

## Original Article

# The effect of vitamin D intake with chitosan coating along with six weeks of resistance training and on the antioxidant defense indices of the hippocampal tissue of ovariectomized rats

Dehghan-Manshadi M<sup>1</sup>, Azarbajani MA<sup>1\*</sup>, Atashak S<sup>2</sup>, Peeri M<sup>1</sup>, Rahmati-Ahmabad S<sup>3</sup>

1- Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.

2- Department of Exercise Physiology, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, I.R. Iran.

3- Department of Physical Education, Pardis Branch, Islamic Azad University, Pardis, I.R. Iran.

Received: 2022/06/1 | Accepted: 2022/08/29

### Abstract:

**Background:** Menopause is a process that occurs with the permanent cessation of ovarian function in women and has many complications. This study aimed to investigate the effect of vitamin D with chitosan coating along with six weeks of resistance training on the antioxidant indices of the hippocampal tissue of ovariectomized rats.

**Materials and Methods:** 24 rats were randomly divided into 4 groups of 6. After ovariectomy, rats were divided into menopausal chitosan-coated vitamin D groups, menopausal exercise group, chitosan-coated vitamin D group and menopausal exercise, and menopausal control group. The training group did resistance training 5 days a week for 6 weeks. 24 hours after the last training session, the hippocampus was separated from the brain and the amounts of succinate dehydrogenase (SOD), malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (TAC) were measured by ELISA technique. To compare the groups, one-way ANOVA test was used at the alpha level of 0.05.

**Results:** SOD values were significantly higher in the chitosan-coated vitamin D exercise group than the chitosan-coated vitamin D and menopausal control groups ( $P<0.05$ ). TAC in the exercise-vitamin D group with chitosan coating was significantly higher than the exercise groups and the postmenopausal control group ( $P<0.05$ ). Also, the MDA concentration in the exercise group was significantly higher than the vitamin D group with chitosan coating ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** Resistance training prevented the increase of oxidative stress and when resistance training is combined with the simultaneous consumption of vitamin D with chitosan coating, due to the possible agonistic effect, it will have a greater effect in reducing menopausal complications and oxidative stress in postmenopausal women.

**Keywords:** Resistance training, Ovariectomy, Rat, Antioxidant indices, Hippocampus

### \*Corresponding Author

Email: m\_azarbajani@iauctb.ac.ir

Tel: 0098 912 248 1622

Fax: 0098 218 807 4874

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, September, 2022; Vol. 26, No 4, Pages 378-387

**Please cite this article as:** Dehghan-Manshadi M, Azarbajani MA, Atashak S, Peeri M, Rahmati-Ahmabad S. The effect of vitamin D intake with chitosan coating along with six weeks of resistance training and on the antioxidant defense indices of the hippocampal tissue of ovariectomized rats. *Feyz* 2022; 26(4): 378-87.

# بررسی اثر مصرف ویتامین D با پوشش کیتوزان همراه با شش هفته تمرین مقاومتی بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی بافت هیپوکامپ رت‌های اواریکتونی شده

مهسا دهقانی مشادی<sup>۱</sup>، محمدعلی آذربایجانی<sup>۲</sup>، سیروان آتشک<sup>۳</sup>، مقصود پیری<sup>۴</sup>، صالح رحمتی احمدآباد<sup>۵</sup>

خلاصه:

سابقه و هدف: یائسگی فرآیندی است که با قطع عملکرد دائمی تخدمان در زنان اتفاق می‌افتد و عوارض متعددی در پی دارد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر مصرف ویتامین D با پوشش کیتوزان همراه با شش هفته تمرین مقاومتی بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی بافت هیپوکامپ رت‌های اواریکتونی شده بود.

مواد و روش‌ها: ۲۶ سرموش صحرابی، به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تابی تقسیم شدند. پس از ایجاد اواریکتونی، رت‌های به گروه‌های ویتامین D با پوشش کیتوزان یائسگی، گروه تمرین یائسگی، گروه ویتامین D با پوشش کیتوزان و تمرین یائسگی و گروه کنترل یائسگی تقسیم شدند. گروه تمرین ۵ روز در هفته به مدت ۶ هفته تمرین مقاومتی را انجام دادند. ۲۶ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، هیپوکامپ از مغز جدا شد و از طریق تکنیک الایزا، مقادیر سوکسینات دهیدروژناز (SOD)، مالون دی‌آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) پروتئین سنجی شدند. برای مقایسه گروه‌ها از آزمون آنواوی یکراهه در سطح آلفای ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج: مقادیر SOD آن به طور معناداری در گروه تمرین - ویتامین D با پوشش کیتوزان نسبت به گروه‌های ویتامین D با پوشش کیتوزان و گروه کنترل یائسگی بیشتر بود ( $P<0/05$ ). TAC در گروه تمرین - ویتامین D با پوشش کیتوزان به طور معناداری بیشتر از گروه‌های تمرین و گروه کنترل یائسگی بود ( $P<0/05$ ). همچنین غلظت MDA در گروه تمرین به طور معناداری بیشتر از گروه ویتامین D با پوشش کیتوزان بود ( $P<0/05$ ).

نتیجه‌گیری: تمرین مقاومتی از افزایش استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کند و زمانی که تمرین مقاومتی با مصرف همزمان ویتامین D با پوشش کیتوزان همراه شود، به خاطر اثر آگونیستی احتمالی تأثیر بیشتری در کاهش عوارض یائسگی و استرس اکسیداتیو زنان یائسگی خواهد داشت.

وازگان کلیدی: تمرین مقاومتی، اواریکتونی، رت، شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، هیپوکامپ

دوام‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۴، مهر - آبان ۱۴۰۱، صفحات ۳۷۸-۳۸۷

طبق آمارها، در هر ۱ زن زیر ۳۰ سال، ممکن است ۱ نفر از آن‌ها به یائسگی زودرس مبتلا شود [۲،۳]. حذف هورمون استروژن به شیوه اواریکتونی یا در اثر یائسگی با افزایش شاخص‌های استرس اکسیداتیو و مرگ سلولی همراه می‌شود [۲]. در زمان تضعیف عملکرد استروژن ایجاد بیماری‌های مختلف متابولیکی و اینمی افزایش می‌یابد [۳] که یکی از دلایل آن کاهش عملکرد گیرنده ۲۵ دی‌هیدروکسی استروژن می‌باشد که میل ترکیبی بالایی در اتصال به ویتامین D دارد و باعث اختلال در عملکرد سیستم ایمنی می‌شود [۴]. در زمان یائسگی و برداشتن تخدمان، جذب روده‌ای ویتامین D و نیز کلسیم کاهش می‌یابد و موجب افزایش پاسخ سایتوکاین‌های التهابی می‌شود [۵،۶]. ممکن است افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و یا کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها باعث تخریب اکسیداسیونی سلولی اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه موجود در ساختمان غشای سلول شود که به عنوان پراکسیداسیون لبید شناخته می‌شود. این تخریب اکسیداسیونی به طور زنجیروار ادامه می‌یابد و ممکن است دنهایت موجب مرگ سلولی به همراه علائم گسترش بیماری شود [۶]. در زمان قبل از یائسگی هورمون استروژن از طریق مکانیسم‌های مختلف از

