Original Article

The effect of eight weeks of aerobic training with chlorella supplementation on brain antioxidant levels in diabetic male rats

Jahedi N[1], Pouzesh-Jadidi R[2*], Nasir-Zadeh MR[3]

1- Department of Physical Education, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, I. R. Iran.
2- Department of Physical Education, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Pasdaran Highway, Tabriz, I. R. Iran.
3- Department of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Pasdaran Highway, Tabriz, I. R. Iran.

Received: 2018/04/11 | Accepted: 2018/12/11

Abstract:

Background: The aim of this study was to investigate the effect of an eight-week aerobic training program and chlorella supplementation on brain antioxidants of diabetic male rats.
Materials and Methods: Fifty male rats were randomly divided into 5 groups (n=10): aerobic training (AT), chlorella, training+chlorella, diabetic control and healthy control groups. Training was performed on a treadmill for eight weeks (5 sessions per week). Chlorella groups consumed chlorella powder solution once a day for eight weeks, each time with a dose of 5% of body weight. The rats of all the groups were anesthetized and sacrificed 48 hours following the last training session and after extraction of brain tissue, the levels of catalase and superoxide dismutase enzymes were measured.
Results: The activity of both enzymes (CAT and SOD) in all diabetic rats was higher than that in the healthy control group and of all three types of intervention led to a decrease in the amount of activity of these enzymes induced by diabetes. Also, the cumulative effect of supplementation and exercise was better than each other alone ($P<0.05$).
Conclusions: Chlorella consumption and exercise in the brain of diabetic rats, contrary to expectation, were associated with an increase in the activity of superoxide dismutase and catalase enzymes, which appears to be due to the brain's efforts to relieve oxidative stress in the brain.

Keywords: Aerobic Training, Chlorella, Diabetes, Anti-Oxidants, Oxidative stress

*** Corresponding Author.**
Email: poozesh2016@gmail.com
Tel: 0098 914 108 4045
Fax: 0098 413 330 790

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2019; Vol. 23, No 1, Pages 27-35

Please cite this article as: Jahedi N, Pouzesh-Jadidi R, Nasir-Zadeh MR. The effect of eight weeks of aerobic training and chlorella supplementation on brain antioxidant levels in diabetic male rats. ***Feyz*** 2019; 23(1): 27-35.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2022-06-29]

تاثیر هشت هفته تمرین هوازی همراه با مصرف مکمل کلرلا بر میزان آنتی‌اکسیدان‌های مغز موش‌های صحرایی نر دیابتی

نگین جاهدی [۱]، رقیه پوزش جدیدی [۲*]، محمدرضا نصیرزاده [۳]

خلاصه:

سا بقه و هدف: هدف این مطالعه، بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی همراه با مصرف مکمل کلرلا بر میزان آنتی‌اکسیدان‌های مغز موش‌های صحرایی نر دیابتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نر به‌صورت تصادفی در گروه‌های دیابتی: تمرین هوازی، مکمل کلرلا، تمرین+ مکمل کلرلا، کنترل و گروه کنترل غیردیابتی جایگزین شدند. تمرین به‌مدت ۸ هفته (۵ جلسه در هفته) روی نوارگردان انجام شد. گروه‌های کلرلا روزانه به اندازه ۵ درصد وزن بدن، محلول پودر کلرلا تا پایان ۸ هفته مصرف کردند. تمام گروه‌ها ٤٨ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین جراحی شدند و پس از استخراج بافت مغز، میزان آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز آن اندازه‌گیری شد.

