنثی می‌نمایند. در مقابل در شرایط حاد مثل انجام فعالیت‌های حاد وامانده‌ساز ممکن است سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی صدمه دیده و میزان پراکسیداسیون لیپیدی بافت قلب و مغز به‌طور معناداری افزایش یابد (۸،۱۳،۱۴-۶). علاوه بر اثرات منفی استرس اکسیداتیو بر قلب و مغز این رخداد، پیامدهای منفی دیگری در بدن از جمله تسریع روند پیری، آسیب‌های عضلانی و لنفوئیدی، التهاب بافتی، خستگی عضلانی، اختلال در بازگشت به حال اولیه، اختلال و کاهش کارآیی سیستم ایمنی و وضعیت اکسیداسیون عضلانی به‌همراه دارد (۱۵). ممکن است مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی از طریق کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن ، بلوکه کردن پراکسیداسیون لیپیدی، تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، دخالت در متابولیسم گلیکوژن جهت برآورده کردن انرژی مورد نیاز سلول‌های فعال و حفظ استحکام ساختار میتوکندری در جلوگیری از این اختلالات مفید باشند (۱۶). با توجه به مزایای ذکر شده، ورزشکاران انواع متنوعی از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله ویتامین‌های E وC ترکیبی از این ویتامین‌ها، بتاکاروتن، گلوتاتیون[3]، ان‌استیل‌سیستین و پلی‌ساکاریدها را مصرف می‌کنند. ویتامین‌ها، به‌ویژه ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی،

1. Xanthine dehydrogenase
2. XanthineOxidase
3. Glutathione

رتبهٔ نخست مصرف مکمل‌های ورزشی را بین ورزشکاران به خود اختصاص داده‌اند (۱۷). با وجود این، در پژوهش‌های متعددی عدم تأثیر این‌گونه مکمل‌ها بر تولید رادیکال‌های آزاد، و یا تسریع روند پراکسیداسیون لیپیدی در بافت‌های مختلف، بلوکه کردن سیگنال‌های سلولی تولیدشده جهت سازگاری بافت‌های مختلف با ورزش، آلودگی به مواد ممنوعه، خطر وقوع سرطان و ژنوتوکسین در مصرف‌کنندگان گزارش شده‌است (۱۸). علاقمندی ورزشکاران به مصرف آنتی‌اکسیدان‌های با منشأ طبیعی و عملکرد مؤثرتر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در کاهش سطوح گونه‌های فعال اکسیژن در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، سهولت دسترسی، کاهش عوارض جانبی و قیمت مناسب، به‌عنوان جایگزین‌های شایسته برای داروهای صنعتی، همواره مورد بحث بوده و در چند دهه اخیر به‌طور خاص مورد توجه پژوهش‌گران قرار گرفته‌است (۱۹).

گیاه زعفران از هزاران سال پیش تاکنون دارای مصارف درمانی و غذایی بوده و منبعی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله فلاونوئیدها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها (ریبوفلاوین و تیامین)، آمینواسیدها، مینرآل‌ها، صمغ‌ها و همچنین کاروتنوییدهای مثل سافرنال، کروستین و کروسین است (۲۰). کاروتنوئیدهای موجود در زعفران با خنثی‌کردن اکسیژن‌های منفرد، انتقال الکترون، پذیرش و اضافه‌کردن الکترون و فلاونوئیدهای موجود در زعفران از طریق واکنش با عناصر واکنش‌پذیر گونه‌های فعال اکسیژن، اختلال در عوامل وادار کنندهٔ عمل سنتز نیتریت، اختلال در عملکرد اکساتین اکسیداز، کاهش تعداد لکوسیت‌های ساکن در خلال رپرفیوژن، به‌دام انداختن آهن آزاد، کاهش انتشار و رهاسازی پراکسیداز و بلوکه‌کردن متابولیسم آراشیدونیک اسید، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند (۲۱). خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی زعفران در پژوهش‌های مختلفی گزارش شده‌است (۲۲). جاسپریت[1] و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی اثرات محافظتی عصارهٔ آبی زعفران در مقابل آسیب‌های ایسکمی ناشی از ایزوپروترنال بر قلب عنوان کردند این عصاره عملکرد انقباضی و ساختار سلول‌های عضلانی و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی قلب را از آسیب‌های ایسکمی محافظت کرده و منجر به حفظ شاخص‌های همودینامیک و عملکردی بطن چپ و جلوگیری از آسیب به ساختار و یکپارچگی بطن چپ و همچنین تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی قلب از طریق تحلیل استرس اکسیداتیو شده و شاخص‌های ذکر شده را حفظ نموده است و ایسکمی را به تأخیر می‌اندازد (۲۳). در پژوهش دیگری مهدی زاده و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثرات محافظتی عصارهٔ زعفران بر سکته‌های قلبی ناشی از ایزوپروترنال عنوان کردند این

1. Jaspreet

عصاره از افزایش شاخص‌های آسیب قلبی در سرم (لاکتات دهیدروژناز[1]، کراتین کیناز میوکارد قلب[2]) و مالون‌دی‌آلدئید[3] بافت قلب جلوگیری کرده که نشان دهندۀ اثرات محافظتی عصارۀ زعفران و سافرنال در مقابل سکته از طریق جلوگیری از تغییر در وضعیت ردوکس سلول که منجر به تحلیل استرس اکسیداتیو در بافت قلب شده است (۲۴). حسین زاده و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی اثرات سافرانال بر صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو ناشی از فرآیند ایسکمی– رپرفیوژن در ناحیۀ هیپوکامپ مغز موش عنوان کردند این ترکیب از افزایش سطوح مالون‌دی‌آلدئید هیپوکامپ مغز و کاهش توان آنتی‌اکسیدانی این ناحیه از مغز در نتیجه ایسکمی جلوگیری می‌کند (۲۵). همچنین تمدن فرد و همکاران (۲۰۱۳) عنوان کردند کروسین به‌دلیل کاهش استرس اکسیداتیو هیپوکامپ موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین[4] و در نتیجه کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید این ناحیه از مغز از تقلیل تعداد نرون‌های هیپوکامپ موش‌های دیابتی شده جلوگیری کرده و موجب بهبود حافظه و یادگیری در این موش‌ها می‌شود (۲۶).

با توجه به اهمیت جلوگیری از وقوع شرایط استرس اکسیداتیو ناشی از تمرینات وامانده‌ساز در قلب و ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس بافت مغز، این پژوهش به بررسی اثر هشت هفته تمرینات استقامتی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سطوح مالون‌دی‌آلدئید قلب و ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس بافت مغز، و در پی آن، اثر یک جلسه فعالیت وامانده‌ساز بر این شاخص‌ها پرداخته است تا مشخص شود، آیا یک جلسه فعالیت وامانده‌ساز می‌تواند منجر به‌وقوع شرایط استرس اکسایشی در قلب و ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس بافت مغز شود؟ آیا واکنش سیستم دفاع ضداکسایشی قلب و ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس مغز به یک جلسه فعالیت وامانده‌ساز یکسان است؟ آیا تمرین استقامتی می‌تواند موجب تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از وقوع شرایط اکسایشی در قلب و ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس مغز شود؟ آیا سازگاری ایجاد شده در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت‌های قلب و ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس مغز با تمرین استقامتی یکسان است؟ بخش دوم پژوهش به بررسی این موضوع می‌پردازد که آیا مصرف هشت هفته‌ای عصارۀ زعفران در تقویت سیستم دفاع آنزیمی بافت‌های قلب و ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس مغز در تعامل با تمرینات ورزشی و یا به‌تنهایی مؤثر است، و آیا این تأثیر در بافت‌های ذکر شده متفاوت است؟ علاوه بر این، مطالعۀ حاضر در صدد پاسخگویی به این سؤال است که آیا عصارۀ گیاه زعفران به‌تنهایی و یا در تعامل با