مقدمه ۴

زنانی که تخدمان‌های خود را قبل از رسیدن به سن طبیعی یائسگی از دست می‌دهند، در معرض خطرات دیگری همچون مرگ زودرس، بیماری‌های قلب و عروق، سکته، سلطان ریه، اختلال شناختی یا دمانس، پارکینسون، پوکی استخوان و اختلالات جنسی قرار می‌گیرند [۲،۱]. مطالعات نشان می‌دهد که تعداد زیادی از زنانی که قبل از رسیدن به یائسگی طبیعی، تحت عمل جراحی اواریکتونی دوطرفه قرار می‌گیرند، درنتیجه چهار یائسگی زودرس می‌گرددن [۱].

۱. دکتری فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد، ایران

۳. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد، ایران  
۴. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۵. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد پردیس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
۶. دشنان نویسنده مسئول؛

تهران، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه فیزیولوژی ورزشی  
تلفن: ۰۲۱۲۲۴۸۱۶۲۲ - دورنويش: ۰۲۱۴۴۸۶۵۱۰۰

پست الکترونیک: m\_azarbayjani@iauctb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۱۱ - تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۶/۷

ورزشی منظم و ویتامین D با پوشش کیتوزان، در این مطالعه تأثیر مصرف ویتامین D با پوشش کیتوزان همراه با شش هفته تمرین مقاومتی بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی بافت هیپوکامپ رت‌های اواریکتونی شده مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر، اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی بر مبنای دستورالعمل کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی رعایت گردید و با کد IR.IAU.CTB.REC.1400.063 حاضر از نوع نیمه‌تجربی و بنیادی است که با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی بر مبنای دستورالعمل کمیته اخلاق پژوهشگاه علوم ورزشی، از جمله دردسترس‌بودن آب و غذا و شرایط نگهداری مناسب مدنظر قرار گرفت. در پژوهش حاضر ۲۴ سر موش در محدوده وزنی  $250 \pm 30$  گرم به مرکز پژوهش حیوانات آزمایشگاهی داشت‌بنیان بافت و ژن پاسارگاد منتقل شد و مورد پژوهش قرار گرفت. حجم نمونه مطالعه حاضر براساس نتایج تحقیقات پیشین، در سطح معناداری پنج درصد (خطای نوع اول) و توان آماری ۹۵ درصد (خطای نوع دوم) و با استفاده از نسخه ۱۸/۲/۱ نرم‌افزار Medcalc تعیین شد. در پژوهش حاضر حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تابی تقسیم شدند. پس از ایجاد اواریکتونی، رت‌های به گروه‌های ویتامین D با پوشش کیتوزان یائسه، گروه تمرین یائسه، گروه ویتامین D با پوشش کیتوزان و تمرین یائسه و گروه کترل یائسه تقسیم شدند. حیوانات پس از ورود به محیط پژوهش و آشناشی یک‌هفته‌ای با محیط جدید، تمرینات را شروع کردند. در طول دوره پژوهش حیوانات در قفس‌های پلی‌کربناتی شفاف با ابعاد  $15 \times 15 \times 30$  سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد در دمای محیطی با  $20 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت هوا ۵۵ تا ۶۵ درصد نگهداری گردیدند و با غذای تولید مراکز تولید خوراک دام به صورت پلت تغذیه شدند.

### ایجاد مدل اوریکتونی و یائسگی

به منظور ایجاد مدل، موش‌های بالغ، با استفاده از ماده بیهوشی کتابیون و زایلازین بیهوش شدند. سپس از ناحیه کمری، موها تراشیده شدند و با یک جراحی، تخدمان‌ها از ناحیه پشت برداشته شدند. سپس با استفاده از نخ بخیه محل بخیه شد و تا یک ماه موش‌ها نگهداری شدند تا مدل القا شود. برای تأیید یائسه‌شدن موش‌ها و تغییرات ناشی از یائسگی هر فاکتور اندازه‌گیری شده در مطالعه ابتدا در گروه سالم و یائسه مقایسه گردید و در نسخه الحاقی گزارش شد.

قبيل ويژگي هاي آنتي اکسیداني، از مسیر کاتال هاي کلسيمي و بيان ژن هاي که در توليد فاكتور نروتروفيك مشتق از مغز و فاكتور رشد عصبي و فاكتور نروتروفيك سلول هاي گلiali نقش دارند، تحليل نوروني را مهار می‌کند و در هيبوکامپ از آپوپتوز جلوگيري می‌نماید [۷]. طبق مطالعات مختلف، ویتامين D می‌تواند با مکانیسم‌های مختلف با ایجاد تعادل در کلسيم درون‌سلولی نقش مهمی در عوامل شناختی داشته باشد. زیرا گیرنده ویتامين D در بسیاری از مناطق مغز به خصوص در نواحی درگیر با حافظه و هيبوکامپ شناسایی شده است [۸]. کیتوزان یک پوشش جدید خوراکی است که ساختمان چندقدی دارد و از واحدهای گلوکزآمین و ان-استیل گلوکزآمین (با اتصالات بنا ۱ و ۴) تشکیل شده است و از پوسته سخت پوستانی مانند خرچنگ و میگو به دست می‌آید و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار خوبی دارد [۹]. شواهد موجود حاکی از این است که با استفاده از انواع مکمل‌باری کوتاه‌مدت و بلند‌مدت و اجرای منظم فعالیت‌های بدنی (مقاومتی و استقامتی)؛ می‌توان موجبات مقابله با سندروم متابولیک و عواقب نامطلوب آن را فراهم ساخت [۱]. تمرینات ورزشی باعث بازتوانی عصبي مغز می‌شوند و عوارض نامطلوب آسيب اکسیداتيو و آپوپتوز را می‌کاھند [۱۱]. نتایج پژوهشی نشان داد که دویلن اختیاري روی چرخ دواړ باعث افزایش ۳ تا ۴ برابري در تولید و بقای سلول‌های عصبي جدید در شکنج دندانهای هيبوکامپ شد و از تحليل سلول عصبي پيشگيري کرد [۱۲]. تمرین منظم يکي از راهکارهای غيرداروبي مؤثر جهت بهبود عملکردهای شناختی در دوران پس یائسگی بيان شده است. ورزش منظم قدرتی سطوح کلسيم و ویتامين D سرم را افزایش می‌دهد که از دلایل آن استرس مکانیکی در پاسخ به کشش عضله فعال نسبت داده شده است [۱۳]. از طرفی تولید و رهاسازی استروژن در مغز باعث حفظ تون اتونومیک مغز می‌شود و از سلول‌های مغزی در برابر تولید ROS پيشگيري می‌کند [۱۴]. اما آسيب اکسیداتيو باعث تخريب غشاء الیگوکندریت در مغز می‌شود و سلول‌های پورکنژر مغز را از بین می‌برد، متعاقب آن سلول‌های مغزی نمی‌توانند از اکسیژن استفاده کنند و غشاء نورونی در سیستم اعصاب مرکزی تخريب می‌شود [۱۵]. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که ۴ هفته تمرین دویلن بر روی تردمیل، ۴ روز در هفته و ۲ بار در روز همراه با مصرف مکمل ویتامين D از کاهش عامل رشد عصبي در موش‌های مدل پارکینسون پيشگيري کرد [۱۶]. از طرف ديگر انجام تمرینات ورزشی باعث افزایش ترشح هورمون پاراتيرونید می‌شود و اين فرمول ویتامين D را به فرم فعال خود تبدیل می‌کند [۱۷]. با توجه به اثرات یائسگی و برداشته شدن اثر حفاظتی استروژن بر بافت‌های بدن که با افزایش استرس اکسیداتيو و بروز بیماری‌های مختلف همراه است و همچنین اثرات مثبت فعالیت

