

## نقش تمرين هوائي و مصرف عصاره بنه بر سطوح پروتئين کربونيل، پروتئين شوك گرمائي ۷۰ و گليکوژن بافت کبد موش‌های دیابتی

فاطمه محمدی کاربینو<sup>۱</sup>، مرضیه ثاقب‌جو<sup>۲</sup>، محسن فؤادالدینی<sup>۳</sup>، هادی سریر<sup>۴</sup>

### چکیده

زمینه و هدف: استفاده از گیاهان دارویی، به عنوان درمان‌های جایگزین سالم و مؤثر در هایپرگلیسمی و مسمومیت کبدی در نظر گرفته می‌شود؛ همچنین با توجه به اثرات مثبت فعالیت‌های ورزشی بر بیماران دیابتی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ۶ هفته نظر مصرف عصاره بنه و تمرين هوائي بر سطح پروتئين کربونيل (PC)، پروتئين شوك گرمائي ۷۰ (HSP70) و گليکوژن بافت کبد موش‌های دیابتی انجام شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، در گروه‌های: کترول سالم، کترول دیابتی (استرپیتووزتوسین ۴۰mg/kg)، دیابتی شده تحت تمرين هوائي، دیابتی شده دریافت‌کننده عصاره بنه و گروه دیابتی شده تحت تمرين هوائي و دریافت‌کننده عصاره بنه قرار گرفتند. برنامه تمرينی شامل ۶ هفته تمرين هوائي روزي نوار گردان (۵ جلسه در هفته، هر جلسه ۴۰ دقیقه با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و شبیه ۵ درصد) بود. عصاره بنه نیز با دوز ۲۵mg/kg به صورت گاواز (۵ روز در هفته) خورانده شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرينی، موش‌ها بی‌هوش شدند و بافت کبد جدا شد. سطح PC، HSP70 و گليکوژن کبدی، به روش‌های الایزا و رنگ‌سنگی شیمیایی سنجش شدند.

یافته‌ها: میانگین سطح PC در گروه‌های دیابتی شده تحت تمرين هوائي، دیابتی شده دریافت‌کننده عصاره بنه و دیابتی شده تحت تمرين هوائي و دریافت‌کننده عصاره بنه، به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کترول دیابتی بود (مقادیر P به ترتیب: ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۶ و ۰/۰۰۴)، اما بین میانگین سطح PC در سه گروه مداخله، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بین میانگین سطح HSP70 و گليکوژن نیز در بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (مقادیر P به ترتیب: ۰/۰۲۱ و ۰/۰۵۹).

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

واژه‌های کلیدی: عصاره بنه؛ تمرين هوائي؛ پروتئين شوك گرمائي ۷۰؛ موش‌های دیابتی

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

دربافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۸ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۲۲

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

<sup>۲</sup> نویسنده مسؤول، دانشیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

آدرس: بیرجند- انتهای بلوار شهداد آوینی- پردیس دانشگاه بیرجند- دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی  
تلفن: ۰۹۱۲۵۲۷۷۵۳۰. نامبر: ۰۵۶۱-۲۵۰۲۰۳۳. پست الکترونیکی: m\_saghebjoo@birjand.ac.ir

<sup>۳</sup> استادیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات آنرواکلروز و عروق کرونر، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

<sup>۴</sup> استادیار ایمونولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

**مقدمه**

متداول ترین و نوع کلی اکسیداسیون پروتئین‌ها محسوب می‌گردد. کربونیله شدن، 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<sup>۱</sup> (PC)، توسط انواع مختلفی از سازوکارهای اکسیداتیو تشکیل می‌شود.

پروتئین‌های شوک حرارتی<sup>۲</sup> (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 به عنوان ملازم مولکولی سایر پروتئین‌ها عمل می‌کنند. پروتئین‌های شوک حرارتی، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی دارند و در تاخورده‌گی اولیه و مجدد 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 HSP70 انجام شده، نشان داده شده است که پروتئین‌های چاپرونی، از طریق محدود کردن استرس‌های سلولی، قادر به محافظت در برابر مقاومت به انسولین مرتبط با چاقی در سلول‌های جوندگان هستند. در مورد منبع HSP70 سرمی و نقش محافظتی یا مضر آن، هنوز ابهامات زیادی وجود دارد (۶). مطالعه جعفرنژاد روی موش‌های صحرایی دیابتی، نشان داد که در حضور غلظت‌های بالای گلوکز، HSP70 گلیکه می‌شود و عملکرد چاپرونی خود را از دست می‌دهد که این خود زمینه‌ساز آسیب‌پذیری‌بودن بیماران دیابتی در برابر استرس‌ها و شروع مشکلات ثانویه در آنها می‌باشد (۶).

