مقاله اصیل پژوهشی

نقش تمرین هوازی و مصرف عصاره بنه بر سطوح پروتئین کربونیل، پروتئین شوک گرمایی ۷۰ و گلیکوژن بافت کبد موش‌های دیابتی

فاطمه محمدی کاریزنو[۱]، مرضیه ثاقب‌جو[۲]، محسن فؤادالدینی[۳]، هادی سریر[۴]

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از گیاهان دارویی، به‌عنوان درمان‌های جایگزین سالم و مؤثّر در هایپرگلیسمی و مسمومیّت کبدی در نظر گرفته می‌شود؛ همچنین با توجه به اثرات مثبت فعالیت‌های ورزشی بر بیماران دیابتی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ۶ هفته مصرف عصاره بنه و تمرین هوازی بر سطح پروتئین کربونیل (PC)، پروتئین شوک گرمایی ۷۰ (HSP۷۰) و گلیکوژن بافت کبد موش‌های دیابتی انجام شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، در گروه‌های: کنترل سالم، کنترل دیابتی (استرپتوزوتوسین۴۰mg/kg)، دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی، دیابتی‌شده دریافت‌کننده عصاره بنه و گروه دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره بنه قرار گرفتند. برنامه تمرینی شامل ۶ هفته تمرین هوازی روی نوار گردان (۵ جلسه در هفته، هر جلسه ۴۰ دقیقه با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و شیب ۵ درصد) بود. عصاره بنه نیز با دوز ۲۵mg/kg به‌صورت گاواژ (۵ روز در هفته) خورانده شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها بی‌هوش شدند و بافت کبد جدا شد. سطح PC، HSP۷۰ و گلیکوژن کبدی، به روش‌های الایزا و رنگ‌سنجی شیمیایی سنجش شدند.

یافته‌ها: میانگین سطح PC در گروه‌های دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی، دیابتی‌شده دریافت‌کننده عصاره بنه و دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره بنه، به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل دیابتی بود (مقادیر P به‌ترتیب: ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۶ و ۰/۰۰۲)، اما بین میانگین سطح PC در سه گروه مداخله، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بین میانگین سطح HSP۷۰ و گلیکوژن نیز در بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (مقادیر P به‌ترتیب: ۰/۲۱ و ۰/۵۹).

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی و مصرف عصاره بنه، هر کدام به‌تنهایی و نیز توأم با یکدیگر، منجر به کاهش معنی‌دار سطح PC بافت کبد موش‌های دیابتی می‌شود؛ بنابراین مصرف عصاره بنه و انجام تمرین هوازی، احتمالاً بتواند رویکرد مطلوبی در جهت کاهش عوارض کبدی ناشی از دیابت باشد.

واژه‌های کلیدی: عصاره بنه؛ تمرین هوازی؛ پروتئین کربونیل؛ پروتئین شوک گرمایی ۷۰؛ موش‌های دیابتی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۳؛ ۲۱ (۱): ۳۵-۴۷.

دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۸ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۲۲

[۱] کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

[۲] نویسنده مسؤول، دانشیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

آدرس: بیرجند- انتهای بلوار شهید آوینی- پردیس دانشگاه بیرجند- دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی

تلفن: ۰۹۱۲۵۲۷۲۵۳۰ نمابر: ۲۵۰۲۰۳۲-۰۵۶۱ پست الکترونیکی: m_saghebjoo@birjand.ac.ir

[۳] استادیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات آترواسکلروز و عروق کرونر، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

[۴] استادیار ایمونولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

مقدمه

دیابت، به عنوان یکی از شایع‌ترین بیماری های مزمن و از علل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان شناخته شده است. شیوع این بیماری، رو به افزایش است؛ به‌طوری‌که تعداد مبتلایان، از ۱۷۱ میلیون نفر در سال ۲۰۰۰ به بیش از ۳۶۶ میلیون نفر در سال ۲۰۳۰ خواهد رسید. دیابت نوع یک، حاصل اختلال در سیستم ایمنی سلول‌های تولیدکننده انسولین در پانکراس است (۱)، اما دیابت نوع دو، به‌دلیل مقاومت بدن نسبت به عملکرد انسولین همراه با اختلال تدریجی در عملکرد سلول‌های بتا اتفاق می‌افتد که به ازدست‌رفتن تدریجی کنترل متابولیک منجر می‌گردد (۲). بیماری‌های قلبی- عروقی، اختلال‌های بینایی، مشکلات شدید کلیوی و آسیب‌های کبدی، از عوارض درازمدّت بیماری دیابت می‌باشند (۳). استرس اکسیداتیو، در نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعّال اکسیژن از یک سو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌شود که ممکن است نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی مقاومت انسولین، دیابت و عوارض ناشی از آن، از طریق افزایش آسیب اکسیداتیو، التهاب و آپوپتوز و عوارض تأخیری دیابت داشته باشد (۴). رادیکال‌های آزاد، به‌طور کنترل‌نشده‌ای در بیماران دیابتی به‌وسیله اکسیداسیون گلوکز، گلیکاسیون غیرآنزیماتیک پروتئین‌ها و به‌دنبال آن تخریب اکسیداتیو پروتئین‌های گلیکه (گلیکه‌شدن نتیجه پیوند خودبه‌خود گلوکز به پروتئین‌ها می‌باشد) ایجاد می‌گردند. افزایش میزان رادیکال‌های آزاد و کاهش همزمان مکانیسم‌های دفاعی در برابر آن، می‌تواند منجر به صدمه بافت‌ها و آنزیم‌ها شده؛ پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش و مقاومت به انسولین را توسعه دهد (۱). پروتئین‌ها، به‌دلیل فراوانی در سیستم‌های زیستی و مسئول‌بودنشان در بیشتر فرآیندهای عملکردی درون سلول‌ها، از هدف‌های اصلی گونه‌های اکسیژن واکنشی هستند؛ درحالی‌که پروتئین‌ها می‌توانند متحمّل تغییرشکل اکسایشی در بیش از ۳۵ روش شوند، کربونیله‌شدن، متداول‌ترین و نوع کلّی اکسیداسیون پروتئین‌ها محسوب می‌گردد. کربونیله‌شدن، یک تغییرشکل برگشت‌ناپذیر به‌وسیله استرس اکسیداتیو است که اغلب منجر به از دست‌دادن عملکرد و تغییر فعالیت زیستی پروتئین‌ها می‌شود (۵). در واقع پروتئین کربونیل[1] (PC)، توسط انواع مختلفی از سازوکارهای اکسیداتیو تشکیل می‌شود.