CS از روش ژل یونی استفاده شد. به امولسیون ۵۰ میلی لیتری، محلول ۵۰ میلی لیتری تری پلی فسفات سدیم آبی، ساخته شده در چین (۴٪ درصد وزنی بر حجم) تحت ۵۰۰ دور در دقیقه با همزدن به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق و سپس سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه (۴ درجه سانتی گراد) اضافه شد. سپس بعد از ۳۰ دقیقه چندین بار شستشو با آب دیونیزه شد و در نهایت، سوسپانسیون بدست آمده در دمای ۶۵- درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت در حالت انجماد خشک شد [۱۹].

تهیه هموژنات بافتی

جهت بررسی مارکرهای دفاع آنتی اکسیدانی، ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش های صحرابی ابتدا توسط تزریق درونصفاقی کتامین (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش شدند. ۲۴ ساعت پس از تزریق، با بیهوش نمودن حیوانات، بافت هپاتو کامپ خارج گردید و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و خارج شدن خون و جدا کردن قسمت های زاید، به نیتروژن مایع انتقال داده شد. در روز آزمایش، بافت های منجمد شده به دقت توزین گردید و با نسبت ۱۰:۱ در بافر فسفات سالین هموژنه شد. پس از آن نمونه ها در دور ۱۲۰۰۰ در ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه ساتریفیوژ گردید. از محلول روبي جهت سنجش شاخص های بیوشیمیابی موردنظر استفاده شد. سنجش SOD سرم و ظرفیت TAC تام و نیز مالون دی الدئید (MDA) با استفاده از کیت های اختصاصی طبق دستورالعمل ارائه شده توسط شرکت انگلیسی رئدوکس بدوسیله ABTs با استفاده از دستگاه اتو آنالایزر (شرکت Biosystem - ساخت کشور اسپانیا) انجام شد. اندازه گیری جذب با روش اسپکترو فوتومتر (BioRad ساخت کشور آمریکا) با جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط منحنی استاندارد تعیین شد. نتایج نیز بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین (u/mg of protein) گزارش شد.

سنجهش فعالیت آنزیم SOD بر پایه قدرت سوپراکسید دیسموتاز در مهار احیای نیتروبیوترازوولیسوم به وسیله یون سوپراکسید با استفاده از روش Winterbourn انجام گرفت. ۲۰ میکرولیتر از بافت هموژن، EDTA ۱٪ مولار در سدیم سیانید ۳٪ میلی مولار و ۱/۵ میلی مولار در یک کوott اضافه شد و بعد از مخلوط کردن به مدت ۵ تا ۸ دقیقه در دمای ۳۷ درجه قرار گرفت. سپس بعد از اضافه کردن ریبوفلاوین ۱۲٪ میلی مولار در بافر با PH=۷/۸ با مولار ۶/۷۰ پتاسیم فسفات به مدت ۱۰ تا ۱۲ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار گرفت و جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت ویژه آنزیم برس حسب واحد بر میلگم پروتئین محاسبه شد. میزان سطح سرم، مالون دی الدهید

پسیں طبق روش مشخص موش‌ها گروہبندی شدند و در گروههای یائسہ ناشی از اواریکتومی (با ورزش یا مکمل یا ترکیب هر دو) قرار گرفتند. پس از پایان مطالعه وزن قبل و بعد از مطالعه بررسی شد. روش استخراج بافت جهت بررسی مطالعات مورفولوژی و پاتولوژیکی بافت هپیوکامپ:

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها با استفاده از ترکیب زایلازین و کاتامین بیهوش شدند و در محیط کاملاً استریل با استفاده از تیغ جراحی و ایجاد برش در قسمت مغز رت‌ها، هپیو کامپ جدا گردید و برای آزمایش‌های سلولی - مولکولی بلا فاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و سپس جهت انجام آزمایش‌های سلولی - مولکولی در یخچال ۷۰- سانتی‌گراد نگهداری شد و هپیو کامپ جداسده از مغز رت‌ها برای انجام آزمایش‌های هیستوشیمیابی در فرمالین ۱۰ درصد تا انجام برش در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از پایان مطالعه وزن قبل و بعد از مطالعه مورد بررسی قرار گرفت.

رتبه های گروه تمرين مقاومتی به منظور آشنا سازی با تمرین به مدت سه روز آموزش داده شدند؛ سپس پروتکل تمرين مقاومتی به مدت ۶ هفته، ۵ روز در هفته بر حیوانات گروه تمرين اعمال شد. تمرينات مقاومتی شامل بالارفتن از نردبان یک متري به فاصله ميله های ۲ سانتي متري و شبب ۸۵ درجه، محقق ساخته و حمل وزنه هاي بود که به دم رت ها آويزان مي شد. ميزان وزنه هاي بسته شده به رت ها ۷۵ تا ۹۰ درصد وزن بدن آنها بود که به تدریج افزایيش يافت. افزایيش در بار تمرين در طول پروتکل تمرينی از طریق دستکاری وزنه جابه جا شده، تکرار در هر سمت و تعداد سنتها اعمال شد. تعداد تکرارها در هر سمت، ۶ تکرار؛ فاصله استراحت بین سنتها ۱ دقیقه و فاصله استراحت بین تکرارها ۱۰ تا ۲۰ ثانیه بود [۱۸].