برخی عوامل محیطی از جمله ورزش، می‌توانند به صورت 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

دیابت، به عنوان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های 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 ازدست رفتن تدریجی کنترل متابولیک منجر می‌گردد (۲). بیماری‌های قلبی- عروقی، اختلال‌های بینایی، مشکلات شدید کلیوی و آسیب‌های کبدی، از عوارض درازمدت بیماری دیابت می‌باشند (۳). استرس اکسیداتیو، در نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال 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 به‌دبیال آن تخریب اکسیداتیو پروتئین‌های گلیکه (گلیکه‌شدن نتیجه پیوند خود به خود گلوکز به پروتئین‌ها می‌باشد) ایجاد می‌گردد. افزایش میزان رادیکال‌های آزاد و کاهش همزمان مکانیسم‌های دفاعی در برابر آن، می‌تواند منجر به صدمه بافت‌ها و آنژیم‌ها 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؛ در حالی که پروتئین‌ها می‌توانند متحمل تغییرشکل اکسایشی در بیش از ۳۵ روش شوند، کربونیله شدن،

<sup>1</sup> Protein carbonyl

<sup>2</sup> Heat shock proteins

سلامتی می‌باشد که دارای خواص آنتیاکسیدانی و آنتیدیابتیک است (۱۳). در واقع، بنه حاوی توکوفرول‌ها و فنول‌ها است که به عنوان 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 خواص قابض، ضد التهاب، ضد تب، ضد باکتری و ضد ویروس است و در درمان بیماری‌های اگزما، عفونت گلو، سنگ کلیه، زخم معده و آسم کاربرد دارد و به عنوان خوشوکننده دهان نیز استفاده می‌شود (۱۱). با وجودی که بنه به عنوان 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 درازمدت بیماری دیابت است (۳)؛ بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر مصرف عصاره بنه و تمرین هوایی بر سطح PC، HSP70 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 ویستان با سن ۱۲-۱۴ هفته و در محدوده وزنی ۱۸۰-۲۴۰ گرم انجام شد. حیوانات، طی مراحل پژوهش در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف، در دمای محیطی  $21 \pm 2$  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

زیادی گزارش شده است (۸)؛ با این حال، یک مطالعه متانالیز نشان داد که تمام آشکال تمرینات ورزشی (استقامتی، مقاومتی و ترکیبی)، می‌توانند سبب بهبود اندک مهم‌ترین شاخص کنترل گلوکز (هموگلوبین گلیکوزیله) شوند. این اثرات، کاملاً مشابه موارد مشاهده شده در کنترل رژیمی، دارویی و انسولین درمانی 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 مؤثر برای حالت دیابت قندی، استفاده از انسولین و عوامل کاهنده قند خون می‌باشد، ولی این ترکیبات دارای عوارض نامطلوب متعدد نظیر: افزایش ذخایر چربی، تحلیل رفتن بافت چربی در محل تزریق و بروز شوک هیپوگلیسیمیک 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 طب سنتی مرسوم بوده است، اما نبود پشتونه علمی، موجب کاهش مصرف و توجه به اثرات سودمند درمانی آنها شده است. با توجه به مشخص شدن 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 می‌کردند. 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<sup>۱</sup>، یک نوع پسته از خانواده آناتوکارپیا<sup>۲</sup> است که در ایران آن را بنه<sup>۳</sup> می‌نامند (۱۲). بنه، حاوی چندین ترکیب بیوакتیو و ارتقادهنه

<sup>1</sup> *Pistacia*

<sup>2</sup> Anacardiaceae

<sup>3</sup> *Pistacia atlantica*

ساعت خیسانده و با استفاده از یک همزن مغناطیسی، به هم 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 تغییظشده، در پیلت‌های شیشه‌ای 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، به صورت گاواز به موش‌های گروه تمرین+عصاره و گروه عصاره خوارانده 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 گاوازشده، به‌ازای هر موش ۲۰۰ گرمی، حدود ۵/۰ سی‌سی بود. به‌منظور یکسان‌سازی شرایط (دریافت شوک گاواز)، به گروه‌های دیگر نیز در حجم‌های مساوی، آب گاواز می‌شد.