پروتئین‌های شوک حرارتی[2] (HSPs)، خانواده بزرگی از پروتئین‌ها می‌باشند که ساختمان شدیداً محافظت‌شده آنها، نشان‌دهنده این مطلب است که نقش مهمی را در فرآیندهای اصلی سلول بازی کرده و به‌عنوان ملازم مولکولی سایر پروتئین‌ها عمل می‌کنند. پروتئین‌های شوک حرارتی، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدّ التهابی دارند و در تاخوردگی اولیه و مجدّد پروتئین‌ها نقش دارند و باعث محافظت هسته سلول‌ها و غشای لیپیدی در مقابل آسیب می‌شوند و از آپوپتوز جلوگیری می‌کنند. در مطالعاتی که در مورد دیابت و سطح سلولی HSP۷۰ انجام شده، نشان داده شده است که پروتئین‌های چاپرونی، از طریق محدودکردن استرس‌های سلولی، قادر به محافظت در برابر مقاومت به انسولین مرتبط با چاقی در سلول‌های جوندگان هستند. در مورد منبع HSP۷۰ سرمی و نقش محافظتی یا مضرّ آن، هنوز ابهامات زیادی وجود دارد (۶). مطالعه جعفرنژاد روی موش های صحرایی دیابتی، نشان داد که در حضور غلظت‌های بالای گلوکز، HSP۷۰ گلیکه می‌شود و عملکرد چاپرونی خود را از دست می‌دهد که این خود زمینه‌ساز آسیب‌پذیربودن بیماران دیابتی در برابر استرس‌ها و شروع مشکلات ثانویه در آنها می‌باشد (۶).

برخی عوامل محیطی از جمله ورزش، می‌توانند به‌صورت مستقیم، با کاهش رادیکال‌های آزاد، تا حدودی در تنظیم تعادل مواد آنتی‌اکسیدان- اکسیدان نقش داشته باشند (۷)؛ همچنین اثرات ورزش بر کنترل قند خون، در تحقیقات بسیار

[1] *Protein carbonyl*
[2] *Heat shock proteins*

زیادی گزارش شده است (۸)؛ با این حال، یک مطالعه متاآنالیز نشان داد که تمام اَشکال تمرینات ورزشی (استقامتی، مقاومتی و ترکیبی)، می‌توانند سبب بهبود اندک مهم‌ترین شاخص کنترل گلوکز (هموگلوبین گلیکوزیله) شوند. این اثرات، کاملاً مشابه موارد مشاهده‌شده در کنترل رژیمی، دارویی و انسولین‌درمانی می‌باشد؛ ولی در مورد اهمیت بالینی ترکیب این روش‌های درمانی، همچنان نیاز به انجام تحقیقات بیشتری است (۹).

هرچند که در حال حاضر، درمان اصلی و مؤثّر برای حالت دیابت قندی، استفاده از انسولین و عوامل کاهنده قند خون می‌باشد، ولی این ترکیبات دارای عوارض نامطلوب متعدّد نظیر: افزایش ذخایر چربی، تحلیل‌رفتن بافت چربی در محل تزریق و بروز شوک هیپوگلیسمیک بوده و در درازمدت، بر روند ایجاد عوارض ناتوان‌کننده دیابت تأثیر ندارند؛ بنابراین نیاز به یافتن ترکیبات مؤثر در درمان دیابت با عوارض جانبی کمتر، احساس می‌گردد (۲). استفاده از گیاهان دارویی برای کنترل و درمان بسیاری از بیماری‌ها در طبّ سنتی مرسوم بوده است، اما نبود پشتوانه علمی، موجب کاهش مصرف و توجه به اثرات سودمند درمانی آنها شده است. با توجه به مشخص‌شدن عوارض داروهای شیمیایی، توجه دوباره به این گیاهان در قرن حاضر، نیازمند افزایش بررسی‌های دقیق علمی و تجزیه و تحلیل‌های آزمایشگاهی برای شناسایی اثرات درمانی این گیاهان می‌باشد (۱۰).

از زمان‌های قدیم به‌ویژه در کشورهای شرقی، گیاهان نقش مهمی در درمان بسیاری از بیماری‌ها بازی می‌کرده‌اند. مدارک موجود نشان می‌دهد که ایرانیان، از پیشگامان استفاده از گیاهان برای اهداف پزشکی بوده‌اند. حدود ۷۵۰۰–۸۰۰۰ گونه گیاهی در ایران وجود دارد (۱۱). پسته وحشی[1]، یک نوع پسته از خانواده آناکاردیاسه[2] است که در ایران آن را بنه[3] می‌نامند (۱۲). بنه، حاوی چندین ترکیب بیواکتیو و ارتقادهنده سلامتی می‌باشد که دارای خواصّ آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌دیابتیک است (۱۳). در واقع، بنه حاوی توکوفرول‌ها و فنول‌ها است که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند. دو نوع اصلی از فنول‌ها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک هستند. مطالعات متعددی نشان داده‌اند، هنگامی که این مواد به رژیم غذایی اضافه شده‌اند، توسعه سرطان، بیماری‌های قلبی–عروقی، بیماری عصبی، دیابت و پوکی استخوان را محدود کرده‌اند (۱۴)؛ همچنین بنه دارای خواصّ قابض، ضدّ التهاب، ضدّ تب، ضدّ باکتری و ضدّ ویروس است و در درمان بیماری های اگزما، عفونت گلو، سنگ کلیه، زخم معده و آسم کاربرد دارد و به‌عنوان خوشبوکننده دهان نیز استفاده می‌شود (۱۱). با وجودی که بنه به‌عنوان یک گیاه کمک‌کننده در جهت درمان بیماری دیابت معرفی شده است، اما در خصوص محل اثر آن، اطلاعات بسیار محدودی در دسترس است؛ از سوی دیگر، علاوه بر مواد غذایی، سایر مداخلات غیردارویی از جمله تمرینات ورزشی نیز به عنوان ابزارهای مهم در پیشگیری و کنترل بیماری‌های متابولیکی مطرح هستند. با توجه به اینکه آسیب‌های کبدی، یکی از عوارض درازمدّت بیماری دیابت است (۳)؛ بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر مصرف عصاره بنه و تمرین هوازی بر سطح PC، HSP۷۰ و گلیکوژن بافت کبد انجام شد.

روش تحقیق

آزمودنی‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی بیرجند انجام شد. آزمایش بر روی تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۱۲–۱۴ هفته و در محدوده وزنی ۱۸۰–۲۴۰ گرم انجام شد. حیوانات، طی مراحل پژوهش در قفس‌های پلی‌کربنات شفّاف، در دمای محیطی ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت نسبی ۴۵–۵۵ درصد با تهویه مناسب نگهداری شدند. موش‌ها، با غذای استاندارد موش تغذیه

[1] *Pistacia*
[2] Anacardiaceae
[3] *Pistacia atlantica*

شدند. حیوانات در طی مراحل پژوهش، محدودیتی در دسترسی به آب و غذا نداشتند. تمام مراحل آزمایش، بر اساس مقررات نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند انجام شد.