## تهیه مکمل ویتامین D کلسیم و کیتوزان

محلول کیتوزان (۱ درصد وزنی) پس از حل کردن پودر کیتوزان (اندازه ذرات ۱۰۰ نانومتر، خلوص ۹۹ درصد، ساخت ایران) در اسید استئیک گلاسیال (شرکت سیگما آلدربیچ، ساخت آمریکا) (۱) درصد وزنی در حجم) تهیه شد. با تکان دادن یک شبه در دمای محیط (CS: Tween ۲۵ درجه سانتی گراد) با ۵۰ میلی لیتر محلول کیتوزان (۴۵ درجه سانتی گراد) به مدت ۲ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد بهم زده شد و امولسیون فاز آبی تشکیل گردید. در ۵ میلی لیتر دی کلرومتان (شرکت مرک، ساخت آلمان)، مقادیر مختلفی از کلسیم و ویتامین D3 اضافه شد تا CS: Ca++ و ویتامین D3 (۱:۰، ۲۵:۰) به دست آید. فاز روغنی با فاز آبی در ۱۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در زیر یک حمام یخ همگن شد تا یک امولسیون O/W به دست آید. برای مرحله اتصال عرضی، یلمر

نرم افزار SPSS نسخه ۴۰ استفاده شد. همچنین سطح معنی داری برای تمام آزمون ها  $P \leq 0.05$  در نظر گرفته شد.

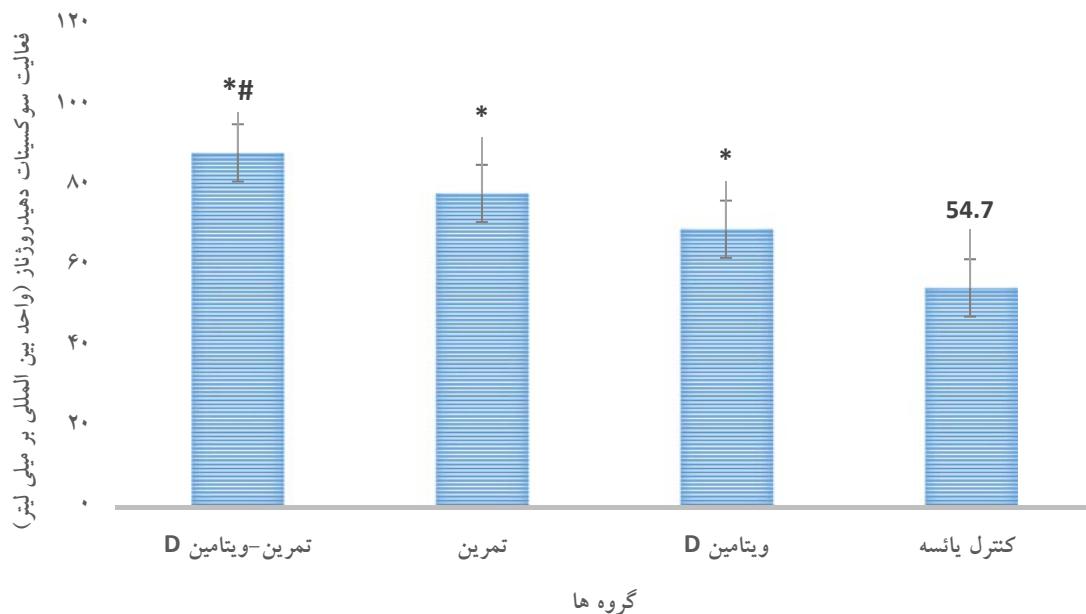
### نتایج

براساس نتایج به دست آمده از تحلیل یکراهه واریانس مشخص شد که تفاوت معناداری در میزان فعالیت SOD بین گروه های موردمطالعه وجود دارد ( $P=0.001$ ) (جدول شماره ۱). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که میزان فعالیت آنزیم SOD در گروه تمرین - ویتامین D با پوشش کیتوزان تفاوت معناداری با گروه تمرین - ویتامین D نداشت. اما میزان فعالیت آنزیم SOD به طور معناداری در گروه تمرین - ویتامین D با پوشش کیتوزان از گروه های ویتامین D با پوشش کیتوزان ( $P=0.001$ ) گروه کنترل یائسه ( $P=0.001$ ) بیشتر بود. میزان فعالیت آنزیم SOD در گروه تمرین تفاوت معناداری با گروه های ویتامین D با پوشش کیتوزان ( $P=0.412$ ) نداشت (نمودار شماره ۱) (جدول شماره ۲).

برروش آنالیز تیوباریتوريک اسید و به صورت اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد. محلول استاندارد حاوی مالون دی آلدئید از مخلوط حاوی سرم به همراه محلول تری کلریک اسید ۲۰ درصد و سدیم دو دسیل سولفات ۸/۱ درصد و محلول تیوباریتوريک اسید ۰/۸ درصد استخراج شد. سپس این محلول استخراج شده به مدت یک ساعت جوشانده و سپس خنک و به آن آن-بوتانول اختاف شد. لایه ارگانیک اسید بعد از سانتریفیوژ به مدت ده دقیقه با ۴۰۰۰ دور جدا و با طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانش شد [۲۰-۲۳].