#### برنامه تمرینی

برنامه تمرینی شامل تمرین هوایی روی نوارگردان، ۵ روز در هفته، ساعت ۱۱-۹ صبح، به مدت ۶ هفتگه بود. کل دوره تمرین، به سه مرحله تقسیم شد. در ابتدا موش‌ها به مدت یک هفتگه، با سرعت ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه و با شیب صفر درجه روی نوارگردان راه رفتد (مرحله آشنایی). پس از یک هفتگه سازگاری موش‌ها با نوارگردان، در مدت ۳ هفتگه، سرعت و مدت تمرین در جلسات مختلف به تدریج افزایش یافت تا به میزان نهایی معین شده؛ یعنی، سرعت ۲۰ متر در دقیقه، شیب ۵ درصد و مدت ۴۰ دقیقه رسید (مرحله اضافه بار)؛ سپس به مدت ۲ هفتگه، فعالیت با سرعت ۲۰ متر در دقیقه، شیب ۵ درصد و مدت ۴۰ دقیقه ادامه یافت (مرحله حفظ یا ثبیت). 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 ۵ سپس در پایان هر جلسه به‌منظور سرد کردن، در مدت ۵

شدن. 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، به جز ۸ سر موش گروه کنترل سالم، تعداد ۳۲ سر موش، با یکبار تزریق درون صفاقی استرپیتوزوتوسین<sup>۱</sup> (STZ) با دوز ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش، محلول در بافر سیترات ۱/۰ مولار با اسیدیته ۴/۵، دیابتی شدند. پس از گذشت ۵ روز، از دم موش‌ها خون‌گیری به عمل آمد و غلظت گلوکز خون موش‌ها، با دستگاه گلوکومتر Accu-Check اندازه‌گیری شد. موش‌هایی که غلظت گلوکز خون آنها بالای ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود، به عنوان مبتلا به دیابت در نظر گرفته شدند (۱۵). پس از اطمینان از دیابتی شدن، موش‌ها به طور تصادفی در گروه‌های کنترل دیابتی (n=۸)، دیابتی شده تحت تمرین هوایی (n=۸)، دیابتی شده دریافت‌کننده عصاره بنه (n=۸) و دیابتی شده تحت تمرین هوایی و دریافت‌کننده عصاره بنه (n=۸) قرار گرفتند؛ با در نظر گرفتن 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 دیابتی شده تحت تمرین هوایی، یک موش از گروه دیابتی شده تحت تمرین هوایی و دریافت‌کننده عصاره بنه و یک موش از گروه دیابتی شده دریافت‌کننده عصاره بنه تلف شدند.

#### روش تهییه و مصرف عصاره بنه

برای تهییه 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

<sup>۱</sup> Streptozotocin

حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب: ۶/۴ درصد و ۰/۰۵ نانومول در میلی‌لیتر بود. سطح HSP70 بافتی، به روش الایزا و با استفاده از کیت مخصوص موش‌های صحرایی شرکت (CUSABIO BIOTECH, Wuhan, China) چینی (اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب: ۵/۶ درصد و ۱۵/۶ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود. سطح گلیکوژن بافتی نیز به روش رنگ‌سنگی شیمیایی و با استفاده از کیت مخصوص موش‌های صحرایی شرکت ژاپنی (JaICA, Shizuoka) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب: ۴/۳ درصد و ۰/۰۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

### تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا به منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها در متغیرهای PC و گلیکوژن، به منظور بررسی اثر متغیر مستقل بر متغیرهای وابسته، از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. از آنجا که فرض توزیع طبیعی داده‌ها برای متغیر HSP70 برقرار نشد، از آزمون کروسکال‌والیس برای تحلیل داده‌های این متغیر استفاده شد. تمام آزمون‌های آماری، با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (ویرایش ۱۹) انجام گرفت و سطح معنی‌داری آزمون‌ها  $<0.05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

در جدول یک، مقادیر میانگین و انحراف استاندارد گلوکز پلاسمای 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.