1. lactate dehydrogenase
2. creatine kinase MB
3. malondialdehyde (MDA)
4. Streptozotocin

تمرینات استقامتی به‌شکل یکسانی قادر به جلوگیری از وقوع شرایط استرس اکسیداتیو در قلب و ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس بافت مغز پس از یک جلسه تمرین وامانده‌ساز می‌باشد؟
بنابراین، با توجه به کمبود اطلاعات در مورد اثر مصرف عصارهٔ کلالهٔ زعفران بر سیستم دفاع ضد اکسایش قلب و ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس بافت مغز و اثر مصرف این عصاره در جلوگیری از وقوع احتمالی استرس‌اکسیداتیو متعاقب تمرینات وامانده‌ساز، پژوهش حاضر به بررسی اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف عصارهٔ آبی کلالهٔ زعفران بر میزان مالون‌دی‌آلدئید و سیستم آنتی‌اکسیدانی قلب و ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز موش‌های نر جوان پس از یک جلسه فعالیت حاد وامانده‌ساز می‌پردازد.

روش پژوهش

مطالعهٔ حاضر از نوع تجربی است و در پژوهشکدهٔ پژوهش‌های داروهای گیاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام گرفت. کلیهٔ ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیتهٔ اخلاق در پژوهش این دانشگاه بود. تعداد ۹۰ سر موش صحرایی نر بالغ سه ماهه نژاد ویستار از دانشگاه شهید بهشتی تهران تهیه شد. پس از انتقال موش‌ها به محیط آزمایشگاه، به‌صورت گروه‌های چهار سر موش در قفس‌های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخهٔ تاریکی به روشنایی۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. طی دورهٔ پژوهش، حیوانات به‌صورت آزاد به غذا و آب مورد نیازشان دسترسی داشتند. به‌منظور جمع‌آوری اطلاعات پس از انتقال حیوانات به محیط جدید (حیوان‌خانه)، به‌مدت دو هفته در این محیط نگهداری شدند تا از این طریق استرس احتمالی ناشی از تغییر محل نگهداری و همچنین، تغییر احتمالی شرایط فیزیولوژیکی، حیوان مجدداً به وضعیت اولیه برگردانده شود. تمامی حیوانات (۹۰ سر موش) در ابتدای هفتهٔ سوم مجبور به دویدن در سرعت ۱۶/۶ متر در دقیقه و به‌مدت پنج دقیقه بر روی تردمیل شدند. از بین آنها ۷۲ سر موش صحرایی که توانایی دویدن در این سرعت را داشتند انتخاب شدند و پس از قربانی کردن هشت سر موش از آن‌ها (جهت تعیین متغیرهای پایه) ۶۴ سر موش باقی مانده با وزن تقریبی ۲۶±۲۱۲ گرم به‌صورت تصادفی به دو گروه اصلی کنترل (C)، و تجربی (ET)، (هر گروه ۳۲ سر موش) و هر گروه به دو زیرگروه فرعی (هر زیرگروه ۱۶ سر موش) تقسیم شدند. در گروه کنترل، یک زیرگروه CW= حلال عصارهٔ زعفران (آب مقطر) (میانگین وزنی۲۰ ±۲۰۶) و زیرگروه دیگرCSW = عصارهٔ آبی زعفران (میانگین وزنی۱۶ ± ۲۲۴) دریافت کردند و در گروه تجربی یک زیرگروه ETW= آب مقطر+۸ هفته تمرین (میانگین وزنی ۱۵ ± ۲۱۸)

و زیرگروه دیگر ETSW = عصارۀ زعفران +۸ هفته تمرین را (میانگین وزنی ۱۴ ± ۲۲۴) مطابق با پروتکل‌های توضیح داده شده در بخش بعدی انجام دادند.

جهت تهیه و خوراندن عصارۀ زعفران و حلال، کلالۀ خشک زعفران[1] خوراکی معروف به زعفران پوشالی از قائنات تهیه شد. به‌منظور تهیه عصارۀ آبی، بعد از افزودن ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ۱۰ گرم پودر زعفران، محلول در ظرف پوشیده به‌مدت سه روز در شیکر انکوباتور قرار گرفت. سپس نمونۀ صاف شده و عصارۀ آبی جدا گردید و با دستگاه فریزدرایر[2] به‌صورت پودر درآمد (۲۰). موش‌های زیرگروه‌های CSW و ETSW، عصارۀ آبی کلالۀ زعفران را به‌میزان ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در دو میلی‌لیتر آب مقطر حل شده، روزانه رأس ساعت هشت صبح به‌مدت ۶۵ روز (نه هفته + دو روز) از طریق گاواژ دریافت کردند. همزمان به موش‌های زیرگروه‌های CW و ETW، نیز روزانه به‌همان میزان دو میلی‌لیتر آب مقطر به‌عنوان حلال عصارۀ زعفران گاواژ شد.

چهار نوع پروتکل ورزشی در این پژوهش استفاده شد اولین پروتکل جهت آشناسازی موش‌های گروه آزمایش (گروه تمرین) با نوارگردان به‌مدت یک هفته اجرا شد. دومین پروتکل نیز توسط موش‌های همین گروه به‌مدت هشت هفته اجرا شد. پروتکل ورزشی سوم جهت تحمل پروتکل ورزشی وامانده‌ساز توسط گروه کنترل به‌موازات هفتۀ هشتم تمرینات گروه تمرین و به‌مدت یک هفته اجرا شد. پروتکل ورزشی چهارم در پایان هشت هفته تمرین فقط یکبار جهت وامانده‌سازی موش‌های گروه تمرین و کنترل و به‌منظور بررسی اثرات یک جلسه تمرین وامانده‌ساز بر شاخص‌های مورد نظر انجام شد (شکل یک).

پروتکل آشناسازی با نوارگردان توسط موش‌های گروه آزمایش (گروه تمرین) و پیش از شروع پروتکل هشت هفته‌ای به‌مدت یک هفته انجام شد. این پروتکل شامل پنج جلسۀ پنج تا ۲۵ دقیقه‌ای در پنج روز جداگانه در طی یک هفته در سرعت ۱۶/۶۷ متر در دقیقه و در شیب صفر تا دو درصد بود. در خلال این دوره، زمانی‌که موش‌ها از دویدن بر روی نوارگردان اجتناب می‌کردند شوک الکتریکی ضعیفی به آن‌ها وارد می‌شد و موش‌ها را مجبور به دویدن می‌کرد. برای جلوگیری از اثرات شوک الکتریکی در نتایج پژوهش، مدت کوتاهی پیش از دادن شوک الکتریکی صدایی ایجاد می‌شد تا حیوانات یاد بگیرند که پس از شنیدن آن صدا شوک وارد می‌شود و بنابراین با ایجاد صدا از توقف اجتناب می‌کردند (۲۷).