### روش آماری

از آمار توصیفی برای محاسبه میانگین و انحراف استاندارد، همچنین برای تحلیل داده های تحقیق از آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا برای بررسی طبیعی بودن داده ها آزمون شاپیرو ویلک به کار رفت و سپس از آزمون لوین برای تعیین تجانس واریانس متغیر های شد. با توجه به وجود چهار گروه در تحقیق حاضر و مقایسه متغیر های تحقیق، برای تحلیل داده های تحقیق از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده ها از



نمودار شماره ۱- میزان فعالیت آنزیم SOD بافت هیپوكامپ در گروه های موردمطالعه

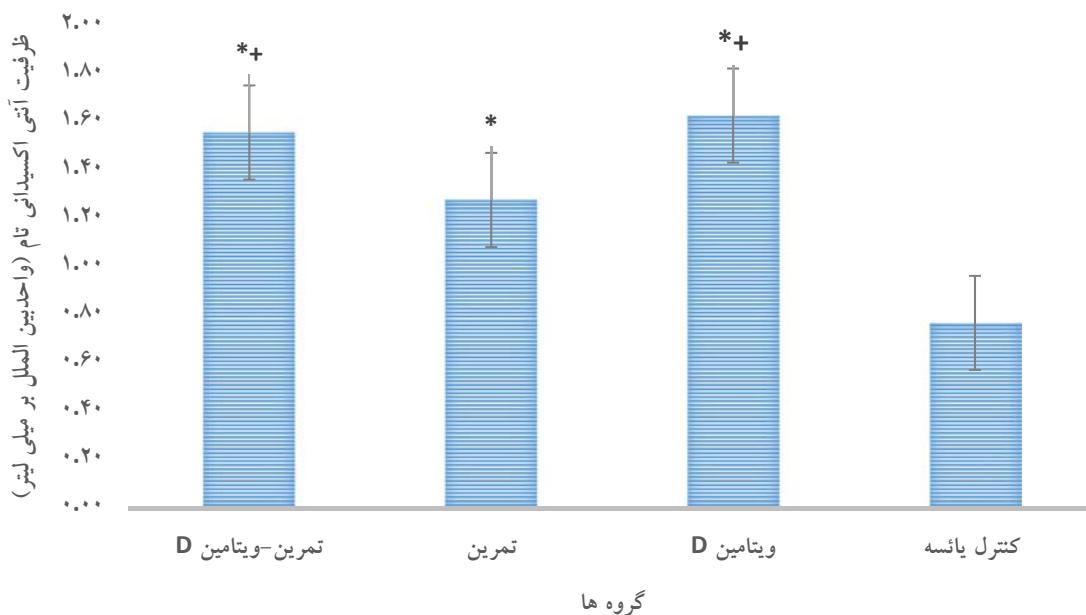
\* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل - یائسه. + نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه تمرین مقاومتی. # نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه ویتامین D. اطلاعات براساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

جدول شماره ۱- نتایج آزمون تحلیل یکراهه برای گروه‌های مستقل برای مقایسه عوامل موردمطالعه در گروه‌های موردمطالعه

متغیر	عامل	مجموع مریقات	df	میانگین مریقات	F	sig
میزان فعالیت آنزیم SOD	بین گروهی	۵۱۹۹/۱۸	۵	۱۰۳۹/۸۳	۲۲/۰۲	۰/۰۰۱
	درون گروهی	۱۴۱۶/۶۹	۳۰	۴۷/۲۲		
	مجموع	۶۶۱۵/۸۸	۳۵			
میزان غلظت TAC	بین گروهی	۲/۹۵	۵	۰/۵۹	۲۵/۶۷	۰/۰۰۱
	درون گروهی	۰/۶۹	۳۰	۰/۰۲		
	مجموع	۳/۶۴	۳۵			
میزان فعالیت آنزیم MDA	بین گروهی	۵۶۱/۹۰	۵	۱۱۲/۳۸	۸۲/۳۱	۰/۰۰۱
	درون گروهی	۴۰/۹۵	۳۰	۱/۳۶		
	مجموع	۶۰۲/۸۶	۳۵			

از گروه‌های تمرین ( $P=0/002$ ) و گروه کنترل یائسه ( $P=0/001$ ) بود. ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال در گروه تمرین به طور معناداری کمتر از گروه ویتامین D با پوشش کیتوزان ( $P=0/001$ ) بود و به طور معناداری از گروه کنترل - یائسه ( $P=0/001$ ) بیشتر بود. همچنین ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال در گروه تمرین ویتامین D با پوشش کیتوزان به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل یائسه ( $P=0/001$ ) بود (نمودار شماره ۲) (جدول شماره ۱).

براساس نتایج بدست آمده از تحلیل یکراهه واریانس مشخص شد که تفاوت معناداری در ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال بین گروه‌های موردمطالعه وجود دارد ( $P=0/001$ ) (جدول شماره ۱). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال در گروه تمرین - ویتامین D با پوشش کیتوزان تفاوت معناداری با گروه ویتامین D با پوشش کیتوزان ( $P=0/994$ ) نداشت. اما ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال در گروه تمرین - ویتامین D با پوشش کیتوزان به طور معناداری بیشتر



نمودار شماره ۲- ظرفیت آنتی اکسیدانی توتال بافت هیپوکامپ در گروه‌های موردمطالعه

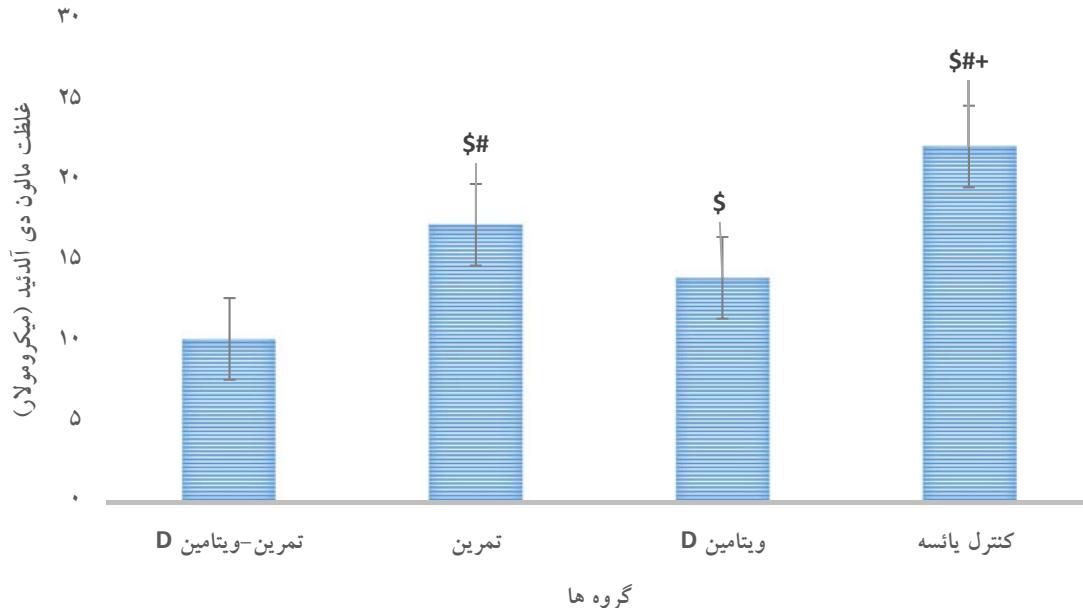
\* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل - یائسه. † نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه تمرین مقاومتی. اطلاعات براساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

داد که غلظت MDA در گروه تمرین - ویتامین D با پوشش کیتوزان تفاوت معناداری داشت؛ اما غلظت MDA در گروه تمرین - ویتامین D با پوشش کیتوزان به طور معناداری از گروه‌های تمرین

براساس نتایج بدست آمده از تحلیل یکراهه واریانس مشخص شد که تفاوت معناداری در غلظت MDA بین گروه‌های موردمطالعه وجود دارد ( $P=0/001$ ) (جدول شماره ۱). نتایج آزمون تعقیبی نشان

کیتوزان به طور معناداری کمتر از گروه کنترل یائسه ( $P=0.001$ ) بود (نمودار شماره ۳). جدول شماره ۲ نتایج آزمون تعقیبی را بر میزان فعالیت فاکتورهای موردمطالعه بافت هیپوکامپ نشان می‌دهد.