دقیقه، سرعت نوارگردان به طور معکوس کاهش می‌یافتد تا به سرعت اولیه برسد. لازم به ذکر است که در تحقیقات انجام شده، این شدت تمرين برای موش‌های دیابتی، معادل شدت در آستانه لاكتات در نظر گرفته شده است (۱۶). به منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان) استفاده شد؛ بدین صورت که در جلسات اول، از محرک الکتریکی با ولتاژ کم، همراه با محرک صوتی استفاده شد و پس از شرطی نمودن موش‌ها به همراه بودن دو محرک، در سایر جلسات به منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرک 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 شبیب صفر، روی آن راه رفتند.

نمونه‌گیری خون، بافت‌برداری و آنالیز بیوشیمیایی ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرينی و پس از ۱۲ ساعت ناشتايی، 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 به طور مستقیم از قلب موش‌ها توسط سرنگ آغشته به ماده ضد انعقاد خون (EDTA<sup>۱</sup>) گرفته شد و به لوله آزمایش حاوی EDTA منتقل شد؛ سپس نمونه‌های جمع‌آوری شده به سرعت سانتریفیوژ گردید (با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۱۰ دقیقه) و پلاسمای به دست آمده، برای اندازه‌گیری سطح گلوکز، مورد استفاده قرار گرفت. بافت کبد موش‌ها نیز جدا شد و بلا فاصله 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 رنگ‌سنگی شیمیایی و با استفاده از کیت مخصوص موش‌های صحرایی شرکت آمریکایی (Cayman, MI, USA) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات و

<sup>۱</sup> 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 یک طرفه

متغیر	مرحله	گروه	کنترل سالم (تعداد=۸)	کنترل دیابتی (تعداد=۸)	دیابتی شده تحت تمرين هوازی (تعداد=۶)	دیابتی شده تحت تمرين هوازی و دریافت کننده عصاره بنه (تعداد=۷)	دیابتی شده تحت تمرين هوازی و دریافت کننده عصاره بنه (تعداد=۷)	سطح معنی داری
وزن بدن (گرم)	پیش آزمون	۲۲۳±۱۱	۱۸۳±۸	۲۰۶±۱۸	۲۱۱±۱۶	۲۰۷±۲۲	-	-
	پس آزمون	۲۳۹±۱۹	۱۵۲±۱۳	۱۷۸±۲۱	۱۹۲±۲۰	۱۷۹±۴۱	-	-
	اختلاف پیش و پس آزمون	۱۶±۲	-۳۰±۱۰	-۲۸±۲۱	-۱۸±۲۹	-۲۷±۲۴	۰/۰۰۱	-
گلوکز خون (میلی گرم/دسمی لیتر)	پیش آزمون	۸۶/۵۰±۱۳/۵۴	۳۶۷/۷۵±۲۷/۱۶	۳۷۵/۳۳±۷۳/۹۱	۴۴۳/۵۷±۱۱۹/۲۸	۴۰۳/۸۶±۷۱/۳۲	-	-
	پس آزمون	۷۸/۲۵±۹/۳۹	۲۸۳/۲۵±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 معنی دار ( $P<0.05$ ) بین گروه های 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 معنی داری
کنترل سالم با کنترل دیابتی	۰/۰۰۱
کنترل سالم با دیابتی تحت تمرين هوازی	۰/۰۰۱
کنترل سالم با دیابتی تحت تمرين هوازی و دریافت کننده عصاره	۰/۰۰۴
کنترل دیابتی با دیابتی تحت تمرين هوازی	۰/۸۴
کنترل دیابتی با دیابتی تحت تمرين هوازی و دریافت کننده عصاره	۰/۳۱
کنترل دیابتی با دیابتی دریافت کننده عصاره	۰/۸۱
دیابتی تحت تمرين هوازی با دیابتی تحت تمرين هوازی و دریافت کننده عصاره	۰/۴۵
دیابتی تحت تمرين هوازی با دیابتی دریافت کننده عصاره	۰/۹۷
دیابتی دریافت کننده عصاره با دیابتی تحت تمرين هوازی و دریافت کننده عصاره	۰/۴۶

✳ وجود تفاوت معنی دار ( $P<0.05$ ) بین گروه های مورد مطالعه

در گروه های پنج گانه، اختلاف معنی داری مشاهده شد (جدول ۳) ( $P=0.002$ ).