ایجاد دیابت تجربی

پس از یک هفته سازگاری موش‌ها با محیط، به‌جز ۸ سر موش گروه کنترل سالم، تعداد ۳۲ سر موش، با یک‌بار تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین[1] (STZ) با دوز ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش، محلول در بافر سیترات ۰/۱ مولار با اسیدیته ۴/۵، دیابتی شدند. پس از گذشت ۵ روز، از دم موش‌ها خون‌گیری به‌عمل آمد و غلظت گلوکز خون موش‌ها، با دستگاه گلوکومتر Accu-Check اندازه‌گیری شد. موش هایی که غلظت گلوکز خون آنها بالای ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود، به‌عنوان مبتلا به دیابت در نظر گرفته شدند (۱۵). پس از اطمینان از دیابتی‌شدن، موش‌ها به‌طور تصادفی در گروه‌های کنترل دیابتی (n=۸)، دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی (n=۸)، دیابتی‌شده دریافت‌کننده عصاره بنه (n=۸) و دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره بنه (n=۸) قرار گرفتند؛ با در نظرگرفتن گروه کنترل سالم (n=۸)، در نهایت، ۵ گروه مورد مطالعه قرار گرفتند. لازم به ذکر است که در طی مراحل پژوهش، دو موش از گروه دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی، یک موش از گروه دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره بنه و یک موش از گروه دیابتی‌شده دریافت‌کننده عصاره بنه تلف شدند.

روش تهیه و مصرف عصاره بنه

برای تهیه عصاره بنه، ابتدا گیاه بنه از منطقه خراسان جنوبی در سال ۲۰۱۲ جمع آوری شد؛ سپس حدود ۴۰۰ گرم بنه با آب شستشو داده شد و دور از نور خورشید، خشک و با استفاده از آسیاب برقی پودر شد. پودر حاصل، در حلال هیدروالکلی (با نسبت اتانول ۷۰ و نسبت آب ۳۰) به مدت ۴۸ ساعت خیسانده و با استفاده از یک همزن مغناطیسی، به‌هم زده شد. پس از آن، ماده حاصل، از صافی عبور داده شد و اتانول آن، با استفاده از دستگاه روتاری در شرایط خلاء تبخیر شد. مایع تغلیظ‌شده، در پیلت‌های شیشه ای در داخل آون در دمای ۴۰ درجه قرار داده شد تا کریستالیزه شود. در نهایت، از ۴۰۰ گرم بنه، ۲۴ گرم عصاره خشک به دست آمد که نسبت عصاره حاصل به گیاه بنه ۶٪ بود. در مطالعه حاضر، روزانه بعد از هر جلسه تمرین، میزان ۲۵ میلی‌گرم عصاره به‌ازای هر کیلوگرم وزن موش، به‌صورت گاواژ به موش‌های گروه تمرین+عصاره و گروه عصاره خورانده می‌شد (۵ میلی‌گرم عصاره به‌ازای هر ۲۰۰ گرم از وزن بدن موش). لازم به ذکر است که عصاره مذکور، در سرم فیزیولوژی به گونه‌ای رقیق می‌شد که حجم ماده گاواژشده، به‌ازای هر موش ۲۰۰ گرمی، حدود ۰/۵ سی‌سی بود. به‌منظور یکسان‌سازی شرایط (دریافت شوک گاواژ)، به گروه‌های دیگر نیز در حجم های مساوی، آب گاواژ می‌شد.

برنامه تمرینی

برنامه تمرینی شامل تمرین هوازی روی نوارگردان، ۵ روز در هفته، ساعت ۹-۱۱ صبح، به مدت ۶ هفته بود. کلّ دوره تمرین، به سه مرحله تقسیم شد. در ابتدا موش‌ها به مدت یک هفته، با سرعت ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه و با شیب صفر درجه روی نوارگردان راه رفتند (مرحله آشنایی). پس از یک هفته سازگاری موش‌ها با نوارگردان، در مدت ۳ هفته، سرعت و مدت تمرین در جلسات مختلف به‌تدریج افزایش یافت تا به‌میزان نهایی معین‌شده؛ یعنی، سرعت ۲۰ متر در دقیقه، شیب ۵ درصد و مدت ۴۰ دقیقه رسید (مرحله اضافه بار)؛ سپس به مدت ۲ هفته، فعالیّت با سرعت ۲۰ متر در دقیقه، شیب ۵ درصد و مدت ۴۰ دقیقه ادامه یافت (مرحله حفظ یا تثبیت). از مجموع ۴۰ دقیقه مذکور، در شروع هر جلسه تمرین، ۵ دقیقه (سرعت ۱۰ متر در دقیقه و شیب صفر) برای گرم‌کردن در نظر گرفته شد و سپس در پایان هر جلسه به‌منظور سردکردن، در مدت ۵

[1] *Streptozotocin*

دقیقه، سرعت نوارگردان به‌طور معکوس کاهش می‌یافت تا به سرعت اولیه برسد. لازم به ذکر است که در تحقیقات انجام‌شده، این شدت تمرین برای موش‌های دیابتی، معادل شدّت در آستانه لاکتات در نظر گرفته شده است (۱۶). به منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان) استفاده شد؛ بدین‌صورت‌که در جلسات اول، از محرّک الکتریکی با ولتاژ کم، همراه با محرّک صوتی استفاده شد و پس از شرطی‌نمودن موش‌ها به‌همراه بودن دو محرّک، در سایر جلسات به‌منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرّک صوتی استفاده شد. در مدت این ۶ هفته، موش‌های گروه کنترل نیز برای آشنایی با نوارگردان، یک جلسه در هفته، به مدت ۵ دقیقه، با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و با شیب صفر، روی آن راه رفتند.