نتایج: فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز مغزی در همه گروه‌های دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از موش‌های سالم غیر-دیابتی بود و هر سه نوع مداخله باعث کمترشدن مقدار افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور ناشی از دیابت شده بود. همچنین، اثر تجمعی مکمل و تمرین بهتر از هرکدام به‌تنهایی بود ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: مصرف کلرلا و تمرین بدنی در مغز موش‌های دیابتی برخلاف انتظار با افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز همراه بود که به‌نظر می‌رسد به‌علت تلاش مغز برای رفع شرایط استرس اکسایشی در مغز بروز می‌کند.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، کلرلا، دیابت، آنتی اکسیدان، استرس اکسیداتیو

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۱، فروردین- اردیبهشت ۹۸، صفحات ۳۵-۲۷

مقدمه

دیابت، یک اختلال متابولیکی است که به‌وسیله هیپر-گلیسمی که از نقص در ترشح انسولین، عملکرد آن یا هر دو ناشی می‌شود، شناسایی می‌شود. دیابت می‌تواند منجر به بیماری‌هایی از قبیل بیماری‌های عصبی مرکزی و محیطی شود [۱]. استرس اکسیداتیو که حاصل عدم توازن میان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive oxygen species; ROS) دفاع آنتی-اکسیدانی بدن می‌باشد، در بیماران دیابتی افزایش می‌یابد. علی‌رغم افزایش ریسک‌فاکتورها در مغز برای تولید زیاد ROS، مغز دارای سیستم دفاعی ناکافی در مقابل استرس اکسیداتیو است [۱]. از این‌رو، شناختن مسیرهای درمانی جدید برای درمان آسیب‌های سلولی جهت کاهش یا حذف ناتوانی‌های ناشی از اختلالات سیستم عصبی بسیار مفید خواهد بود.

باتوجه به این‌که آنتی‌آکسیدان‌ها می‌توانند باعث کاهش استرس اکسیداتیو شوند، بنابراین نقش مهمی را در پیشگیری از اختلالات شناختی و تخریب نورون‌ها بازی می‌کنند [۲]. مطالعات بالینی و تجربی نشان می‌دهند استرس اکسایشی در شروع و ادامه عوارض دیابت از جمله نوروپاتی نقش کنترلی دارد. باتوجه به این‌که بافت مغز دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی بسیار ضعیفی نسبت به بقیه بافت-های بدن است و همچنین به‌دلیل مصرف اکسیژن بالا و دارا بودن اسیدهای چرب غیراشباع فراوان، به‌شدت در معرض آسیب‌های اکسیداتیو قرار می‌گیرد [۳]. سازوکارهای گوناگونی جهت کاهش رادیکال‌های آزاد در مغز مورد مطالعه قرار گرفته است [٤،٥]. امروزه غذاهای گیاهی دریایی به‌دلیل دارا بودن اثرات سودمند آن-ها بر التهاب، مقاومت انسولینی، چاقی و استرس اکسیداتیو توجه زیادی را به‌خود جلب کرده است. کلرلا منبع غنی آنتی‌اکسیدان-هایی هم‌چون لوتئین، آلفا و بتاکاروتن، اسید آسکوربیک و توکو-فرول است که توانایی جاروب کردن رادیکال‌های آزاد را دارند و به‌نظر می‌رسد استفاده از کلرلا بتواند در تنظیم عملکرد فیزیو-لوژیکی بدن در بیماری‌های بدخیم ناشی از استرس اکسیداتیو و دیابت اثرات مطلوبی داشته باشد [٦]. به‌دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی و داشتن ترکیبات آب‌دوست و چربی‌دوست، از کلرلا به‌عنوان یک مکمل سلامت استفاده می‌شود [۷]. Itakura و

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد تربیت بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه تربیت بدنی

[۲] استادیار، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه تربیت بدنی

[۳] استادیار، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه دامپزشکی

* **نشانی نویسنده مسئول:**

آذربایجان شرقی، تبریز، میرداماد، پشت مسجد نبی اکرم، برج جواهر- F6

تلفن: ۰۹۱۴۱۰۸۴۰۴۵ **دورنویس:** ۰۴۱۳۳۳۰۷۹۰

پست الکترونیک: poozesh2016@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۲۲ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۷/۹/۲۰

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2022-06-29]