( $P=0.001$ ) و گروه کنترل یائسه ( $P=0.001$ ) کمتر بود. غلظت MDA در گروه تمرین به طور معناداری بیشتر از گروه ویتامین D با پوشش کیتوزان ( $P=0.001$ ) بود. اما از گروه کنترل - یائسه MDA در گروه ویتامین D با پوشش کمتر بود. غلظت MDA در گروه ویتامین D با پوشش



نمودار شماره ۳- غلظت MDA بافت هیپوکامپ در گروههای موردمطالعه

\* نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل - یائسه. + نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه تمرین مقاومنی. # نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه ویتامین D. \$ نشانه تفاوت معنادار نسبت به گروه تمرین - ویتامین D. اطلاعات براساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

جدول شماره ۲- نتایج آزمون تعقیبی بر میزان فعالیت فاکتورهای موردمطالعه در بافت هیپوکامپ

متغیر	گروهها	میانگین تفاوتها	خطای انحراف	سطح معنی داری
SOD	تمرین	۱۰/۷۲	۳/۹۶	.۰/۱۰۴
پرتو قدرت	کیتوزان با پوشش	۱۸/۳۳	۳/۹۶	.۰/۰۰۱
کیتوزان	کنترل - یائسه	۳۸/۸۵	۳/۹۶	.۰/۰۰۱
تمرین	ویتامین D با پوشش کیتوزان	۷/۶۰	۳/۹۶	.۰/۴۱۲
پرتو قدرت	کنترل - یائسه	۲۸/۱۲	۳/۹۶	.۰/۰۰۱
کیتوزان	ویتامین D با پوشش کیتوزان	۲۰/۵۲	۳/۹۶	.۰/۰۰۱
پرتو قدرت	تمرین	۰/۳۷	۰/۰۸	.۰/۰۰۲
کیتوزان	ویتامین D با پوشش کیتوزان	-۰/۰۴	۰/۰۸	.۰/۹۹۴
کیتوزان	کنترل - یائسه	۰/۷۷	۰/۰۸	.۰/۰۰۱
تمرین	ویتامین D با پوشش کیتوزان	-۰/۴۱	۰/۰۸	.۰/۰۰۱
پرتو قدرت	کنترل - یائسه	۰/۴۰	۰/۰۸	.۰/۰۰۱
کیتوزان	ویتامین D با پوشش کیتوزان	۰/۸۲	۰/۰۸	.۰/۰۰۱
پرتو قدرت	تمرین	-۷/۱۳	۰/۶۷	.۰/۰۰۱
کیتوزان	ویتامین D با پوشش کیتوزان	-۳/۲۶	۰/۶۷	.۰/۰۰۱
کیتوزان	کنترل - یائسه	-۱۱/۶۶	۰/۶۷	.۰/۰۰۱
تمرین	ویتامین D با پوشش کیتوزان	۳/۷۷	۰/۶۷	.۰/۰۰۱
تمرین	کنترل - یائسه	-۴/۵۳	۰/۶۷	.۰/۰۰۱
MDA	ویتامین D با پوشش کیتوزان	-۸/۳۰	۰/۶۷	.۰/۰۰۱

## بحث

۵ جلسه در هفته انجام شد. پس چنین نتیجه‌گیری کردند که مقداری آنزیم‌های SOD و GPX در هر دو گروه تمرین تغییر معناداری نداشت [۲۵]. سعادت حسینی و همکاران (۲۰۱۸) نیز چنین بیان داشتند که در سطوح SOD در هیپوکامپ پس از چهار هفته تمرین ایتروال تناوبی تفاوت معناداری ایجاد نمی‌شود [۲۶]. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر ناهمسو است. Camiletti و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که پس از ۱۲ هفته تمرین با شدت بالا در سطوح SOD در سلول‌های مغز تفاوتی ایجاد نمی‌شود [۲۷] که این نتایج نیز با نتایج مطالعه حاضر ناهمسو است. شاید بتوان علل ناهمسوی این مطالعات با مطالعه حاضر را به نوع، شدت و مدت تمرینات و نیز تفاوت در نژاد حیوان نسبت داد. همچنین تغییرات هورمون استروژن ناشی از اواریکتومی نیز احتمالاً می‌تواند از بروز علل این تفاوت‌ها باشد. نتایج نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در گروه تمرین - ویتامین D با پوشش کیتوزان به طور معناداری بیشتر از گروه‌های تمرین و گروه کنترل یائسه بود ( $P < 0.05$ ). در خصوص تأثیر آنتی‌اکسیدانی تمرین با حجم متفاوت، رحمانی و همکاران در مطالعه‌ای که به آن اشاره شد نیز چنین نتیجه‌گیری کردند که ظرفیت آنتی‌اکسیدان توتال (TAC) در هر دو گروه تمرین شدید نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری نشان داد [۲۵]. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر همسو است. در بعضی مطالعات اثرات فعلیت بدنه بر حاضر همسو است. در این مطالعات اثرات فعلیت بدنه بر سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت مغز بررسی و نتایج متناقضی ارائه شده است. عوامل سلولی - مولکولی، از طریق پیام‌رسانی آبشاری بین سلولی از راه تمرین مقاومتی باعث تحریک و سنتز پروتئین کیاز  $\beta$  می‌شود، این پروتئین موجب پیام‌رسانی در جهت تولید و رهاش فسفاتیدیل اینوزیتول کیاز ۳ (PIK-3) می‌شود که مسیر بقای سلول را راهاندازی می‌کند. طبق بررسی‌های انجام‌شده تمرین مقاومتی با شدت مناسب و به طور منظم، باعث افزایش سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود و از سنتز فاکتورهای ایجاد‌کننده مرگ سلولی پیشگیری می‌کند [۲۹، ۲۷]. نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که غلظت MDA در گروه تمرین به طور معناداری بیشتر از گروه ویتامین D با پوشش کیتوزان بود ( $P < 0.05$ ). در مطالعه براتی و همکارانش که تأثیر تمرینات تداومی و تناوبی بر سطوح مالون دی‌آلدید (MDA) هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر سالم‌مند را سنجیدند، نتایج نشان داد که در هر دو نوع برنامه تمرینی، سطوح MDA به صورت معناداری پایین‌تر از گروه کنترل بود. نتایج این مطالعه با مطالعه حاضر همسو می‌باشد [۳۰]. برخی تحقیقات اخیر به طور آشکار به تأثیرات مثبت ویتامین D در کاهش فشار اکسیداتیو اشاره دارند. اخیراً در بررسی مسیرهای سیگنالینگ مولکولی گزارش شده است که مکمل سازی با ویتامین D از طریق تنظیم سیگنالینگ آشکار مولکولی