نمونه‌گیری خون، بافت‌برداری و آنالیز بیوشیمیایی

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، موش‌ها با استفاده از اتر، بی‌هوش شدند؛ سپس با برش پوست در ناحیه شکم و قفسه سینه، از طریق بازکردن حفره شکمی، حدود ۵ میلی‌لیتر خون به‌طور مستقیم از قلب موش‌ها توسط سرنگ آغشته به مادّه ضدّ انعقاد خون (EDTA[1]) گرفته شد و به لوله آزمایش حاوی EDTA منتقل شد؛ سپس نمونه‌های جمع‌آوری‌شده به‌سرعت سانتریفیوژ گردید (با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۱۰ دقیقه) و پلاسمای به‌دست‌آمده، برای اندازه‌گیری سطح گلوکز، مورد استفاده قرار گرفت. بافت کبد موش‌ها نیز جدا شد و بلافاصله پس از شستشو توسط آب دیونیزه، در مایع نیتروژن قرار داده شد و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد فریز شد تا پس از هموژنیزاسیون، برای اندازه‌گیری شاخص‌های موردنظر در پژوهش استفاده شود. سطح پروتئین کربونیل بافتی، به روش رنگ‌سنجی شیمیایی و با استفاده از کیت مخصوص موش‌های صحرایی شرکت آمریکایی (Cayman, MI, USA) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات و حساسیّت روش اندازه‌گیری به‌ترتیب: ۶/۴ درصد و ۰/۰۵ نانومول در میلی‌لیتر بود. سطح HSP۷۰ بافتی، به‌روش الایزا و با استفاده از کیت مخصوص موش‌های صحرایی شرکت چینی (CUSABIO BIOTECH, Wuhan, China) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات و حساسیّت روش اندازه‌گیری به‌ترتیب: ۵/۶ درصد و ۱۵/۶ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود. سطح گلیکوژن بافتی نیز به روش رنگ‌سنجی شیمیایی و با استفاده از کیت مخصوص موش‌های صحرایی شرکت ژاپنی (JaICA, Shizuoka) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات و حساسیّت روش اندازه‌گیری به‌ترتیب: ۴/۳ درصد و ۰/۰۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا به‌منظور بررسی طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها، از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. با توجه به طبیعی‌بودن توزیع داده‌ها در متغیرهای PC و گلیکوژن، به‌منظور بررسی اثر متغیّر مستقل بر متغیرهای وابسته، از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. از آنجا که فرض توزیع طبیعی داده‌ها برای متغیّر HSP۷۰ برقرار نشد، از آزمون کروسکال‌والیس برای تحلیل داده‌های این متغیّر استفاده شد. تمام آزمون‌های آماری، با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (ویرایش ۱۹) انجام گرفت و سطح معنی‌داری آزمون‌ها $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در جدول یک، مقادیر میانگین و انحراف استاندارد گلوکز پلاسما و وزن بدن موش‌ها و نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مربوط به میانگین اختلاف داده‌های پیش و پس آزمون در گروه‌های پنج گانه تحقیق ارائه شده است.

[1] *Ethylene diamine tetraacetic Acid*

جدول ۱- مقایسه میانگین و انحراف استاندارد سطح گلوکز پلاسما و وزن بدن، قبل و بعد از مداخله و نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه

متغیّر	گروه / مرحله	کنترل سالم (تعداد=۸)	کنترل دیابتی (تعداد ۸)	دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی (تعداد=٦)	دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره بنه (تعداد=۷)	دیابتی‌شده دریافت‌کننده عصاره بنه (تعداد=۷)	سطح معنی‌داری
وزن بدن (گرم)	پیش‌آزمون	۲۲۳±۱۱	۱۸۳±۸	۲۰۶±۱۸	۲۱۱±۱۶	۲۰۷±۲۲	-
	پس‌آزمون	۲۳۹±۱۹	۱۵۲±۱۳	۱۷۸±۲۱	۱۹۲±۲۰	۱۷۹±۴۱	-
	اختلاف پیش و پس آزمون	۱۶±۲۰	-۳۰±۱۰	-۲۸±۲۱	-۱۸±۲۹	-۲۷±۲۴	۰/۰۰۱ ¥
گلوکز خون (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	پیش‌آزمون	۸۶/۵۰±۱۳/۵۴	۳۶۷/۷۵±۲۷/۱۶	۳۷۵/۳۳±۷۳/۹۱	۴۴۳/۵۷±۱۱۹/۲۸	۴۰۳/۸۶±۷۱/۳۲	-
	پس‌آزمون	۷۸/۲۵±۹/۳۹	۳۸۳/۲۵±۲۵/۶۷	۲۶۹/۳۳±۱۲۹/۹۳	۳۱۰/۱۴±۱۲۹/۹۳	۲۹۴/۸۶±۱۶۵/۳۶	-
	اختلاف پیش و پس آزمون	-۸/۲۵±۱۱/۹۷	۱۵/۵۰±۲۲/۲۳	-۱۰۶±۱۶۹/۸۷	-۱۳۳/۴۳±۱۷۲/۹۷	-۱۰۹±۱۳۸/۴۷	۰/۰۸

¥: وجود تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین گروه‌های مورد مطالعه

جدول ۲- نتایج آزمون تعقیبی LSD در مورد مقایسه های جفتی گروه ها در اختلاف وزن بدن در ابتدا و انتهای مداخله

گروه‌ها	سطح معنی‌داری
کنترل سالم با کنترل دیابتی	۰/۰۰۰۱ ¥
کنترل سالم با دیابتی تحت تمرین هوازی	۰/۰۰۱ ¥
کنترل سالم با دیابتی تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره	۰/۰۰۴ ¥
کنترل دیابتی با دیابتی تحت تمرین هوازی	۰/۸۴
کنترل دیابتی با دیابتی تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره	۰/۳۱
کنترل دیابتی با دیابتی دریافت‌کننده عصاره	۰/۸۱
دیابتی تحت تمرین هوازی با دیابتی تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره	۰/۴۵
دیابتی تحت تمرین هوازی با دیابتی دریافت‌کننده عصاره	۰/۹۷
دیابتی دریافت‌کننده عصاره با دیابتی تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره	۰/۴۶

¥: وجود تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین گروه‌های مورد مطالعه

بر اساس نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (جدول ۱) و نتایج آزمون تعقیبی LSD، کاهش وزن معنی‌داری در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده شد (P<۰/۰۵)، اما بین میزان کاهش وزن گروه‌های دیابتی با یکدیگر، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). (جدول ۲)؛ همچنین بین تغییرات گلوکز خون در ۵ گروه، متعاقب ۶ هفته تمرین و مصرف عصاره، تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد (P=۰/۰۸)(جدول ۱).

مقادیر میانگین و انحراف استاندارد سطح PC، HSP ۷۰ و گلیکوژن بافت کبد و نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و کروسکال‌والیس، در جدول ۳ نشان داده شده است. براساس نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه، بین میانگین سطح PC در گروه‌های پنج‌گانه، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P=۰/۰۰۲)(جدول ۳).

نتایج آزمون تعقیبی LSD نشان داد (جدول ۴)، میانگین سطح PC در گروه‌های دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی، دیابتی‌شده دریافت‌کننده عصاره بنه و گروه دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره بنه در پایان ۶ هفته مداخله، به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل دیابتی بود (مقادیر P به‌ترتیب: ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۶ و ۰/۰۰۲)؛ همچنین بین میانگین سطح PC در سه گروه مداخله نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. لازم به ذکر است که القای دیابت، منجر به افزایش معنی‌دار پروتئین کربونیل در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم شد (P=۰/۰۰۱)(جدول ۴).