1. Crocus sativus L
2. Freez-Dryer

پس از برنامه آشناسازی حیوانات با نوارگردان، موش‌های گروه تمرین یک دورهٔ هشت هفته‌ای تمرینات استقامتی را، مطابق برنامه‌ای که در ادامه توضیح داده خواهدشد، انجام دادند. هفتهٔ اول، مدت تمرین ۳۵ دقیقه، شیب سه درصد، سرعت ۱۶/۶۷ متر بر دقیقه؛ هفتهٔ دوم، مدت تمرین ۴۰ دقیقه، شیب چهار درصد، سرعت ۱۸/۳۳ متر بر دقیقه ؛ هفتهٔ سوم، مدت تمرین ۴۵ دقیقه، شیب پنج درصد، سرعت ۲۰ متر بر دقیقه؛ هفتهٔ چهارم، مدت تمرین ۵۰ دقیقه، شیب شش درصد، سرعت ۲۱/۶۷ متر بر دقیقه؛ هفتهٔ پنجم، مدت تمرین ۵۵ دقیقه، شیب هفت درصد، سرعت ۲۳/۳۳ متر بر دقیقه؛ هفتهٔ ششم تا هشتم مدت تمرین ۶۰ دقیقه و سرعت ۲۵ متر بر دقیقه ثابت بود. اما شیب از هشت درصد در هفتهٔ ششم تدریجاً به ۱۰ درصد در ابتدای هفتهٔ هشتم رسید. در تمامی دورهٔ هشت هفته‌ای تمرینات استقامتی تعداد جلسات تمرین در هفته، پنج جلسه بود. لازم به‌ذکر است شیب و سرعت نهایی هر جلسه تمرین به‌تدریج در طی ۱۵ دقیقه ابتدایی شروع هر جلسه تمرین قابل دست‌یابی بود. پس از هفتهٔ اول پروتکل، در انتهای هر جلسه تمرین سرعت نوارگردان در طی پنج دقیقه به آرامی کاهش داده می‌شد تا مرحلهٔ سردکردن پس از تمرین رعایت شود (۲۷).

پروتکل ورزشی جهت تحمل پروتکل ورزشی وامانده‌ساز توسط موش‌های گروه کنترل(C)، به‌موازات هفتهٔ هشتم تمرین استقامتی گروه تجربی(ET) به‌مدت یک هفته، هر هفته پنج روز متوالی و هر روز یک جلسه (بین پنج تا ۱۵ دقیقه) و در سرعتی بین ۱۶/۶۷ تا ۲۰ متر بر روی تردمیل در شیب صفر درصد دویدند. سرعت و مدت به‌طور تدریجی افزایش داده‌شد. این پروتکل فقط به‌منظور آماده‌سازی موش‌های گروه کنترل برای تحمل پروتکل وامانده‌ساز طراحی شده و تغییر معناداری در سیستم دفاع ضد اکسایش ایجاد نمی‌کند (۲۷). تمرین بر روی تردمیل ۱۲ کاناله انجام گرفت.

پروتکل تمرینی وامانده‌کردن به این شیوه انجام شد که ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین، موش‌ها در مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و سپس ۳۰ دقیقه با سرعت ۲۵ متر در دقیقه و در آخر، سرعت ۳۰ متر در دقیقه در شیب ۱۰ درصد تا زمان واماندگی بر روی تردمیل دویدند (۲۷). زمانی‌که موش‌ها سه بار به شوک الکتریکی تعبیه شده در ابتدای تردمیل واکنش نمی‌دادند و به حالت خوابیده به پشت باقی می‌ماندند، وامانده محسوب می‌شدند.

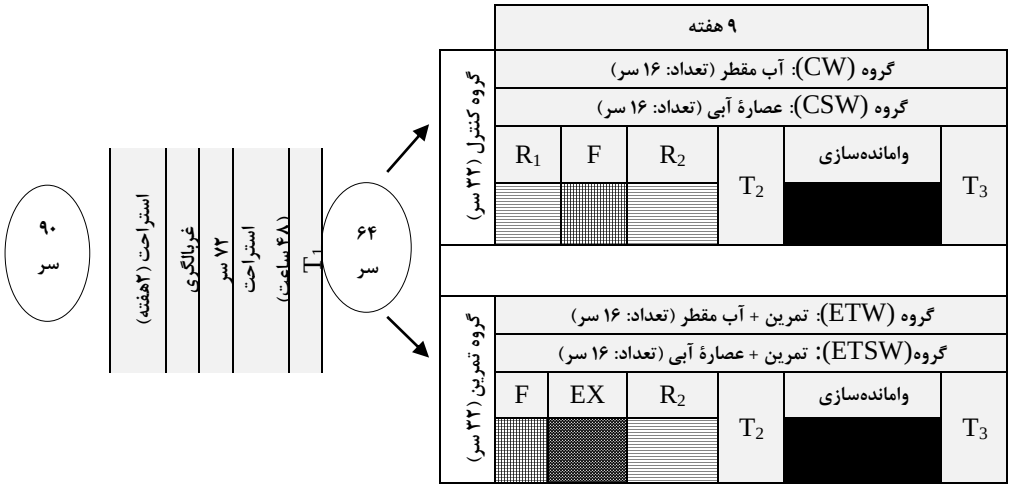
تمامی موش‌ها (۷۲ سر موش) در سه مرحله قربانی شدند. مرحلهٔ اول در ابتدای پژوهش، پس از ۴۸ ساعت استراحت متعاقب مرحلهٔ غربالگری، پیش از شروع برنامهٔ آشناسازی موش‌ها با تردمیل جهت ثبت و مشخص کردن سطوح پایهٔ شاخص‌های مورد نظر(هشت سر موش) مرحلهٔ دوم، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین استقامتی یعنی در پایان هشت هفته تمرین جهت مشاهدهٔ تأثیر تمرین و مصرف عصارهٔ زعفران (هشت سر از هر زیرگروه) و سومین مرحله بلافاصله پس از فعالیت

استقامتی وامانده‌ساز جهت مشاهدهٔ اثرات آن بر شاخص‌های مورد نظر (هشت سر باقیمانده از هر زیرگروه) انجام شد.

بلافاصله پس از واماندگی تمامی موش‌ها با داروی کلروفورم بیهوش و کشته شدند. برای جداسازی بافت‌های مغز از روش توصیف شده توسط کوئللو[1] استفاده‌شد (۲۸). به‌طور اختصار، بعد از جداسازی سر از بقیه بدن با گیوتین و انجام برش طولی در جمجمه، کل بافت نرم مغز در روی یخ خشک قرار داده شد و قسمت جلویی مغز جدا گردید. قلب نیز بلافاصله بعد از قطع شدن سر موش‌ها سریعاً خارج شد. بافت‌ها در سالین بسیار سرد شستشو و هموژنات۱۰ درصد در ۱/۱۵ درصد (w/v) کلرور پتاسیم تهیه گردید. هموژنات با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت۱۰ دقیقه در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و محلول شناور جهت سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی از طریق اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌آلدئید و همچنین برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز[2] ،کاتالاز[3] ،گلوتاتیون پرکسیداز[4] مورد استفاده قرار گرفت. مالون‌دی‌آلدئید، به‌عنوان مقیاسی از پراکسیداسیون چربی، در قالب واکنش تیوباربیتوریک اسید [5] و با استفاده از روش استرن بارو و چیز من[6] در بافت قلب و با روش ساتو[7] (۲۹) در ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مورد سنجش قرار گرفت و مقدار تیوباربیتوریک اسید به‌صورت نانومول در میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (۳۰). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌صورت واحدهای قراردادی در میلی‌گرم پروتئین عنوان گردید. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در بافت قلب توسط روش نیشیکیمی[8] (۳۱) و در ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس به‌روش سان[9] و همکاران (۱۹۸۸) (۳۲) اندازه‌گیری شدند. هر واحد از فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به‌صورت غلظت آنزیم مورد نیاز برای ممانعت از تولید رنگ تا ۵۰ درصد در یک دقیقه، تحت شرایط مطالعه، تعیین شد. فعالیت کاتالاز در بافت قلب توسط روش کلایبورن[10] (۳۳) و در ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس به روش آبی[11] (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد (۳۴). براساس تجزیه