یافته‌های تحقیق نشان داد که میزان فعالیت SOD در گروه تمرین - ویتامین D با پوشش کیتوزان تفاوت معناداری با گروه تمرین نداشت ( $P > 0.05$ ). اما مقدار آن به طور معناداری در گروه تمرین - ویتامین D با پوشش کیتوزان از گروه‌های ویتامین D با پوشش کیتوزان و گروه کنترل بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که تمرین منظم می‌تواند با افزایش در مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در نقاط مختلف مغز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را افزایش دهد [۲۷-۲۴]. در مطالعه سعادت حسینی و همکاران (۲۰۱۸) مقدادر SOD در هیپوکامپ موش صحرایی پس از ۸ هفته تمرین ایتروال تناوبی افزایش معناداری نشان داد [۲۶]. این نتایج با مطالعه حاضر همسو می‌باشد. همین‌طور da Cunha و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه خود به بررسی اثر ۴ هفته تمرین با شدت متوسط پرداختند و چنین نتیجه‌گیری کردند که پس از پایان تمرین سطوح SOD، CAT، GPX در قشر مغز موش صحرایی افزایش معناداری داشته، بنابراین از آسیب به سلول‌های مغز جلوگیری شد [۲۸]. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر همسو می‌باشد که از دلایل آن، انقباضات مکرر و کاهش جریان خون موضعی و متعاقب آن جریان خون مجدد به عضله فعال است که می‌تواند از پراکسیداسیون لبید جلوگیری کند [۲۸]. شواهد رو به رشدی نشان می‌دهد که رادیکال‌های آزاد می‌توانند به عنوان سیگنال‌های رو به رشد که موجب تحریک فرآیندهای انطباقی هنگام تمرین ورزشی سبب می‌شود، وجود داشته باشد [۲۳]. بنابراین سطوح مختلف شدت تمرین موچ بروز واکنش‌های مختلفی در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود که این اختلاف به چند عامل شامل مصرف اکسیژن در طول تمرین، دریافت رژیم آنتی‌اکسیدانی و چربی خون مربوط می‌شود [۲۴]. گزارش شده است که تمرین مقاومتی و تناوبی شدید می‌تواند محرك تولید فاکتور رشد اندوتیال در عروق مغز شود و عملکرد سلول‌های مغزی را بهبود دهد [۲۵] و از دیگر دلایل آن واکنش‌های مثبت آنتی‌اکسیدانی، سازگاری ایجاد شده در هیپوکامپ با اجرای تمرین شدید و طولانی مدت عنوان شده است [۲۳]. بر این اساس شدت تمرین در کنار مدت، دو فاکتور اساسی در اجرای تمرین و عامل مهمی در ایجاد پاسخ‌های سازگاری در بهبود سیستم دفاعی و پیشگیری از فشار اکسایشی هیپوکامپ می‌باشد [۲۴، ۲۳]. رحمانی و همکاران (۱۳۹۷) در مطالعه خود به مقایسه اثر ۸ هفته تمرین تناوبی شدید و تمرین مقاومتی شدید غیرخطی در موش‌های صحرایی پرداختند که تمرین تناوبی با ۷۵-۸۰ متر بر دقیقه، در هفته آخر به استراحت ۳ دقیقه‌ای رسید؛ اجرای تمرین مقاومتی غیرخطی که در آن حمل وزنه به مقدار ۲۵۰ درصد از وزن بدن بود، هر دو نوع تمرین

مبنی بر نقصان ویتامین D در زنان یائسه و بهویژه کمبود این ویتامین در اقلیم ایران و با اشاره به تأثیرات آنتی اکسیدانی این ویتامین به همراه کیتوزان در بهبود قدرت و عملکرد عضلانی به نظر می‌رسد پزشکان با تجویز این ترکیب تلفیقی بتوانند روند یائسگی را در زنان بهتر کنترل کنند. بدنهای رسد این مطالعه باید در جمعیت انسانی و با انواع دیگر پروتکل‌های تمرینی بررسی شود. از محدودیت‌های این مطالعه این بود که معمولاً مطالعات انجام‌شده، سطوح سرمی آنزیم را بررسی کرده‌اند و مطالعات کمتری به سطوح آنتی اکسیدانی بافت پرداخته‌اند؛ به همین جهت مطالعات محدودی در اختیار بود. عدم دسترسی به آزمودنی‌های انسانی نیز از محدودیت‌های این مطالعه بود.

### نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، حاکی از آن است که تمرین مقاومتی از افزایش استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کند و زمانی که تمرین مقاومتی با مصرف همزنان ویتامین D با پوشش کیتوزان همراه شود، به خاطر اثر آگونیستی احتمالی تأثیر پیشتری در کاهش عوارض یائسگی و استرس اکسیداتیو زنان یائسه خواهد داشت. با این حال برای توسعه نتایج دقیق‌تر، مطالعات گستره‌تری در این زمینه نیاز است.

### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همه اساتید گرانقدرتی که در انجام این پژوهش، یاری رساندند، سپاسگزاری می‌شود.