نتایج آزمون تعقیبی LSD نشان داد (جدول ۴)، میانگین سطح PC در گروه های دیابتی شده تحت تمرين هوازی، دیابتی شده دریافت کننده عصاره بنه و گروه دیابتی شده تحت تمرين هوازی و دریافت کننده عصاره بنه در پایان ۶ هفته مداخله، به طور معنی داری پایین تر از گروه کنترل دیابتی بود (مقادیر P به ترتیب: ۰/۰۰۶، ۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۲)؛ همچنین بین میانگین سطح PC در سه گروه مداخله نیز اختلاف معنی داری مشاهده نشد. لازم به ذکر است که القای دیابت، منجر به افزایش معنی دار پروتئین کربونیل در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم شد (جدول ۴).

بر اساس نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (جدول ۱) و نتایج آزمون تعقیبی LSD، کاهش وزن معنی داری در گروه های دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده شد ( $P<0.05$ )، اما بین میزان کاهش وزن گروه های دیابتی با یکدیگر، تفاوت معنی داری مشاهده نشد ( $P>0.05$ ). (جدول ۲)؛ همچنین بین تغییرات گلوکز خون در ۵ گروه متعاقب ۶ هفته تمرين و مصرف عصاره، تغییرات معنی داری مشاهده نشد ( $P=0.08$ ) (جدول ۱).

مقادیر میانگین و انحراف استاندارد سطح PC، HSP ۷۰ و گلیکوژن بافت کبد و نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و کروسکال والیس، در جدول ۳ نشان داده شده است. براساس نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، بین میانگین سطح PC

جدول ۳- مقایسه میانگین و انحراف استاندارد سطح HSP70 و گلیکوژن بافت کبد و نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و کروسکال والیس

سطح معنی داری	متغیر						گروه
	دیابتی شده دریافت کننده عصاره بنه (تعداد=۷)	دیابتی شده تحت تمرین هوازی و دریافت کننده عصاره بنه (تعداد=۷)	دیابتی شده تحت تمرین هوازی (تعداد=۶)	کنترل دیابتی (تعداد=۸)	کنترل سالم (تعداد=۸)		
.۰۰۲	۴۱/۷۱±۱۷/۱۴	۳۹/۰۱±۱۸/۲۱	۳۷/۸۵±۸/۹۶	۶۶/۰۳±۱۶/۰۸	۳۱/۴۰±۱۵/۲۷	پروتئین کربونیل (نانومول/گرم بافت کبد)	
.۰۵۹	۳۷/۱۱±۲/۸۱	۳۸/۶۰±۱/۲۹	۳۸/۵۸±۱/۹۸	۳۷/۵۲±۱/۷۰	۳۸/۸۰±۳/۴۲	گلیکوژن (میلی گرم/گرم بافت کبد)	
.۰۲۱	۹/۸۶±۰/۹۹	۸/۳۸±۳/۳۵	۱۰/۲۵±۰/۵۸	۱۰/۲۴±۰/۸۴	۹/۲۱±۱/۰۶	پروتئین شوک گرمایی ۷۰ (میکرو گرم/گرم بافت کبد)	

٪ وجود تفاوت معنی دار ( $P < 0.05$ ) بین گروه های مورد مطالعه

جدول ۴- نتایج آزمون تعقیبی LSD در مورد مقایسه های جفتی گروه ها در سطح پروتئین کربونیل در هر گرم بافت کبد

سطح معنی داری	گروه ها
.۰۰۱	کنترل دیابتی با کنترل سالم
.۰۰۶	کنترل دیابتی با دیابتی دریافت کننده عصاره
.۰۰۲	کنترل دیابتی با دیابتی تحت تمرین هوازی و دریافت کننده عصاره
.۰۰۲	کنترل دیابتی با دیابتی تحت تمرین هوازی