جدول۳- مقایسه میانگین و انحراف استاندارد سطح HSP۷۰، PC و گلیکوژن بافت کبد و نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و کروسکال‌والیس

گروه / متغیر	کنترل سالم (تعداد=۸)	کنترل دیابتی (تعداد=۸)	دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی (تعداد=٦)	دیابتی‌شده تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره بنه (تعداد=۷)	دیابتی‌شده دریافت‌کننده عصاره بنه (تعداد=۷)	سطح معنی‌داری
پروتئین کربونیل (نانومول/گرم بافت کبد)	۳۱/۴۰±۱۵/۲۷	۶۶/۰۳±۱۶/۰۸	۳۷/۸۵±۸/۹۶	۳۹/۰۱±۱۸/۷۱	۴۱/۷۱±۱۷/۱۴	۰/۰۰۳¥
گلیکوژن (میلی‌گرم/گرم بافت کبد)	۳۸/۸۰±۳/۴۲	۳۷/۵۲±۱/۷۰	۳۸/۵۸±۱/۹۸	۳۸/۶۰±۱/۲۹	۳۷/۱۱±۲/۸۱	۰/۵۹
پروتئین شوک گرمایی ۷۰ (میکروگرم/گرم بافت کبد)	۹/۲۱±۱/۰۶	۱۰/۲۴±۰/۸۴	۱۰/۲۵±۰/۵۸	۸/۳۸±۳/۳۵	۹/۸۶±۰/۹۹	۰/۲۱

¥: وجود تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین گروه‌های مورد مطالعه

جدول ٤- نتایج آزمون تعقیبی LSD در مورد مقایسه‌های جفتی گروه‌ها در سطح پروتئین کربونیل در هر گرم بافت کبد

گروه‌ها	سطح معنی‌داری
کنترل دیابتی با کنترل سالم	۰/۰۰۱ ¥
کنترل دیابتی با دیابتی دریافت‌کننده عصاره	۰/۰۰۶ ¥
کنترل دیابتی با دیابتی تحت تمرین هوازی و دریافت‌کننده عصاره	۰/۰۰۲ ¥
کنترل دیابتی با دیابتی تحت تمرین هوازی	۰/۰۰۲ ¥

¥: وجود تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین دو گروه مورد مطالعه

بر اساس نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه، بین سطح گلیکوژن بافت کبد گروه‌های مختلف نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P=۰/۵۹). نتایج آزمون کروسکال‌والیس نیز بین سطح HSP۷۰ در بین گروه‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P=۰/۲۱)(جدول ۳).

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که ۶ هفته تمرین هوازی، مصرف عصاره بنه و ترکیب تمرین به‌همراه مصرف عصاره بنه، به کاهش معنی‌دار سطح پروتئین کربونیل بافت کبد در موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین منجر شد (P=۰/۰۰۲)؛ اما بین سطح HSP۷۰ و گلیکوژن بافت کبد در بین گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

تخلیه ذخایر آنتی‌اکسیدانی و کاهش فعالیّت آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از جمله: سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و گلوتاتیون‌پراکسیداز در افراد دیابتی، موجب نقص سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در بدن، فعّال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی درون‌سلولی حساس به استرس، افزایش بیان ژن‌های درگیر در التهاب و در نتیجه افزایش التهاب و آسیب‌های بافتی می‌گردد (۱۷)؛ همچنین قند خون بالا در دیابت، می‌تواند سطوح گلیکاسیون و آسیب اکسیداتیو پروتئین‌های داخل سلولی و پلاسما را افزایش دهد. اکسیداسیون پروتئین‌ها، نیتروتیروزین و مشتقّات پروتئین کربونیل را تولید می‌کند؛ همچنین احتمال مرگ سلولی از طریق مکانیزم‌های نکروز یا آپوپتوز، به‌عنوان نتیجه تجمع آسیب‌های سلولی وجود دارد. تشکیل گروه کربونیل، یک نشانگر اولیّه و پایدار برای اکسیداسیون پروتئین در بدن در

نظر گرفته می‌شود (۱). افزایش سطح پروتئین کربونیل در موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین، در تحقیقات گزارش شده است (۱۵) که این یافته، در مطالعه حاضر نیز به‌دست آمد. مشخص شده است که ورزش منظّم با شدّت متوسط، از طریق افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی، منجر به کاهش استرس اکسیداتیو و عوارض دیابت خواهد شد (۱۸). در مطالعه Rodriguez و همکاران، ۶ هفته برنامه تمرینی شنا، اکسیداسیون چربی و پروتئین را در موش‌های دیابتی کاهش داد؛ به‌طوری‌که سطوح مالون‌دی‌آلدئید و گروه کربونیل پلاسما، در موش‌های گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل کاهش قابل توجهی داشت (۸)؛ همچنین در مطالعه Krskova و همکاران، ۱۰ هفته تمرین هوازی تردمیل، منجر به کاهش میزان گروه‌های کربونیل شد (۲۰) که نتایج این تحقیقات با مطالعه حاضر مطابقت دارد. Atalay و همکاران نیز اثر ۸ هفته تمرین استقامتی روی نوارگردان را بر میزان HSP و PC عضله اسکلتی، قلب و کبد موش‌های دیابتی، مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که دیابت، روند افزایش HSP در اثر ورزش را در بافت‌های مورد بررسی کاهش می‌دهد و باعث افزایش سطح PC، شاخص‌های استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت‌های مورد بررسی می‌شود (۲۰). در مطالعه حاضر نیز کاهش سطح پروتئین کربونیل متعاقب ۶ هفته تمرین هوازی، می‌تواند نشان‌دهنده تأثیرات مثبت ورزش در افزایش مقاومت بدن در برابر استرس اکسیداتیو حاصل از دیابت و شروع روند تطابقی با ورزش منظّم باشد.