همکاران نشان دادند که دوزهای ۵ و ۱۰ درصد کلرلا در موش‌ها، سبب کاهش مالون دی آلدئید پلاسما و کبد می‌شود [۸]. Ali-ahmat و همکاران نیز نشان دادند پراکسیداسیون لیپیدی (مالونیل دی آلدئید) به‌طور معنی‌داری پس از ۲ ماه استفاده از مکمل کلرلا کاهش می‌یابد [۹]. Lee و همکاران بیان نمودند استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد به‌دنبال مصرف کلرلا کاهش می‌یابد [۱۰]. Aizzat و همکاران هم نشان دادند کلرلا اثر هیپوگلیسیمیک ندارد، اما می‌تواند باعث کاهش آسیب DNA و پراکسیداسیون چربی در موش‌های دیابتی شود [۱۱]. Lee و همکاران نشان دادند به‌دنبال مصرف کلرلا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و ردوکتاز در موش-های دیابتی افزایش می‌یابد [۱۲]. به‌طور کلی می‌توان گفت کلرلا خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته و می‌تواند در پیشگیری از عوارض دیابت مفید واقع شود [۱۵-۱۰]. رویکردهای متعدد هم‌چون ورزش، رژیم غذایی و دارو درمانی جهت درمان بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت و کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱٦]. متخصصان عقیده دارند که رژیم غذایی به‌تنهایی در درمان دیابت و عوارض مغزی دیابت کافی نیست، بلکه انجام فعالیت‌های بدنی ورزشی نیز باید به برنامه روزانه این افراد اضافه شود. در این بین، مطالعات اخیر پیشنهاد می‌کند که ورزش منظم و مداوم دارای اثرات مفید بر مغز می‌باشد. پیشنهاد شده است که ورزش سبب افزایش رشد مویرگ‌های مغزی و اتصالات دندریتی شده و کارایی اعمال پردازشی سیستم عصبی مرکزی را افزایش می‌دهد [۱۷]. علاوه بر این، تحقیقات نشان داده که ورزش منظم آسیب ناشی از سکته مغزی را کاهش می‌دهد [۱۸]. بنابراین، هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی به همراه مکمل کلرلا بر آنتی‌اکسیدان‌های مغز موش‌های صحرایی نر دیابتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر به‌صورت تجربی و در قالب یک طرح ۵ گروهی با گروه کنترل انجام شد. جامعه آماری تحقیق حاضر را موش‌های صحرایی نر ویستار تشکیل دادند که در این مطالعه، تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نر ۱٤-۱۲ هفته‌ای ویستار از انستیتو پاستور کرج تهیه و پس از یک ماه نگهداری در شرایط استاندارد جدید با دمای ۲±۲۲ سانتی‌گراد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته در حیوان‌خانه دانشکده دام‌پزشکی دانشگاه آزاد واحد تبریز و آشنایی با تمرین روی نوارگردان وارد مطالعه شدند. در مراحل مختلف پژوهش ضمن رعایت مسائل اخلاقی، مطابق دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی مستخرج از دستورالعمل هلسینکی از هرگونه آزار جسمی و روش‌های غیرضروری کار با حیوانات اجتناب گردید. پس از دو هفته نگهداری آزمودنی‌ها در شرایط جدید، نمونه‌ها به‌مدت دو هفته تحت برنامه آشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند حیوانی قرار گرفتند. این نوارگردان دارای پنج کانال مجزا بود که همه آیتم‌های مربوط به آن از قبیل مقدار شیب (مثبت و منفی)، سرعت و زمان توسط برنامه هوشمند کنترل می‌شد. در این دوره مقدار شوک الکتریکی به‌میزان ۰/۱ میلی‌ولت ثابت بود. در طی دوره آشنایی، شیب نوارگردان صفر درصد، سرعت ۱۵-۱۰ متر بر دقیقه و مدت تمرین ۱۰-۵ دقیقه در روز بود. در پایان این دوره، موش‌ها پس از مطابقت وزنی در قالب ۵ گروه ۱۰تایی ۱) تمرین؛ ۲) مکمل کلرلا؛ ۳) تمرین+مکمل کلرلا؛ ٤) کنترل دیابتی؛ و ۵) کنترل غیردیابتی جایگزین شدند. القای دیابت با یک‌بار تزریق درون‌صفاقی محلول استروپتوزوسین (STZ) حل شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار و به-میزان ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن انجام شد. چهار روز پس از تزریق، غلظت گلوکز خون با استفاده از نمونه‌های خونی جمع‌آوری شده از دم حیوانات و روش آنزیمی گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شد. ملاک دیابتی بودن، غلظت خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. در آغاز و پایان ۸ هفته وزن‌کشی به‌عمل آمده و عصاره کلرلا به اندازه ۵ درصد وزن بدن روزانه ۲۰ الی ۳۰ دقیقه قبل از غذا در نوبت صبح به‌صورت محلول در آب گرم گاواژ تجویز شد. تمامی آزمودنی‌ها پس از گذراندن دوره آشناسازی با فعالیت روی نوارگردان، تنها گروه تمرین هوازی برای ۵ روز در هفته و به‌مدت ۸ هفته در برنامه تمرین هوازی روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند حیوانی شرکت کردند. هر جلسه تمرین هوازی شامل گرم کردن و سرد کردن بود. سرعت و مدت گرم کردن و سرد کردن در طول ۸ هفته (۲ دقیقه با سرعت ۵ متر در دقیقه) ثابت بود؛ اما سرعت و مدت تمرین در هفته اول (۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه)، هفته دوم (۲۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه)، هفته سوم (۲۰ دقیقه با سرعت ۱۵-۱٤ متر در دقیقه)، هفته چهارم (۳۰ دقیقه با سرعت ۱۵-۱٤ متر در دقیقه)، هفته پنجم (۳۰ دقیقه با سرعت ۱۸-۱۷ متر در دقیقه)، هفته ششم (٤۰ دقیقه با سرعت ۱۸-۱۷ متر در دقیقه)، هفته هفتم (٤۰ دقیقه با سرعت ۲۱-۲۰ متر در دقیقه)، هفته هشتم (۵۰ دقیقه با سرعت ۲۱-۲۰ متر در دقیقه) بود. تمرین نمونه‌ها از ساعت ۸:۳۰ صبح شروع می‌شد. همه حیوانات گروه‌های کنترل و تمرین استقامتی، ٤۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین با استفاده از شیوه مناسب بیهوش، کشته و جراحی شدند. برای جداسازی بافت مغز از روش زیر استفاده شد [۱۹]: به‌طور اختصار، بعد از جداسازی سر از بقیه بدن با گیوتین و