1. Cuello
2. Superoxide_Dismutase (SOD)
3. Catalase (CAT)
4. Glutathione peroxidase (GPX)
5. Thiobarbituric acid reacting substances (TBARS)
6. Cheesman and Esterbauer
7. Satho
8. Nishikimi
9. Sun
10 . Claiborne
11.Abei

پراکسید هیدروژن درnm ۲۴۰، به شکل" فعالیت کاتالاز در دقیقه" محاسبه گردید. فعالیت گلوتاتیون پرکسیداز با استفاده از روش روتورک و همکاران[1] (۳۵) و بر اساس واکنشH2O + GSSG : (گلوتاتیون احیا) H_2O_2 +2GSH (گلوتاتیون اکسید) در هر دو بافت مورد سنجش قرار گرفته و به‌صورت میکرومول گلوتاتیون اکسید/دقیقه/میلی‌گرم پروتئین بیان گردید. غلظت پروتئین ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز با رسم استاندارد با استفاده از محلولmg/ml ۱ آلبومین سرم گاوی[2] به روش برادفورد اندازه‌گیری و محاسبه گردید (۳۶).



شکل۱- طرح شماتیک نحوهٔ جمع آوری داده‌های پژوهش

T1: هشت سر قربانی شدند

T2: هشت سر از هر زیرگروه قربانی شدند (۳۲ سر)

T3: هشت سر موش باقی مانده از هر زیرگروه قربانی شدند (۳۲ سر).

F: آشناسازی با نوارگردان (یک هفته)

R_1: استراحت (هشت هفته)

R_2: استراحت (۴۸ ساعت)

EX: فعالیت ورزشی (هشت هفته)

1. Rotruck
2. Bovine Serum Albumin (BSA)

جهت تجزیه و تحلیل آماری یافته‌های پژوهش از آزمون K-S برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. در مرحلۀ پیش‌آزمون و پس‌آزمون، برای مقایسۀ میانگین وزنی و زمان وامانده‌شدن، مقایسۀ میانگین متغیرهای مورد اندازه‌گیری زیرگروه‌های مختلف از تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. به‌منظور مشاهدۀ تأثیر نوع کارآزمایی (زمان/تمرین/کنترل) و وضعیت مصرف دو نوع مکمل (مصرف آب مقطر/مصرف عصارۀ آبی زعفران) در طول زمان بر تمام متغیرهای مورد اندازه‌گیری، از تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر دوراهه ۳×۲ استفاده شد. در صورت مشاهدۀ اثر تعاملی بین عامل‌ها و زمان، برای مقایسۀ درون‌گروهی از تحلیل واریانس اندازه‌گیری مکرر (آزمون تعقیبی بونفرونی) استفاده شد. در تمام آزمون‌ها، سطح معناداری برابر با $P<0.05$ در نظر گرفته شد. از نرم افزار اس.پی.اس.اس نسخۀ ۱۶ جهت انجام عملیات آماری استفاده شد.

یافته‌های حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه، نشان می‌دهد در ابتدای شروع مطالعه، تفاوت معناداری بین میانگین وزنی زیرگروه‌های مختلف مشاهده نشد. همچنین تفاوت معناداری بین زمان وامانده‌شدن زیرگروه‌های مختلف مشاهده شد (جدول یک). همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب زیرگروه ETSW به‌طور معناداری در مرحلۀ دوم و سوم اندازه‌گیری نسبت به سایر زیرگروه‌ها کمتر و میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پرکسیداز ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب زیرگروه ETSW در مرحلۀ دوم اندازه‌گیری به‌طور معناداری نسبت به سایر زیرگروه‌ها بیشتر بود (شکل دو و سه).

جدول۱- زمان وامانده‌شدن گروه‌های مختلف در انتهای پژوهش (میانگین ± انحراف معیار)

گروه	تیمار	زمان وامانده‌شدن (دقیقه)
C	CW = آب مقطر	۱۲/۶ ± ۱/۷ L
	CSW = آب مقطر+عصارۀ زعفران	۱۵/۵ ± ۳
ET	ETW = تمرین +عصارۀ زعفران	۳۹/۷ ± ۵*
	ETSW = تمرین+عصارۀ زعفران	۴۲/۶± ۸* H

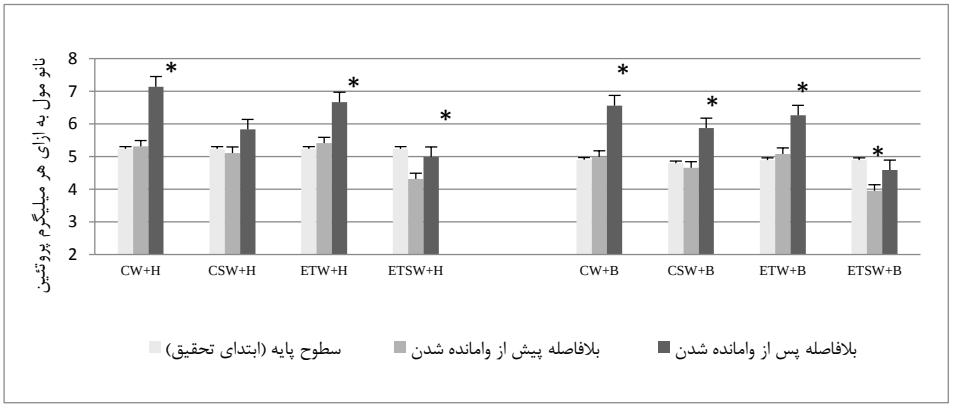
*اختلاف معنا دار با سایر گروه‌ها.

L و H به‌ترتیب کمترین و بیشترین میزان نسبت به سایر گروه‌ها، سطح معناداری ($P<0.05$).

ابتدا با مشاهدۀ معناداری تأثیر تعاملی نوع کارآزمایی (زمان/تمرین/کنترل) و وضعیت مصرف دو نوع مکمل (مصرف آب مقطر/مصرف عصارۀ آبی زعفران)، (زمان × فعالیت ورزشی ($P=0.001$) ؛ زمان × دو نوع مکمل ($P=0.001$) ؛ زمان × فعالیت ورزشی × دو نوع مکمل ($P=0.006$)) در طول

زمان بر تمام متغیرهای مورد اندازه‌گیری با استفاده از تحلیل واریانس اندازه‌گیری مکرر دوراهه، در ادامه برای مقایسهٔ درون‌گروهی از تحلیل واریانس اندازه‌گیری مکرر یک‌راهه استفاده شد و نتایج زیر حاصل گردید.