مطالعات نشان داده‌اند، مهار فرآیندهای اکسیداتیو در بیماران دیابتی، می‌تواند از بروز و گسترش عوارض تأخیری در این بیماران بکاهد؛ از این رو مکمّل‌یاری با ترکیبات زیست‌فعّال غذایی از جمله: فیتوکمیکال‌های آنتی‌اکسیدان، می‌تواند راهکار مناسبی برای کاهش استرس اکسیداتیو و عوارض ناشی از آن باشد (۱۷)؛ همچنین استفاده از موادّ دارای خواصّ آنتی‌اکسیدانی در مهار PC، یک چالش جدید درمانی در درمان بیماری‌های مرتبط با استرس کربونیل‌دار مانند: بیماری دیابت و ناراحتی‌های سندروم متابولیک می‌باشد (۲۱). موادّ دارای خاصیّت آنتی‌اکسیدانی، با ایجاد پایداری در کمپلکس نسخه‌برداری ژن عامل بازساخت سلول‌های بتای پانکراس، سبب بازساخت و حفاظت این سلول‌ها در برابر آسیب‌های سیتوتوکسیک STZ می‌شوند (۱۰). کبد، اندامی مؤثّر در حفظ و برقراری سطح گلوکز خون در محدوده طبیعی است و افزایش قند خون، منجر به عدم تعادل در واکنش‌های اکسیداسیون- احیا در درون هپاتوسیت‌ها می‌شود؛ به این صورت که افزایش قند خون، باعث تسهیل در تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اختلال در تولید زداینده‌های درون‌زاد گونه‌های فعّال اکسیژن مثل: سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز می‌گردد (۳). بدین ترتیب مشخص می‌شود که آسیب دیابتی کبد، توسط عوامل متعدّدی ایجاد می‌گردد و تنها با مهار افزایش قند خون، قابل کنترل نیست؛ به عبارت دیگر، اگر چه در مراحل اولیه بیماری دیابت، آسیب کبد توسط افزایش قند خون القا می‌شود، اما پیشرفت آن، به ابقای افزایش قند خون ارتباط ندارد؛ بنابراین، یک داروی مناسب برای درمان دیابت، بایستی دارای هر دو خاصیّت کاهندگی قند خون و آنتی‌اکسیدانی باشد (۲۲).

فلاونوئیدها- مولکول‌هایی با وزن مولکولی کوچک- پلی‌فنول‌های فعّال زیستی محلول در آب هستند؛ همچنین فعالیت ضدّ ویروسی، ضدّ آلرژی، ضدّ پلاکت، ضدّ التهابی، ضدّ سرطان و آنتی‌اکسیدانی دارند. آنتوسیانین‌ها، یکی از فلاونوئیدهای آنتی‌اکسیدانی موجود در بنه و از داروهای کاهنده قند خون می‌باشند و از آسیب اکسیداتیو در مویرگ‌های خونی چشم و اندام‌ها که از شایع‌ترین عوارض بیماری دیابت است، جلوگیری می‌کنند (۱۴)؛ همچنین غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولی در پوست بنه، کاملاً قادر است سرعت فرآیند اکسیداسیون را کم کند (۷). Kasabari و همکاران، در پژوهشی نشان دادند که تحمل گلوکز در موش‌های تغذیه‌شده با بنه، به‌طور قابل توجهی افزایش

می‌یابد. بنه می‌تواند از طریق بهبود ترشح انسولین و محدودکردن فعالیّت جذب گلوکز، منجر به بهبود هومئوستاز گلوکز شود و به‌طور قابل ملاحظه‌ای اثر ترشح انسولین سلول‌های بتا را تقویت کند (۲۳). در مطالعه حاضر نیز مصرف عصاره بنه همراه با ۶ هفته تمرین هوازی و به‌تنهایی، منجر به کاهش معنی‌دار پروتئین کربونیل شد.

Farzanegi و همکاران در مطالعه‌ای دریافتند، مصرف عصاره بنه و ۸ هفته ورزش استقامتی روی نوارگردان، بر سطوح گلوتاتیون‌پرکسیداز و ظرفیت اکسیداتیو کلّ بافت کبد موش‌های سالم، تأثیر قابل توجهی ندارد (۷)؛ از این رو، علاوه بر نقش مثبت تعاملی، به نظر می‌رسد که استفاده از فعالیت بدنی و مصرف عصاره بنه به‌تنهایی، نقش مؤثّری در کاهش سطح پروتئین کربونیل بافت کبد دارد.

در مطالعه Camelia و همکاران نیز مصرف فلاونوئید کوئرسین و ورزش هوازی، به‌طور قابل توجهی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین افزایش داد؛ همچنین ورزش، سطح PC را در موش‌های دیابتی کاهش داد؛ در حالی‌که این تغییرات در گروه دیابتی درمان‌شده با فلاونوئید کوئرسین همراه با ورزش هوازی، بالاتر بود (۱۸).

از آنجا که بیان HSP۷۰، توسط عوامل محرّک زیادی افزایش می‌یابد و با توجه به اینکه دیابت، بیماری است که با افزایش التهاب، اکسیداسیون و گلیکاسیون ارتباط دارد، پیش‌بینی می‌شود که در پاسخ به این عوامل در بیماری دیابت، باید به‌طور محافظتی سطح HSP بالا باشد؛ چنان‌که Yabunaka در مطالعه خویش نشان داد که سطح HSP۷۰ در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی در بیماران دیابت نوع ۲ در مقایسه با افراد سالم افزایش یافته است. اما اگر بیان بیش از حدّ HSP۷۰ به‌علّت هایپرگلیسمی مزمن و افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد در دیابت ادامه یابد، ممکن است توانایی HSP۷۰ در مقابله با استرس‌های اکسیداتیو و تطابق با شرایط پر استرس کاهش یابد (۶)؛ بنابراین می‌توان این نظریه را مطرح نمود که شاید سطح سرمی بالای HSP۷۰ در دیابت، نه‌تنها نقش حفاظتی نداشته باشد، بلکه نشانگری از شدّت التهاب و استرس اکسیداتیو در این بیماران باشد و باعث پیشرفت واکنش‌های التهابی بعدی و ایجاد عوارض میکروواسکولار و ماکروواسکولار شود (۶). مطالعه Lavin نیز نشان داد که تجویز مکمّل اسیدفولیک، باعث کاهش قابل‌ملاحظه‌ای در سطح سرمی HSP۷۰ و سطح پلاسمایی هوموسیستئین و افزایش گلوتاتیون در بیماران دیابتی نوع ۲ که تحت درمان با انسولین نیستند، می‌شود که این یافته‌ها، همگی مطرح‌کننده کاهش استرس اکسیداتیو در این بیماران است که می‌تواند توجیه‌کننده کاهش سطح سرمی HSP۷۰ در بیماران تحت درمان با اسیدفولیک باشد (۶). Nakhjavani و همکاران در مطالعه‌ای سطوح HSP۷۰ را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ مورد بررسی قرار دادند. آنها دریافتند، سطح سرمی HSP۷۰ در بیماران مبتلا به دیابت، در مقایسه با گروه کنترل سالم به‌طور قابل توجهی بالاتر بود؛ همچنین سطح HSP۷۰، با قند خون ناشتا در بیماران با سابقه بیش از ۵ سال دیابت، همبستگی معکوس و با سابقه فشار خون و طول مدّت بیماری همبستگی مستقیم دارد (۲۴). نتایج پژوهش عیسی‌نژاد و همکاران نشان داد، ۸ هفته تمرینات هوازی، موجب افزایش معنی‌دار سطوح سرمی HSP۷۰ در موش‌های صحرایی شد (۲۵). در مطالعه Simar و همکاران، ۸ هفته تمرین هوازی در طول مصرف مکمل آنتی‌اکسیدانی، بر استرس اکسیداتیو و بیان HSP۷۲ در لکوسیت‌های افراد مسن، منجر به افزایش قابل‌توجهی در سطوح استراحتی ویتامین C و E پلاسما (به‌ترتیب: ۵۰ و ۲۰ درصد افزایش) و کاهش قابل‌توجهی در سطوح تیوباربیتوریک‌اسید (TBARS)[1] و محصول اکسیداسیون پیشرفته پروتئین (AOPP)[2] شده است که در هر دو گروه تمرین+مکمّل آنتی‌اکسیدانی و بی‌تحرّک+مکمّل