٪ وجود تفاوت معنی دار ( $P < 0.05$ ) بین دو گروه مورد مطالعه

تخلیه ذخایر آنتی اکسیدانی و کاهش فعالیت آنزیم های سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از جمله: سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و گلوتاپریون پراکسیداز در افراد دیابتی، موجب نقص سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در بدن، فعال سازی مسیرهای پیام رسانی درون سلولی حساس به استرس، افزایش بیان ژن های درگیر در التهاب و در نتیجه افزایش التهاب و آسیب های بافتی می گردد (۱۷)؛ همچنین قند خون بالا در دیابت، می تواند سطوح گلیکا سیون و آسیب اکسیداتیو پروتئین های داخل سلولی و پلاسما را افزایش دهد. اکسیداسیون پروتئین ها، نیتروتیروزوزین و مشتقات پروتئین کربونیل را تولید می کند؛ همچنین احتمال مرگ سلولی از طریق مکانیزم های نکروز یا آپوپتوز، به عنوان نتیجه تجمع آسیب های سلولی وجود دارد. تشکیل گروه کربونیل، یک نشانگر اولیه و پایدار برای اکسیداسیون پروتئین در بدن در

بر اساس نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، بین سطح گلیکوژن بافت کبد گروه های مختلف نیز تفاوت معنی داری مشاهده نشد ( $P = 0.59$ ). نتایج آزمون کروسکال والیس نیز بین سطح HSP70 در بین گروه های مختلف، تفاوت معنی داری نشان نداد ( $P = 0.21$ )(جدول ۳).

## بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که ۶ هفته تمرین هوازی، مصرف عصاره بنه و ترکیب تمرین به همراه مصرف عصاره بنه، به کاهش معنی دار سطح پروتئین کربونیل بافت کبد در موش های دیابتی شده با استریتو佐توسین منجر شد ( $P = 0.002$ )؛ اما بین سطح HSP70 و گلیکوژن بافت کبد در بین گروه های مختلف تحقیق، تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

درمانی در درمان بیماری‌های مرتبط با استرس کربونیل دار مانند: بیماری دیابت و ناراحتی‌های سندروم متابولیک می‌باشد (۲۱). مواد دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، با ایجاد پایداری در کمپلکس نسخه‌برداری ژن عامل بازساخت سلول‌های بتای پانکراس، سبب بازساخت و حفاظت این سلول‌ها در برابر آسیب‌های سیتوکسیک STZ می‌شوند (۱۰). کبد، اندامی مؤثر در حفظ و برقراری سطح گلوکز خون در محدوده طبیعی است و افزایش قند خون، منجر به عدم تعادل در واکنش‌های اکسیداسیون-اکسیدانتی است که این ایجاد اکسیدانتیها می‌شود؛ به این صورت که افزایش قند خون، باعث تسهیل در تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اختلال در تولید زداینده‌های درون‌زاد گونه‌های فعال اکسیژن مثل: سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز می‌گردد (۳). بدین ترتیب مشخص می‌شود که آسیب دیابتی کبد، توسط عوامل متعددی 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 ابقاء افزایش قند خون ارتباط ندارد؛ بنابراین، یک داروی مناسب برای درمان دیابت، بایستی دارای هر دو خاصیت کاهنده‌گی قند خون و آنتی‌اکسیدانی باشد (۲۲).

**فلاؤنونئیدها**- مولکول‌هایی با وزن مولکولی کوچک-پلی‌فنول‌های فعال زیستی محلول در آب هستند؛ همچنین فعالیت ضد ویروسی، ضد آلرژی، ضد پلاکت، ضد التهابی، ضد سرطان و آنتی‌اکسیدانی دارند. آنتوسبیانین‌ها، یکی از فلاونونئیدهای آنتی‌اکسیدانی موجود در بنه و از داروهای کاهنده قند خون می‌باشند و از آسیب اکسیدانتیو 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، به طور قابل توجهی افزایش