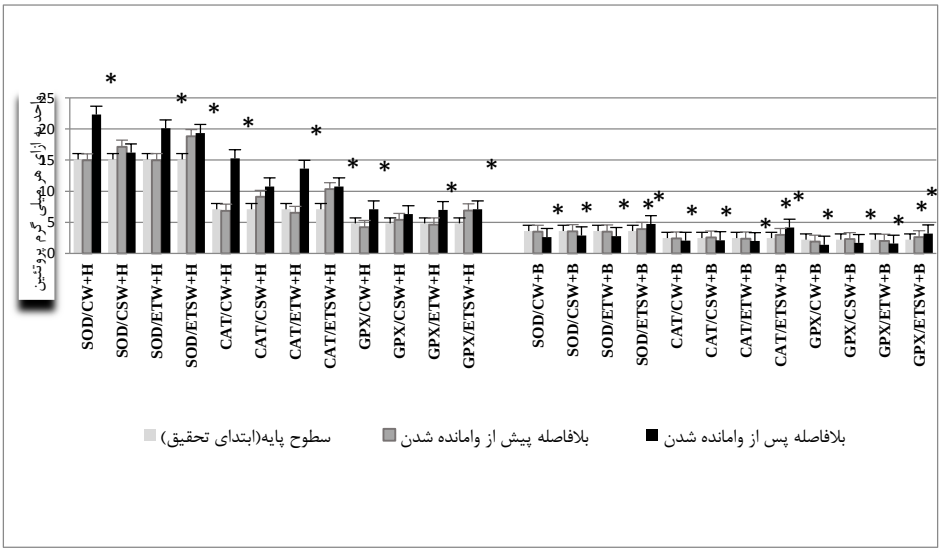
میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز زیرگروه ETSW =مصرف عصارهٔ +تمرین (P=0.043) ؛ همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب این زیرگروه (P=0.022) به‌طور معناداری در مرحلهٔ دوم در مقایسه با مرحلهٔ اول کاهش نشان داد (شکل دو). در سایر زیرگروه‌ها اختلاف معناداری بین مرحلهٔ دوم در مقایسه با مرحلهٔ اول مشاهده نشد (شکل دو). همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز زیرگروه‌های CW =آب مقطر (P=0.001)؛ CSW = عصارهٔ زعفران (P=0.001)؛ ETW= تمرین + آب مقطر (P=0.001). همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب زیرگروه‌های CW =آب مقطر (P=0.001)؛ ETW= تمرین + آب مقطر (P=0.001) به‌طور معناداری در مرحلهٔ سوم در مقایسه با مرحلهٔ دوم افزایش نشان داد (شکل دو).



شکل۲- میزان MDA ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز (B) و بافت قلب(H) در طی سه مرحله اندازه‌گیری
* تغییر معنادار نسبت به مرحلهٔ قبلی اندازه‌گیری (P<0.05)

میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز،کاتالاز ،گلوتاتیون پرکسیداز ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز در زیرگروه ETSW = مصرف عصاره +تمرین (SOD,P=0.016; CAT,P=0.001; GP_X,P=0.022) و در بافت قلب هم در این زیرگروه (SOD,P=0.043; CAT,P=0.036; GP_X,P=0.029) به‌طور معناداری در مرحلهٔ دوم در مقایسه با مرحلهٔ اول افزایش نشان داد (شکل سه).

سایر زیرگروه‌ها اختلاف معناداری بین مرحلۀ دوم در مقایسه با مرحلۀ اول مشاهده نشد (شکل سه). همچنین میزان فعالیت هر سه آنزیم ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس مغز زیرگروه‌های CW = آب مقطر (SOD,P=0.001; CAT,P=0.001; GP_X,P=0.001)، CSW= عصارۀ زعفران (SOD,P=0.001; CAT,P=0.001; GP_X,P=0.001) تمرین + آب مقطر (SOD,P=0.001; CAT,P=0.001; GP_X,P=0.002) به‌طور معناداری در مرحلۀ سوم در مقایسه با مرحلۀ دوم کاهش و در زیرگروه ETCW= تمرین + عصارۀ زعفران (SOD,P=0.001; CAT,P=0.001; GP_X,P=0.005) به‌طور معناداری افزایش نشان داد. همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های بافت قلب زیرگروه‌های CW =آب مقطر(SOD,P=0.001; CAT,P=0.001; GP_X,P=0.001) و ETW= تمرین + آب مقطر (SOD,P=0.001; CAT,P=0.001; GP_X,P=0.002) به‌طور معناداری در مرحلۀ سوم در مقایسه با مرحلۀ دوم افزایش نشان داد. فعالیت آنزیم‌های بافت قلب در سایر زیرگروه‌ها در این مرحله تغییر معناداری مشاهده نشد (شکل سه).



شکل۳- میزان MDA ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس مغز (B) و بافت قلب (H) در طی سه مرحله اندازه‌گیری

* تغییر معنادار نسبت به مرحلۀ قبلی اندازه‌گیری ($P<0.05$).

بحث و نتیجه گیری

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که فعالیت حاد وامانده‌ساز موجب افزایش معنادار میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز در زیرگروه‌های CW,CSW,ETW و افزایش معنادار شاخص مذکور در بافت قلب زیرگروه‌های CW,ETW گردید. روزا[1] و همکاران (۲۰۰۷) تساکریس[2] و همکاران (۲۰۰۶) تورگت[3] و همکاران (۲۰۰۲) همسو با پژوهش حاضر عنوان کردند غلظت مالون‌دی‌آلدئید بافت مغز متعاقب یک وهله فعالیت حاد وامانده‌ساز به‌طور معناداری افزایش می‌یابد (۸-۶). از سویی، نتایج این بخش از پژوهش با نتایج پژوهش‌های لئو و همکاران (۲۰۰۰)، سومانی و همکاران (۱۹۹۶)، آکیگوس و همکاران (۲۰۰۶) که عنوان کردند یک وهله فعالیت حاد وامانده‌ساز اثر معناداری بر مالون‌دی‌آلدئید مغز ندارد در تضاد است (۳۹-۳۷). همچنین وندیتی و همکاران (۱۹۹۶)، خانا و همکاران (۱۹۹۹) افزایش معناداری میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب را پس از یک وهله فعالیت‌حاد وامانده‌ساز در گروه‌های کنترل گزارش کردند که با نتایج پژوهش حاضر همسو است (۱۳،۱۴). با وجود این، نتایج این بخش از پژوهش با نتایج مطالعهٔ خانا[4] و همکاران (۱۹۹۹) بجما[5] و همکاران (۲۰۰۰) که گزارش کردند یک وهله فعالیت‌حاد وامانده‌ساز تأثیر معناداری بر میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب ندارد در تضاد است (۱۳،۴۰). مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان مارکر پراکسیداسیون لیپیدی استرس اکسیداتیو، فرآوردهٔ نهایی تجزیهٔ لیپیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن است. بنابراین افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب و ناحیهٔ پیش‌حرکتی مغز نشان‌دهندهٔ افزایش آسیب غشاء سلولی در این بافت‌ها به‌علت افزایش استرس‌اکسیداتیو و از سویی، اختلال در مکانیزم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی این بافت‌ها در واکنش به یک وهله فعالیت‌حاد وامانده‌ساز است (۴۱). در بخش دیگری از یافته‌های پژوهش حاضر فرضیهٔ فوق مبنی بر کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز ،کاتالاز،گلوتاتیون پرکسیداز) در نتیجه بروز استرس اکسیداتیو نشان داده شد، به شکلی که در ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز زیرگروه‌های (CW,CSW, ETW) که میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز آن‌ها متعاقب وامانده‌شدن افزایش معناداری یافته بود، به‌طور معناداری کاهش نشان داد و در مقابل میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مذکور در ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز