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2022-06-29]

انجام برش طولی در جمجمه، کل بافت نرم مغز روی یخ خشک قرار داده شد و قسمت جلویی مغز جدا گردید. بافت مغز در سالین بسیار سرد شستشو شده و هموژنات ۱۰ درصد در ۱/۱۵ درصد (v/w) کلرور پتاسیم تهیه گردید. هموژنات با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و محلول شناور جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پرکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در بافت مغز به‌روش Queiroz و همکاران [۲۰] اندازه‌گیری شد. هر واحد از فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به‌صورت غلظت آنزیم مورد نیاز برای ممانعت از تولید رنگ تا ۵۰ درصد در یک دقیقه تحت شرایط مطالعه، تعیین شد. فعالیت کاتالاز در بافت مغز به روش Abei اندازه‌گیری شد. فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از روش Alo و همکاران [۲۱] و بر اساس واکنش $GSSG + H_2O$: (گلوتاتیون احیا) $H_2O_2 + 2GSH$ (گلوتاتیون اکسید) در بافت مورد سنجش قرار گرفته و به‌صورت میکرومول گلوتاتیون اکسید/دقیقه/میلی‌گرم پروتئین بیان گردید. برای ارزیابی نتایج ابتدا برخی از ویژگی‌های موش‌های صحرایی و داده‌های تحقیق با استفاده از آمار توصیفی به‌صورت شکل، جدول و نمودار خلاصه و جمع‌بندی شد (جدول شماره ۱). سپس، فرضیه‌های تحقیق به کمک روش‌های استنباطی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مورد بررسی قرار گرفت. در این بخش، ابتدا توزیع بهنجار توسط آزمون K-S مورد ارزیابی قرار گرفت. در تحلیل داده‌ها ابتدا از تحلیل واریانس عاملی ۲×۲ استفاده شد (دارای عامل‌های وضعیت ورزش (تمرین در برابر کنترل و وضعیت مصرف مکمل (کلرلا در برابر دارونما)) استفاده شد و در صورت مشاهده تاثیر معنی‌دار یکی از عامل‌ها و یا تاثیر تعاملی آنها در تحلیل واریانس عاملی (۲×۲)، مقایسه بین‌گروهی داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس تک‌راهه انجام شد. به‌علاوه، درصورت نیاز به مقایسه‌های تعقیبی برای مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها، در صورت معنی‌دار نبودن آزمون لون، از آزمون تعقیبی توکی و درصورت معنی‌دار شدن آن از آزمون تعقیبی جیمز هاول استفاده شد. تمامی محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد.