### References:

- [1] Al-Rejaie ER, Salim SA. Thymoquinone treatment alleviate ovariectomy-induced hepatic oxidative damage in rats. *J Appl Pharm Sci* 2013; 3(6): 116-26.
- [2] Juan R, Muñoz CA, Jordi M, Carmen H, Maria C Muñoz. Inmaculada Bujalance, Pedro Montilla, Issac Túnez, Ovariectomy exacerbates oxidative stress and cardiopathyinduced by adriamycin. *Gynecol Endocrinol J* 2006; 22(2): 74-9.
- [3] Brimblecombe, R. Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. *Hull York Med Sch* 2013; 42(4): 205-13.
- [4] Horst R, Goff JP, Reinhardt TE. Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1, 25-dihydroxyvitamin D receptor. *Endocrinol J* 1990; 126(2): 1053-57.
- [5] Adorini D, Giuseppe P, Nadia G, Andrea R, Susana AM, Kenn CD, et al. Dendritic cells as key targets for immunomodulation by Vitamin D receptor ligands. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89: 437-41.
- [6] Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40(4): 405-12.
- [7] Andersson S. Nuclear receptor functions in the central nervous system: clues from Knockout mice. *Karolinska Inst* 2006; 23(1): 535-42.
- [8] Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* 2006; 116(8): 2062-72.
- [9] Bautista BA, Hernández LA, Velázquez MG, Mónica H, López E, Ait BA, Elsa BM. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protect* 2006; 25(2): 108-18.
- [10] López-CA, Gómez MC, Guillén M, Pérez-MP, Montero A. A chitosan–gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydro* 2005; 19(2): 303-11.
- [11] Elkayam A, Edna PG, Ehud G, Zehava SH, Yehonatan SH. Effects of allicin on cardiovascular risk factors in spontaneously hypertensive rats. *Isr Med Assoc J* 2013; 15(3): 170-3.
- [12] Stillman CM, Irene EC, Belinda B, Catherine MB, Kirk I, Erickson E. Effects of exercise on brain

- and cognition across age groups and health states. *Trends Neuros* 2020; 43(7): 533-43.
- [13] Purdue S, Brian W, Whitcom B, JoAnn EM, Susan EH, Lisa MT, Bernard AR, Elizabeth RB. Vitamin D status is not associated with risk of early menopause. *Nutri J* 2018; 148(9): 1445-52.
- [14] Braga VA, Gisele K, Mariana C, Luciana VR, Alessandra M. Aerobic exercise training prevents the onset of endothelial dysfunction via increased nitric oxide bioavailability and reduced reactive oxygen species in an experimental model of menopause. *PLoS One* 2015; 10(4): e0125388.
- [15] Radak Z, Katsuhiko S, Mitsuru H, Laszlo B, Istvan B, Erika K. Physical exercise, reactive oxygen species and neuroprotection. *Free Rad Biol Med* 2016; 98: 187-96.
- [16] Hamidi P, Fallah M, Haji Zadeh M. The effect of treadmill running with consumption of vitamin D3 on NGF levels in Parkinsonian rat's striatum. *Sport Physiol* 2016; 8(29): 91-102.
- [17] Chakraborti CK. Vitamin D as a promising anticancer agent. *Indian J Pharmacol* 2011; 43(2): 113-24.
- [18] Talebi-Garakani E, Safarzade A. Resistance training decreases serum inflammatory markers in diabetic rats. *Endocrin* 2013; 43(3): 564-70.
- [19] Shetta A, Kegere J, Mamdouh W. Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. *Int J Biol Mac* 2019; 126: 731-42.
- [20] Sanjadi M, Naieri H. Evaluation of Serum malondialdehyde concentrations and enzymatic activity of paraoxonase and arile esterase in women with a recurrent spontaneous abortion. *Feyz* 2019; 23(5): 535-42. [in Persian]
- [21] Abbasnezhad M, Jafari M, Asgari AR, Hajihoseini R, Hajigholamali M, Salehi M, Salimian M. The study regarding effect of paraoxon on oxidative stress index in kidney tissue of rats. *J Mazandaran Uni Med Sci* 2009; 19(2): 17-26. [in Persian]
- [22] Arundine M, Tymianski M. Molecular mechanisms of calcium-dependent neurodegeneration in excitotoxicity. *Cell Calcium* 2003; 34(4-5): 325-37.
- [23] Grossman DC, Susan JC, Douglas KO, Michael JB, Aaron BC, Karina WD. Vitamin D, calcium, or combined supplementation for the primary prevention of fractures in community-dwelling adults: US Preventive Services Task Force recommendation statement. *Jama* 2018; 319(15): 1592-9.
- [24] Wang S, Chen L, Zhang L, Huang C, Xiu Y, Wang F, et al. Effects of long-term exercise on spatial learning, memory ability, and cortical capillaries in aged rats. Medical science monitor. *Int J Clin Exp* 2015; 21: 933-45.
- [25] Rahmani A, Gorzi A, Ghanbari M. The effects of high intensity interval training and strenuous resistance training on hippocampal antioxidant capacity and serum levels of malondialdehyde and total antioxidant capacity in male rats. *Kurdestan U Med Sci* 2018; 2 (3): 27-35. [in Persian]
- [26] Sadat-Hoseini SK, Dabidi Roshan V. The effect of six weeks of voluntary wheel running exercise on hepatic superoxide dismutase levels and apoptosis-inducing factor after doxorubicin administration in aging model rats. *Feyz* 2018; 22(3): 267-73. [in Persian]
- [27] Camiletti-Moirón D, Aparicio VA, Nebot E, Medina G, Martínez R, Kapravelou G, et al. High-protein diet induces oxidative stress in rat brain: protective action of high-intensity exercise against lipid peroxidation. *Nutr Hosp* 2015; 31(2): 866-874.
- [28] da Cunha MJ, da Cunha AA, Ferreira AG, Machado FR, Schmitz F, Lima DD, et al. Physical exercise reverses glutamate uptake and oxidative stress effects of chronic homocysteine administration in the rat. *Int J Dev Neurosci* 2012; 30(2): 69-74.
- [29] Ahmadi F. The Effect of resistance training and whey protein supplement on antioxidant status in overweight young men. *JSB* 2012; 4(11): 103-21. [in Persian]
- [30] Barati Z, Yaghoubi A, Jalilvand MR. Effect of Continuous and Interval Training on Amyloid  $\beta$  42 (A $\beta$ 42) and Malondialdehyde (MDA) Levels in Hippocampus of Elderly Rats. *JSSU* 2021; 29(9): 4083-95. [in Persian]
- [31] Manna P, Jain S. Vitamin D (VD) prevents oxidative stress via regulating NOX4/Nrf2/Trx signaling cascade and upregulates SIRT1-mediated AMPK/IRS1/GLUT4 pathway and glucose uptake in high glucose treated 3T3L1 adipocytes. *FASEB J* 2015; 29: 253-74.
- [32] Kerksick CM, Michael DR, Bill C, Melyn MG, Lemuel WT, Colin DW, et al. Differential impact of calcium and vitamin D on body composition changes in post-menopausal women following a restricted energy diet and exercise program. *Nutrients* 2020; 12(3): 713-24.