1. Rosa
2. Tsakiris
3. Turgut
4. Khanna
5. Bejma

گروه ETSW که میزان مالون‌دی‌آلدئید آن تغییر معناداری نیافته بود به‌طور معناداری نسبت به پیش از وامانده‌شدن افزایش نشان داد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین خط دفاعی سیستم دفاع‌آنزیمی علیه تولید گونه‌های فعال اکسیژن در خلال ورزش‌های وامانده‌ساز است. کاهش میزان فعالیت این آنزیم نشان‌دهندهٔ کاهش بلوکه‌شدن تشکیل یون هیدروکسیل از پراکسید هیدروژن است. بنابراین غلظت رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد که منجر به استرس‌اکسیداتیو می‌شود (۴۲). همچنین فعالیت کاتالاز و گلوتاتیون پرکسیداز باعث جلوگیری از تشکیل رادیکال هیدروکسیل، از طریق تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن دو اتمی می‌شود. گلوتاتیون پرکسیداز توسط پراکسید هیدروژن به گلوتاتیون[1] تبدیل می‌شود (۴۲). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن تبدیل می‌کند. حذف پراکسید هیدروژن برای تکمیل کار سوپراکسید دیسموتاز جهت کاهش آثار مضر استرس‌اکسیداتیو حیاتی است. حذف پراکسید هیدروژن را آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز با تبدیل آن به آب و اکسیژن انجام می‌دهند. علاوه بر این، کاتالاز درگیر در سم‌زدایی غلظت بالای پراکسید هیدروژن و گلوتاتیون پرکسیداز بوده و نسبت به کاهش پراکسید هیدروژن حساس است (۴۲). بنابراین کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان‌دهندهٔ نارسایی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان برای مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید است. در مقابل، افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور احتمالاً ناشی از افزایش ظرفیت دفع گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در بافت است که باعث شده میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز موش‌ها در زیرگروه ETSW و میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب در زیرگروه‌های CSW,ETSW بر خلاف سایر زیرگروه‌ها افزایش معناداری نشان ندهد. با توجه به یافتهٔ دیگر پژوهش حاضر مبنی بر افزایش معنادار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز ، کاتالاز و گلوتاتیون پرکسیداز و کاهش سطوح مالون‌دی‌آلدئید ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب در وضعیت استراحت پیش از وامانده‌شدن نسبت به سطوح پایهٔ ابتدای پژوهش، در زیرگروه عصارهٔ آبی زعفران + تمرینات ورزشی (ETSW) سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی این زیرگروه تقویت شده‌است و باعث شد در حین وامانده‌سازی، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب کارآیی لازم را برای دفع گونه‌های فعال اکسیژن تولیدی داشته‌باشد و از افزایش معنادار مالون‌دی‌آلدئید نسبت به پیش از وامانده‌شدن جلوگیری شود. نتایج این بخش از پژوهش در مورد جلوگیری از افزایش معنادار مالون‌دی‌آلدئید مغز در واکنش به فعالیت وامانده‌ساز با استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، با نتایج پژوهش‌های روزا و همکاران (۲۰۰۷) و آکیل و همکاران (۲۰۱۱)

1. Glutathione (GSH)

(۶,۴۳)، و در مورد استفاده از زعفران برای جلوگیری از افزایش مالون‌دی‌آلدئید مغز در محیط آزمایشگاهی، با نتایج پژوهش‌های حسین زاده و همکاران (۲۰۰۵)، تمدن فرد و همکاران (۲۰۱۳) (۲۵,۲۶) همسو است و در مورد اثرات جلوگیری کنندهٔ عصارهٔ زعفران بر پراکسیداسیون بافت قلب با نتایج پژوهش‌های جاسپریت و همکاران (۲۰۱۰)، مهدی زاده و همکاران (۲۰۱۳) همسو است (۲۳,۲۴). از تئوری هورمزیس[1]، که در مورد تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است، می‌توان در توجیه این مورد که چرا مصرف عصارهٔ زعفران (زیرگروهCSW) و یا تمرین ورزشی (زیرگروهETW) به‌تنهایی نتوانست متعاقب هشت هفته تغییر معناداری در سطوح پایه‌ای شاخص‌های مالون‌دی‌آلدئید و یا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ایجاد کند و در عوض ترکیب ورزش و مصرف عصارهٔ زعفران (زیرگروهETSW) اثرات معنادار مثبتی را بر شاخص‌های فوق داشت، کمک گرفت. بر اساس تئوری هورمزیس، گونه‌های فعال اکسیژن از طریق فعال‌سازی مسیرهای حساس دوگانه درون سلولی، بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دیگر محافظان پروتئینی سلولی را جهت سازگاری با استرس‌اکسیداتیو و با هدف حفظ هموستاز سلولی افزایش می‌دهد (۱۲). غلظت‌های بالا و یا عدم تولید گونه‌های فعال اکسیژن نقش بازدارنده‌ای در سازگاری‌های درون‌سلولی دارند. غلظت بهینه درون‌سلولی هیدروژن پراکسید جهت تنظیم مثبت رونویسی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در محدوده دو تا ۱۵ میکرومول، بسته به نوع سلول موردنظر، مطلوب گزارش شده‌است (۱۲). از سویی، همانطور که عنوان شد، عصارهٔ زعفران در پژوهش جاری فقط از افزایش معنادار مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص افزایش گونه‌های فعال اکسیژن فراتر از ظرفیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی جلوگیری کرده و نقش بلوکه کنندهٔ ۱۰۰ درصدی را در جلوگیری از افزایش مالون‌دی‌آلدئید نداشته‌است. بنابراین، با تولید این گونه‌های فعال اکسیژن در طی هشت هفته تمرین به سلول اجازهٔ سازگاری با شرایط و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را داده‌است. بنابراین، عصارهٔ زعفران نقش تعدیل‌کننده‌ای در تولید گونه‌های فعال اکسیژن داشته و در حقیقت شرایطی را فراهم آورده که میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن در پژوهش حاضر در زیرگروه ETSW در حد تمریناتی با شدت پایین‌تر تنظیم شود. از طرفی، زیرگروه ETW که فقط تمرین ورزشی انجام دادند، احتمالاً به‌دلیل شدت بالای تمرین در پروتکل پژوهش حاضر و تولید بیش از حد بهینه گونه‌های فعال اکسیژن که دارای اثرات بلوکه‌کنندگی بر تنظیم مثبت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دارند و از سویی زیرگروه دریافت‌کننده عصارهٔ زعفران (زیرگروه CSW) به‌دلیل عدم تولید گونه‌های فعال اکسیژن به‌دلیل عدم تمرین ورزشی، افزایش فعالیتی در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت‌های آن‌ها متعاقب هشت هفته