نظر گرفته می‌شود (۱). افزایش سطح پروتئین کربونیل در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، در تحقیقات گزارش شده است (۱۵) که این یافته، در مطالعه حاضر نیز به دست آمد. مشخص شده است که ورزش منظم با شدت متوسط، از طریق افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی، منجر به کاهش استرس اکسیدانتیو 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؛ به طوری که سطوح مالون دی‌آلدئید و گروه کربونیل پلاسماء، در موش‌های گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل کاهش قابل توجهی داشت (۸)؛ همچنین در مطالعه Krskova و همکاران، ۱۰ هفته تمرین هوایی تردیمیل، 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 اکسیدانتیو و التهاب در بافت‌های مورد بررسی می‌شود (۲۰). در مطالعه حاضر نیز کاهش سطح پروتئین کربونیل متعاقب ۶ هفته تمرین هوایی، می‌تواند نشان‌دهنده تأثیرات مثبت ورزش در افزایش مقاومت بدن در برابر استرس اکسیدانتیو حاصل از دیابت و شروع روند تطبیقی با ورزش منظم باشد.

مطالعات نشان داده‌اند، مهار فرآیندهای اکسیدانتیو در بیماران دیابتی، می‌تواند از بروز و گسترش عوارض تأخیری در این بیماران بکاهد؛ از این رو مکمل‌یاری با ترکیبات زیست‌فعال غذایی از جمله: فیتوکمیکال‌های آنتی‌اکسیدان، می‌تواند راهکار مناسبی برای کاهش استرس اکسیدانتیو و عوارض ناشی از آن باشد (۱۷)؛ همچنین استفاده از مواد دارای خواص آنتی‌اکسیدانی در مهار PC، یک چالش جدید

نظریه را مطرح نمود که شاید سطح سرمی بالای HSP<sub>70</sub> در دیابت، نه تنها نقش حفاظتی نداشته باشد، بلکه نشانگری از شدت 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 مکمل اسیدفولیک، باعث کاهش قابل ملاحظه‌ای در سطح سرمی HSP<sub>70</sub> 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 HSP<sub>70</sub> است که می‌تواند توجیه‌کننده کاهش سطح سرمی در بیماران تحت درمان با اسیدفولیک باشد (۶). در بیماران Nakhjavani و همکاران در مطالعه‌ای سطوح HSP<sub>70</sub> را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ مورد بررسی قرار دادند. آنها دریافتند، سطح سرمی HSP<sub>70</sub> در بیماران مبتلا به دیابت، در مقایسه با گروه کنترل سالم به طور قابل توجهی بالاتر بود؛ همچنین سطح HSP<sub>70</sub>، با قند خون ناشتا در بیماران با سابقه بیش از ۵ سال دیابت، همبستگی معکوس و با سابقه فشار خون و طول مدت بیماری همبستگی مستقیم دارد (۲۴). نتایج پژوهش عیسی‌نژاد و همکاران نشان داد، ۸ هفته تمرینات هوایی، موجب افزایش معنی‌دار سطوح سرمی HSP<sub>70</sub> در موش‌های صحرایی شد (۲۵). در مطالعه Simar و همکاران، ۸ هفته تمرین هوایی در طول مصرف مکمل آنتی‌اکسیدانی، بر استرس اکسیداتیو و بیان HSP<sub>72</sub> در لکوستیت‌های افراد مسن، منجر به افزایش قابل توجهی در سطوح استراحتی ویتامین C و E پلاسما (به ترتیب: ۵۰ و ۲۰ درصد افزایش) و کاهش قابل توجهی در سطوح تیوباریتوريک اسید (TBARS)<sup>۱</sup> و محصول اکسیداسیون پیشرفت‌های پروتئین (AOPP)<sup>۲</sup> شده است که در هر دو گروه تمرین+مکمل آنتی‌اکسیدانی و بی‌تحرک+مکمل

می‌یابد. بنه می‌تواند از طریق بهبود ترشح انسولین و محدود کردن فعالیت جذب گلوکز، منجر به بهبود هومنوستاز گلوکز شود و به طور قابل ملاحظه‌ای اثر ترشح انسولین سلول‌های بتا را تقویت کند (۲۳). در مطالعه حاضر نیز مصرف عصاره بنه همراه با ۶ هفته تمرین هوایی و به تنها‌یابی، 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 گلوتاتیون پرکسیداز و ظرفیت اکسیداتیو کل بافت کبد موش‌های سالم، تأثیر قابل توجهی ندارد (۷)؛ از این رو، علاوه بر نقش مثبت تعاملی، به نظر می‌رسد که استفاده از فعالیت بدنه و مصرف عصاره بنه به تنها‌یابی، نقش مؤثری در کاهش سطح پروتئین کربونیل بافت کبد دارد.