نتایج

باتوجه به نمودار شماره ۱ می‌توان گفت بعد از دوره مداخله مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در همه گروه‌های دیابتی به‌طور معنی داری بیشتر از موش های سالم غیردیابتی (گروه شاهد سالم) بود و هر سه نوع مداخله باعث کمترشدن مقدار افزایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ناشی از دیابت شده بود ($P<۰/۰۵$). با اینکه تفاوت معنی‌داری بین مقدار تاثیر تمرین با مکمل وجود نداشت، ولی اثر تجمعی مصرف مکمل همراه با تمرین سبب شده بود تا اثرگذاری گروه توام در جلوگیری از افزایش مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بهتر از هر دو مداخله تمرین و مکمل باشد ($P<۰/۰۵$).

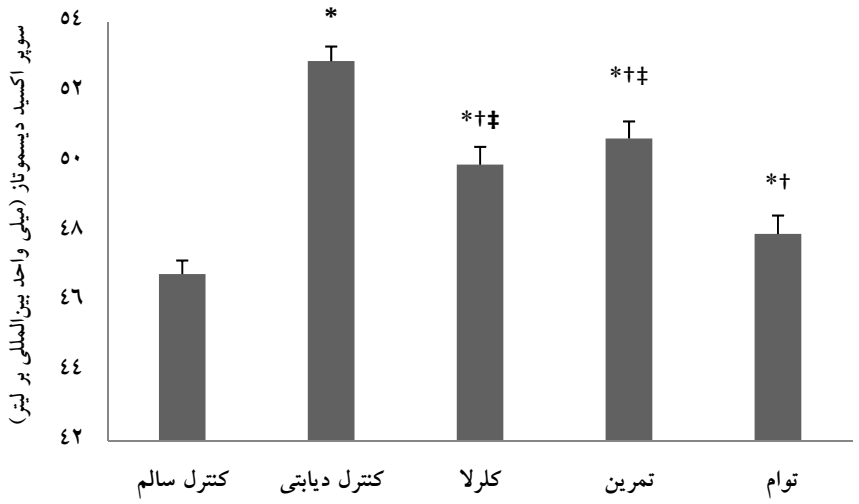
جدول شماره ۱- میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای مطالعه