[1] *Thiobarbituric acid reactive substances*
[2] *Thiobarbituric acid reactive substances*

آنتی‌اکسیدانی مشابه بوده‌اند. در هر دو گروه، کاهش استرس اکسیداتیو، با ۱۵ درصد کاهش بیان HSP۷۲ در مونوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها همراه بوده است. این مطالعه نشان داد که در افراد مسن، افزایش غلظت ویتامین‌های C و E، با کاهش بیان HSP۷۲ لنفوسیت‌ها همراه بوده است و در این زمینه، ۸ هفته تمرین هوازی، هیچ تأثیری بر این عامل نداشته است (۲۶). در مطالعه حاضر نیز تغییر سطوح HSP۷۰ و گلیکوژن بافت کبد، در هیچ‌کدام از گروه‌ها معنی‌دار نبود. احتمالاً طول دوره و شدّت تمرین، طول دوره و مقدار مصرف عصاره بنه، در عدم تغییر قابل توجه شاخص‌های مورد نظر مؤثّر است؛ از طرفی Febbraio در پژوهش خود، افزایش HSP۷۰ سرمی را به همراه عدم تغییر معنی‌دار بیان پروتئین HSP۷۰ و میزان گلیکوژن عضلانی گزارش کرد و در دسترس‌بودن گلوکز طی فعالیّت را مسئول پاسخ به HSP در گردش بیان کرد (۲۷)؛ شاید یکی از دلایل عدم تغییر سطح HSP۷۰ در مطالعه حاضر، عدم تغییر مقدار گلیکوژن بافت کبد باشد.

نتیجه‌گیری

در مجموع، مطالعات بیشتری لازم است تا اثرات مفید درمانی عصاره بنه در بیماران دیابتی مشخص شود. با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر، انجام تمرینات هوازی منظم و مصرف عصاره آنتی‌اکسیدانی بنه، می‌تواند به‌عنوان یک روش پیشگیرانه مؤثّر برای جلوگیری از عوارض متعدّد بیماری دیابت مطرح گردد؛ اگرچه برای مشخص‌شدن سازوکارهای تطابقی و فهم آن، به تحقیقات تکمیلی در این زمینه نیاز است.

تقدیر و تشکر

نویسندگان، مراتب سپاس و و قدردانی خویش را از جناب آقای دکتر مهدی هدایتی، ریاست محترم مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، برای همکاری صمیمانه در زمینه سنجش‌های آزمایشگاهی متغیّرهای مورد مطالعه، اعلام می‌دارند.

منابع:

1- McGrowder DA, Anderson-Jackson L, Crawford, TV. Biochemical evaluation of oxidative stress in type 1 diabetes. 2013. INTECH. Available at: http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/43298.

2- Ashraf H, Heidari R, Nejati V, Ilkhanipoo M. Preventive effect of berberis integerrima on the serum levels of glucose and lipids in streptozotocin (STZ)-induced diabetes in rats. J Fasa Uni Med Sci. 2012; 2(3): 148-55. [Persian]

3- Amouoghli-Tabrizi B, Mohajeri D. Protective effect of turnip root ethanolic extract on early diabetic nephropathy in the rats. Zahedan J Res Med Sci. 2011; 13(6): 13-9.

4- Sadi G, Kartal DI, Guray T. Regulation of glutathione S-transferase Mu with type 1 diabetes and its regulation with antioxidants. Turk J Biochem. 2013; 38(1): 92-100.

5- Dennis KE, Hill S, Rose KL, Sampson UK, Hill MF. Augmented cardiac formation of oxidatively-induced carbonylated proteins accompanies the increased functional severity of post-myocardial infarction heart failure in the setting of type 1 diabetes mellitus. Cardiovasc Pathol. 2013; 22(6): 473-80.

6- Rezaei avval M, Esteghamati A, Alamdari A, Morteza A, Pasha Meisami A, Nakhjavani M. HSP70 and type 2 diabetes. Iran J Diabetes Lipid Disord. 2010; 9(3): 276-82. [Persian]

7- Farzanegi P, Mousavi M, Ghanbari niaki A. The Effect of Pistacia atlantica extract on glutathione peroxidase tissue levels and total oxidative capacity of liver and plasma lipid profile of rats. Zahedan J Res Med Sci. 2013; 15(11): 59-63.

8- Rosety-Rodríguez M, Camacho A, Rosety MA, Fornieles G, Diaz AJ, Rosety I, et al. A short-term training program reduced oxidative damage in elderly diabetic rats. Rev Invest Clin. 2013; 65(4): 331-5.

9- Snowling NJ, Hopkins WG. Effects of different modes of exercise training on glucose control and risk factors for complications in type 2 diabetic patients. Diabetes Care. 2006; 29(11): 2518-27.

10- Ayoubi A, Omidi A, Valizadeh R, Mousaei A. Effect of hydroalcoholic extract of Aloe vera and Teucrium on serum glucose and lipid profile in streptozotocin diabetic male rats. J Birjand Uni Med Sci. 2013; 20 (2): 144-52. [Persian]

11- Haghdoost F, Baradaran Mahdavi MM, Zandifar A, Sanei MH, Zolfaghari B, Haghjooy Javanmard S. Pistacia atlantica resin has a dose-dependent effect on angiogenesis and skin burn wound healing in rat. J Evid Based Complementary Altern Med. 2013; 2013: Article ID 893425.

12- Saber-Tehrani M, Givianrad MH, Azar-Aberoomand P, Waqif-Husain S, Jafari Mohammadi SA. Chemical composition of iran's pistacia atlantica cold-pressed oil. Journal of Chemistry. 2013; 2013: Article ID 126106.

13- Rashidlamir A, Alizadeh A, Ebrahimi A, Dastani M. The effect of four-week of aerobic exercise with Cinnamon consumption on lipoprotein indicates and blood sugar in diabetic female patients (type 2). J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2012; 20 (5): 605-14.

13- Dastani M, Rashidlamir A, Alizadeh A, Sayed alhoseini M, Ebrahimi atri A. Effects of 8 weeks of aerobic exercise on matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor levels in type II diabetic women. Zahedan J Res Med Sci. 2014; 16 (6): 12-5.