در مطالعه Camelia و همکاران نیز مصرف فلاونوئید کوئرسین و ورزش هوایی، به طور قابل توجهی آنزیمه‌ای آنتی‌اکسیدانی را در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین افزایش داد؛ همچنین ورزش، سطح PC را در موش‌های دیابتی کاهش داد؛ در حالی که این تغییرات در گروه دیابتی درمان‌شده با فلاونوئید کوئرسین همراه با ورزش هوایی، بالاتر بود (۱۸).

از آنجا که بیان HSP<sub>70</sub>، توسط عوامل محرک 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 به طور محافظتی سطح HSP بالا باشد؛ چنان‌که HSP<sub>70</sub> در مطالعه خویش نشان داد که سطح Yabunaka در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی در بیماران دیابت نوع ۲ در مقایسه با افراد سالم افزایش یافته است. اما اگر بیان بیش از حد HSP<sub>70</sub> به علت هایپرگلیسمی مزمن و افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد در دیابت ادامه یابد، ممکن است توانایی HSP<sub>70</sub> در مقابله با استرس‌های اکسیداتیو و تطابق با شرایط پر استرس کاهش یابد (۶)؛ بنابراین می‌توان این

<sup>1</sup> Thiobarbituric acid reactive substances

<sup>2</sup> Thiobarbituric acid reactive substances

### 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 تمرينات هوازی منظم و مصرف عصاره آنتی‌اکسیدانی بنه، می‌تواند به عنوان یک روش پیشگیرانه مؤثر برای جلوگیری از عوارض متعدد بیماری دیابت مطرح گردد؛ اگرچه برای مشخص شدن سازوکارهای تطبیقی و فهم آن، به تحقیقات تکمیلی در این زمینه نیاز است.

### تقدیر و تشکر

نویسنده‌گان، 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 متغیرهای مورد مطالعه، اعلام می‌دارند.

آن‌تی‌اکسیدانی مشابه بوده‌اند. در هر دو گروه، کاهش استرس اکسیداتیو، با ۱۵ درصد کاهش بیان HSP72 در مونوکیت‌ها و گرانولوسیت‌ها همراه بوده است. این مطالعه نشان داد که در افراد مسن، افزایش غلظت ویتامین‌های C و E، با کاهش بیان HSP72 لنفوکیت‌ها همراه بوده است و در این زمینه، ۸ هفت‌ته تمرين هوازی، هیچ تأثیری بر این عامل نداشته است (۲۶). در مطالعه حاضر نیز تغییر سطوح HSP70 و گلیکوژن بافت کبد، در هیچ‌کدام از گروه‌ها معنی‌دار نبود. احتمالاً طول دوره و شدت تمرين، طول دوره و مقدار مصرف عصاره بنه، در عدم تغییر قابل توجه شاخص‌های مورد نظر مؤثر است؛ از طرفی Febbraio در پژوهش خود، افزایش HSP70 سرمی را به همراه عدم تغییر معنی‌دار بیان پروتئین HSP70 و میزان گلیکوژن عضلانی گزارش کرد و در دسترس بودن گلوكز طی فعالیت را مسئول پاسخ به HSP در گردش بیان کرد (۲۷)؛ شاید یکی از دلایل عدم تغییر سطح HSP70 در مطالعه حاضر، عدم تغییر مقدار گلیکوژن بافت کبد باشد.

### 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, Clichici 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, Heidianpour 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,  $\text{Gi}\alpha$ , 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- $\alpha$ , IL - 1 $\beta$ , 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<sup>1</sup>, Marziyeh Saghebjoo<sup>2</sup>, Mohsen Foadoddini<sup>3</sup>, Hadi Sarir<sup>4</sup>

**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*

<sup>1</sup> M.Sc of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran;

<sup>2</sup> 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

<sup>3</sup> Assistant Professor of Physiology, Atherosclerosis and Coronary Heart Research Center, Birjand University Of Medical Sciences , Birjand, Iran;

<sup>4</sup> Assistant professor of Immunology, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.