1. Hormesis

حاصل نشد. در دیگر یافتهٔ پژوهش حاضر مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز ، کاتالاز و گلوتاتیون پرکسیداز در زیرگروه‌های CW,ETW که میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب آن‌ها متعاقب فعالیت حاد وامانده‌ساز افزایش معناداری یافته بود، به‌طور معناداری افزایش نشان داد و در گروه‌هایی که مالون‌دی‌آلدئید آن‌ها افزایش نیافت، تغییر معناداری مشاهده نشد. این نتایج در مقایسه با واکنش ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز متعاقب فعالیت حاد وامانده‌ساز دارای الگوی متفاوتی بود. احتمالاً تفاوت در واکنش آنزیم‌های دو بافت متفاوت مربوط به تفاوت در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان این دو بافت باشد. عنوان شده که سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز نسبت به سایر بافت‌ها ضعیف‌تر است (۱۲). بنابراین، احتمالاً سایر بافت‌ها در خلال فعالیت‌های وامانده‌ساز نسبت به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، آسیب‌پذیرتر بوده‌است و احتمالاً واکنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی این بافت به استرس اکسیداتیو نسبت به بافت‌های دیگر متفاوت باشد. احتمالاً یکی از دلایلی که مصرف عصارهٔ زعفران در زیرگروه CSW نتوانست از افزایش معناداری مالون‌دی‌آلدئید ناحیهٔ پیش حرکتی کورتکس مغز متعاقب وامانده‌شدن جلوگیری کند، همین تفاوت در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی دو بافت مذکور باشد (در حالی که از افزایش مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب این زیرگروه متعاقب وامانده‌شدن جلوگیری کرد). در انتها لازم به‌ذکر است که نتایج حاصل از پژوهش حاضر در مورد زیرگروه‌های CSW،CW که نشان داد بین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز ، کاتالاز و گلوتاتیون پرکسیداز و میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب و ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز این زیرگروه‌ها در مرحلهٔ دوم اندازه‌گیری در مقایسه با مرحلهٔ اول تفاوت معناداری مشاهده نشد با نتایج پژوهش‌های بروکس و همکاران (۱۹۷۸) (۲۷) که عنوان کردند اجرای پروتکل تمرینی یک هفته‌ای تأثیر معناداری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نداشته و این پروتکل فقط جهت تحمل پروتکل‌های تمرینی وامانده‌ساز طراحی شده تأیید می‌کند.

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد انجام یک دوره تمرینات استقامتی و یا مصرف عصارهٔ زعفران هر کدام به‌تنهایی تغییر معناداری در میزان مالون‌دی‌آلدئید و یا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در وضعیت استراحت پیش از تمرین در ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب ایجاد نمی‌کند و یا قادر به جلوگیری از افزایش معنادار میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز متعاقب یک وهله فعالیت وامانده‌ساز نیست. با وجود این، مصرف عصاره و انجام همزمان تمرین استقامتی، میزان مالون‌دی‌آلدئید را در ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب کاهش و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در دو بافت ذکر شده افزایش می‌دهد و از تغییرات معنادار میزان مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی قلب و میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیهٔ پیش‌حرکتی

کورتکس مغز متعاقب یک وهله فعالیت وامانده‌ساز هوازی جلوگیری می‌کند. همچنین مصرف عصارۀ زعفران به‌تنهایی از تغییرات معنادار شاخص‌های یاد شده در قلب، متعاقب وامانده‌شدن جلوگیری کرد. این اثرات عصارۀ زعفران احتمالاً از طریق تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و به‌ویژه بلوکه کردن تولید و عملکرد رادیکال‌ها و گونه‌های اکسیژن فعال اعمال می‌شود. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت‌های قلب و ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس مغز به مصرف یک دوره عصارۀ زعفران ممکن است واکنش‌های متفاوتی داشته باشند؛ به شکلی که مصرف این عصاره به تنهایی در قلب منجر به تقویت این سیستم شده درحالی‌که در ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس چنین واکنش سازگاری قابل مشاهده نیست. مصرف عصارۀ زعفران در جهت جلوگیری از افزایش پراکسیداسیون لیپیدی بافت قلب و مصرف عصارۀ زعفران همزمان با تمرینات استقامتی در ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس مغز به‌ویژه در فعالیت‌های ورزشی وامانده‌ساز هوازی تأثیرگذار است و از اثرات منفی ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی بافت قلب جلوگیری نمود. می‌توان به ورزشکاران رشته‌های استقامتی که در حال انجام تمرینات شدید هستند توصیه کرد از این عصاره استفاده کنند. گرچه در این زمینه نیازمند پژوهش‌های بیشتری به‌ویژه با استفاده از نمونه‌های انسانی هستیم که در آن‌ها شاخص‌های آسیب قلبی و یا سیستم اعصاب مرکزی موجود در سرم متعاقب ورزش‌های وامانده‌ساز پس از مصرف عصارۀ زعفران اندازه‌گیری شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل رساله دکتری، دانشگاه گیلان بود. در پایان، از راهنمایی‌های ارزندۀ آقایان دکتر بهمن میرزایی و دکتر بهرام رسولیان، همکاری پرسنل مرکز پژوهش‌های داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان جهت انجام این طرح و همچنین تأمین بخشی از بودجۀ مالی این طرح توسط مرکز یاد شده، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1) Haskell WL, Lee I-M, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. Circulation. 2007;116(9):1081.

۲) بمبئی چی عفت . تاثیر پیاده روی منظم بر عوامل خطرزای قلبی عروقی و خطر بروز بیماری -قلبی عروقی در زنان یائسه با سابقه سیکل عادت ماهیانه نامنظم در سنین باروری. فیزیولوژی ورزشی. ۱۳۹۲؛ ۵(۱۷): ۵۰-۱۳۱.

3) Bherer L, Erickson KI, Liu-Ambrose T. A review of the effects of physical activity and exercise on cognitive and brain functions in older adults. Journal of aging research. 2013;24(7):1-8.
4) Ascensão A, Magalhães J, Soares J, Ferreira R, Neuparth M, Marques F, et al. Endurance training attenuates doxorubicin-induced cardiac oxidative damage in mice. International journal of cardiology. 2005;100(3):451-60.
5) Tofler GH, Muller JE, Stone PH, Forman S, Solomon RE, Knatterud GL, et al. Modifiers of timing and possible triggers of acute myocardial infarction in the Thrombolysis in Myocardial Infarction Phase II (TIMI II) Study Group. Journal of the American College of Cardiology. 1992;20(5):1049-55.
6) Rosa EF, Takahashi S, Aboulafia J, Nouailhetas VL, Oliveira MG. Oxidative stress induced by intense and exhaustive exercise impairs murine cognitive function. Journal of neurophysiology. 2007;98(3):1820-6.
7) Tsakiris T, Angelogianni P, Tesseromatis C, Tsakiris S, Tsopanakis C. Alterations in Antioxidant Status, Protein Concentration, Acetylcholinesterase, Na+, K+-ATPase, and Mg2+-ATPase Activities in Rat Brain after Forced Swimming. International journal of sports medicine. 2006;27(01):19-24.
8) Turgut G, Demir S, Genç O, Karabulut I, Akalin N. The effect of swimming exercise on lipid peroxidation in the rat brain, liver and heart. Acta physiologica et pharmacologica Bulgarica. 2002;27(2-3):43-5.
9) Kasap S, Gönenç A, Şener DE, Hisar İ. Serum cardiac markers in patients with acute myocardial infarction: oxidative stress, C-reactive protein and N-terminal probrain natriuretic peptide. Journal of clinical biochemistry and nutrition. 2007;41(1):50.
10) Atalay M, Sen CK. Physical Exercise and Antioxidant Defenses in the Hearta. Annals of the New York Academy of Sciences. 1999;874(1):169-77.
11) Kregel KC. Invited review: heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. Journal of Applied Physiology. 2002;92(5):2177-86.
12) Ji LL, Radak Z, Goto S. Hormesis and exercise: how the cell copes with oxidative stress. American Journal of Pharmacology and Toxicology. 2008;3(1):44.
13) Khanna S, Atalay M, Laaksonen DE, Gul M, Roy S, Sen CK. α-lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise. Journal of Applied Physiology. 1999;86(4):1191-6.
14) Venditti P, Di Meo S. Antioxidants, tissue damage, and endurance in trained and untrained young male rats. Archives of biochemistry and biophysics. 1996;331(1):63-8.
15) Ji L. Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. Free Radical Biology and Medicine. 1995;18(6):1079-86.
16) Messina S, Altavilla D, Seminara P, Minutoli L, Monici MC, Bitto A, et al. Lipid Peroxidation Inhibition Blunts Nuclear Factor-κB Activation, Reduces Skeletal Muscle Degeneration, and Enhances Muscle Function in Mice. The American journal of pathology. 2006;168(3):918-26.
17) Corrigan B, Kazlauskas R. Medication use in athletes selected for doping control at the Sydney Olympics (2000). Clinical Journal of Sport Medicine. 2003;13(1):33-40.