14- Peksel A. Antioxidative properties of decoction of Pistacia atlantica Desf. leaves. Asian J Chem. 2008; 20(1): 681-93.

15- Camelia CH, Baltaru D, Maier M, Muresan A, Clichicl S. Effects of Quercetin and chronic (training) exercise on oxidative stress status in animals with streptozotocin-induced diabetes. Bull UASVM Vet Med. 2013; 70(1): 31-9.

16- Kim HJ, Park JY, Oh SL, Kim YA, So B, Seong JK, et al. Effect of treadmill exercise on interleukin-15 expression and glucose tolerance in Zucker diabetic fatty rats. Diabetes Metab J. 2013; 37(5): 358-64.

17- Bahadoran Z, Mirmiran P, Tohidi M, Mehran M, Azizi F. The effect of broccoli sprout dosage of powder on lipid peroxidation and antioxidant balance in patients with type 2 diabetes. Iran J Diabetes Metabolic Disord. 2011; 35(4): 215-20.

17- Bahadoran Z, Mirmiran P, Tohidi M, Mehran M, Azizi F. Evaluation of the Effect of two doses of broccoli sprouts powder on lipid peroxidation and oxidant/antioxidant balance in type 2 diabetic patients. Journal of Research in Medical Sciences; 2012; 35 (4): 215-20. [Persian]

18- Bigdeli Y, Heidarianpour A. Effect of regular exercise and vitamin C on pain threshold in diabetic rats. J Arak Univ Med Sci. 2012; 15(4): 10-17. [Persian]

19- Krskova K, Eckertova M, Kukan M, Kuba D, Kebis A, Olszanecki R, et al. Aerobic training lasting for 10 weeks elevates the adipose tissue FABP4, Giα, and adiponectin expression associated by a reduced protein oxidation. Endocr Regul. 2012; 46(3): 137-46.

20- Atalay M, Oksala N, Laaksonen DE, Khanna S, Nakao C, Lappalainen J, et al. Exercise training modulates heat shock protein response in diabetic rats. J Appl Physiol. 2004; 97(2): 605-11.

21- Suzuki YJ, Carini M, Buttrfield DA. Protein carbonylation. Antioxid Redox Signal. 2010; 12(3): 323-5.

22- Abolfathi AA, Mohajeri D, Rezaie A, Nazeri M. Protective effects of green tea extract against hepatic tissue injury in streptozotocin-induced diabetic rats. J Evid Based Complementary Altern Med. 2012; 2012: Article ID 740671.

23- Kasabari V, Abu-Dahab R, Afifi FU, Naffa R, Majdalawi L. Modulation of pancreatic MIN6 insulin secretion and proliferation, and extrapancreatic glucose absorption with Achillea santolina, Eryngium creticum and Pistacia atlantica extracts: in vitro evaluation. J Exp Integr Med. 2012; 2(3): 245-54.

24- Nakhjavani M, Morteza A, Khajeali L, Esteghamati A, Khalilzadeh O, Asgarani F, et al. Increased serum HSP70 levels are associated with the duration of diabetes. Cell Stress Chaperones. 2010; 15(6): 959-64.

25- Isanejad A, HasanSarraf Z, Mahdavi M, Gharakhanlou R. The Effect of aerobic exercise training on serum levels of TNF-α, IL - 1β, IL-6 and Hsp70 in rats. Journal of Sport Biosciences. 2013; 4(15): 91-106. [Persian]

26- Simar D, Malatesta D, Mas E, Delage M, Caillaud C. Effect of an 8-weeks aerobic training program in elderly on oxidative stress and HSP72 expression in leukocytes during antioxidant supplementation. J Nutr Health Aging. 2012; 16(2): 155-6.

27- Hashemi A, Faramarzi M, Bargharar M, Khazeni A, Amani S, Banitalebi E. A comparison of the effect of carbohydrate-protein supplements on heat shock protein 72 (HSP72) during intermittent soccer activities. Iran J Nutr Sci Food Technol. 2012; 7(3): 79-88. [Persian]

Abstract *Original Article*

The role of aerobic training and Pistacia atlantica extract on the levels of protein carbonyl, heat shock protein 70, and glycogen in the liver tissue of diabetic rats

Fatemeh Mohammadi Karizno[1], Marziyeh Saghebjoo[2], Mohsen Foadoddini[3], Hadi Sarir[4]

Background and Aim: The use of medicinal herbs is taken as a healthy and effective alternative treatment for hyperglycemia and liver toxicity. Therefore, due to the positive effects of exercise training on diabetic patients, the objective of the present study was to investigate the effect of a 6 week period of aerobic training together with Pistacia atlantica extract taking on protein carbonyl (PC), heat shock protein 70 (HSP70) , and glycogen levels in the liver tissues of diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental research, 40 male Wistar rats were randomly divided into 5 groups: 1) healthy control, 2) diabetic control, 3) diabetic under aerobic training, 4) diabetics receiving Pistacia atlantica extract and 5) diabetics under aerobic training and receiving the extract. .The six week period exercise program included aerobic training on a treadmill (5 sessions per week, 40 minutes per each session, with a speed of 20m/min and 5% incline). Pistacia atlantica extract was fed 5 days per week (25mg/kg). The rats were anesthetized.48 hours after the last training session, and their livers were isolated. Then, the level of their PC, HSP70, and hepatic glycogen were assessed by means of ELISA and chemical colorometry.

Results: Mean level of PC in the diabetic group under aerobic training, diabetic group receiving pistacia extract, and the group under aerobic training together with receiving pistacia extract was significantly lower than that of the control diabetic group (P was 0.002,0.006 and 0.002, respectively); but, mean level of PC was not significantly different in the three case groups. Mean level of HSP70 and glycogen in the three groups was not significantly different either (P was 0.21 and 0.59 ,respectively).

Conclusion: It was found that aerobic training and Pistacia atlantica extract consumption, either alone or together, led to a significant reduction in PC levels in the liver tissues of diabetic rats. Thus, Pistacia atlantica extract and aerobic training can be good remedies in reducing liver complications resulting from diabetes.

Key Words: Pistacia atlantica extract, Aerobic training, Protein carbonyl, Heat shock protein 70, Diabetic rats

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2014; 21 (1): 35-47.

Received: February 7, 2014 ***Accepted: June 12, 2014***

[1] *M.Sc of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran;*
[2] *Corresponding author, Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Physical Education, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran m_saghebjoo@birjand.ac.ir*
[3] *Assistant Professor of Physiology, Atherosclerosis and Coronary Heart Research Center, Birjand University 0f Medical Sciences , Birjand, Iran;*
[4] *Assistant professor of Immunology, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.*