18) Lonn E, Bosch J, Yusuf S, Sheridan P, Pogue J, Arnold J, et al. Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial. JAMA: the journal of the American Medical Association. 2005;293(11):1338-47.

19) Aviram M, Dornfeld L, Kaplan M, Coleman R, Gaitini D, Nitecki S, et al. Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. Drugs under experimental and clinical Research. 2002;28(2-3):49-62.

20) Hosseinzadeh H, Modaghegh MH, Saffari Z. Crocus sativus L.(Saffron) extract and its active constituents (crocin and safranal) on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2009;6(3):343-50.

21) Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. The American journal of clinical nutrition. 2001;74(4):418-25.

۲۲) معمار باشی عباس، رجبی علی. تأثیر ده روز مصرف خوراکی زعفران بر علائم بیو شیمیایی و عملکردی کوفتگی عضلانی تأخیری. فیزیولوژی ورزشی.۱۳۹۲؛ ۵ (۱۸): ۶۶-۵۳.

23) Sachdeva J, Tanwar V, Golechha M, Siddiqui KM, Nag TC, Ray R, et al. Crocus sativusL.(saffron) attenuates isoproterenol-induced myocardial injury via preserving cardiac functions and strengthening antioxidant defense system. Experimental and Toxicologic Pathology. 2012;64(6):557-64.

24) Mehdizadeh R, Parizadeh MR, Khooei A-R, Mehri S, Hosseinzadeh H. Cardioprotective effect of saffron extract and safranal in isoproterenol-induced myocardial infarction in wistar rats. Iranian journal of basic medical sciences. 2013;16(1):56.

25) Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR. Safranal, a constituent of Crocus sativus (saffron), attenuated cerebral ischemia induced oxidative damage in rat hippocampus. J Pharm Pharm Sci. 2005;8(3):394-9.

26) Tamaddonfard E, Farshid AA, Asri-Rezaee S, Javadi S, Khosravi V, Rahman B, et al. Crocin Improved Learning and Memory Impairments in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Iranian journal of basic medical sciences. 2013;16(1):91.

27) Brooks GA, White TP. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. Journal of applied physiology. 1978;45(6):1009-15.

28) Cuello AC. Brain microdissection techniques: John Wiley & Sons; 1983.

29) Kei S. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clinica Chimica Acta. 1978;90(1):37-43.

30) Esterbauer H, Cheeseman KH. [42] Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Methods in enzymology. 1990;186:407-21.

31) Nishikimi M, Appaji Rao N, Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. Biochemical and biophysical research communications. 1972;46(2):849-54.

32) Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clinical Chemistry. 1988;34(3):497-500.
33) Claiborne A. Catalase activity. CRC handbook of methods for oxygen radical research. 1985;1:283-4.
34) Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984;105:121-6.
35) Rotruck J, Pope A, Ganther H, Swanson A, Hafeman DG, Hoekstra W. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science. 1973;179(4073):588-90.
36) Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry. 1976;72(1):248-54.
37) Liu J, Yeo HC, Övervik-Douki E, Hagen T, Doniger SJ, Chu DW, et al. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. Journal of Applied Physiology. 2000;89(1):21-8.
38) Somani SM, Husain K. Exercise training alters kinetics of antioxidant enzymes in rat tissues. Biochemistry and molecular biology international. 1996;38(3):587.
39) Acikgoz O, Aksu I, Topcu A, Kayatekin BM. Acute exhaustive exercise does not alter lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. Neuroscience letters. 2006;406(1):148-51.
40) Bejma J, Ramires P, Ji L. Free radical generation and oxidative stress with ageing and exercise: differential effects in the myocardium and liver. Acta physiologica scandinavica. 2000;169(4):343-51.
41) Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullos M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicology and environmental safety. 2006;64(2):178-89.
42) Warner DS, Sheng H, Batinić-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. Journal of experimental biology. 2004;207(18):3221-31.
43) Akil M, Bicer M, Menevse E, Baltaci A, Mogulkoc R. Selenium supplementation prevents lipid peroxidation caused by arduous exercise in rat brain tissue. Bratislavské lekárske listy. 2011;112(6):314.

ارجاع دهی به روش ونکوور

خسروی امیر، میرزایی بهمن، مهربانی جواد، رسولیان بهرام. اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف عصارۀ آبی کلالۀ زعفران بر میزان مالون‌دی‌آلدئید و سیستم آنتی‌اکسیدانی قلب و ناحیۀ پیش‌حرکتی کورتکس مغز موش‌های صحرایی نر جوان پس از یک جلسه فعالیت حاد وامانده‌ساز. فیزیولوژی ورزشی. بهار ۱۳۹۴؛ ۷(۲۵): ۳۰-۱۰۹.

The interaction effects of aerobic training and Saffron extracts consumption on anti-oxidant defense system of heart and brain premotor cortex of young male rats following an acute bout of exhaustive endurance exercise

A. Khosravi[1], B. Mirzaei[2], J. Mehrabani[3], B. Rasoulian[4]

1. Assistant Professor at Ayatollah Boroujerdi University
2. Associate Professor at University of Guilan*
3. Assistant Professor at University of Guilan
4. Associate Professor at Lorestan University of Medical Sciences

Received date: 2014/01/06 **Accepted date: 2014/08/25**

Abstract

The present study aims to investigate the interaction effects of aerobic training and Saffron extracts consumption on anti-oxidant defense system of heart and brain premotor cortex of young male rats following an acute bout of exhaustive endurance exercise. Sixty four Rats with an age of 3 moons (weight 212±26 gr) were assigned to four equal subgroups: 1-CW; Distilled water received. 2- CSW; aqueous saffron extract received; 3- ETW; Distilled water + training. 4- ETSW; aqueous saffron extract + training. The Rats in an aerobic training group ran on a treadmill (60 min /day, 5 days/wk at 25m/min in 10% Incline) for 5 consecutive days a week. Control group did not exercise. At the end of the study period, half of each subgroup immediately before, and remained rats were killed immediately after exhaustive and measured manually, the activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase , and malondialdehyde and protein concentration levels of heart and brain premotor cortex. The data were analyzed by two and one-way repeated ANOVA, Showed that Lipid peroxidation levels, in the heart (subgroups 1,3) and brain premotor cortex (subgroups 1,2, 3) tissues were significantly increased due to exhaustive. The interactive effect between exercise and Saffron extracts (subgroups 3) prevented the increased lipid peroxidation level due to exhaustive. Results of the study indicate that interaction of aerobic training and Saffron extracts can reduce the lipid peroxidation level, in the heart and brain premotor cortex tissues due to exhaustive exercise. However, since few studies have been conducted in this area, more research is needed.

Keywords: Saffron extracts, Anti-oxidant enzymes, Exhaustive exercise

* Corresponding author E-mail: bmirzaei2000@yahoo.com