شاخص	گروه	مقدار متوسط ($\bar{x}$ ±SD)
سوپراکسیددسمیوتاز بافت مغزی (واحد بین المللی بر میلی لیتر)	شاهد سالم	٤٦/٧٩±٠/٣٩
	کنترل دیابتی	٥٢/٩٠±٠/٤٢
	کلرلا	٤٩/٩٣±٠/٥١
	تمرین	٥٠/٦٨±٠/٤٩
	توام	٤٧/٩٤±٠/٥٣
کاتالاز بافت مغزی (واحد بین‌المللی بر میلی‌لیتر)	شاهد سالم	٣٦/٦٧±٠/٣٤
	کنترل دیابتی	٥٥/٦٠±٠/٥٤
	کلرلا	٤٨/٨٤±٠/٦٢
	تمرین	٤٩/٣٢±١/١٦
	توام	٤٥/٠٢±٠/١٨
قند خون اولیه (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	شاهد سالم	٩٢/٦٠±١١/٦٧
	کنترل دیابتی	٤٠٧/٢٠±٤٣/٢٦
	کلرلا	٤٠٦/٥٠±٤٨/٢٧
	تمرین	٣٩١/٦٦±٣٩/٤٤
	توام	٤٠٦/٤١±٤٣/٩٦
قند خون پس از مداخله (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	شاهد سالم	٩٣/٤٠±١٤/٥٣
	کنترل دیابتی	٤١٦/٨±٤٧/٩٣
	کلرلا	١٩٤/٤٠±٦٩/١٥
	تمرین	١٢٦/٣٣±٤٥/٢
	توام	١١١/٥٠±٢٧/١٥
وزن بدن اولیه (کیلوگرم)	شاهد سالم	٢٢٧/٤±٥/٧٧
	کنترل دیابتی	٢٢٣/٤±٦/٢٣
	کلرلا	٢٢٠/٢±٧/٨٧
	تمرین	٢٢٤/٤±٧/٥١
	توام	٢٢٠/١٦±٨/٤
وزن بدن پس از مداخله (کیلوگرم)	شاهد سالم	٢٢٦/٨±٩/٨٥
	کنترل دیابتی	١٤٠±٨/٨٩
	کلرلا	١٧٢/٤±١٨/٠٤
	تمرین	١٨٠±١٧/٥٩
	توام	٢٠٦/١٦±٩/٨٦

علاوه بر این در هر سه گروه تمرین، مکمل و توام کاهش معنی-داری در مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به گروه کنترل دیابتی مشاهده شد. هم‌چنین، نتایج نشان داد که بعد از دوره مداخله مقدار آنزیم کاتالاز در همه گروه‌های دیابتی به‌طور

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2022-06-29]

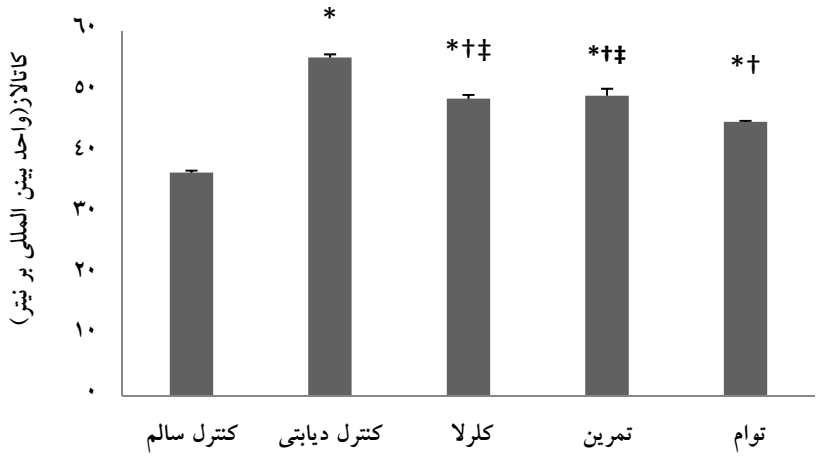
معنی‌داری بیشتر از موش‌های سالم غیردیابتی بود و هر سه نوع مداخله باعث افزایش کمتر آنزیم کاتالاز ناشی‌از دیابت شده بودند ($P<۰/۰۵$) (نمودار شماره ۲). با اینکه تفاوتی بین مقدار تاثیر تمرین با مکمل وجود نداشت، ولی اثر تجمعی مصرف مکمل همراه با تمرین سبب شده بود تا اثرگذاری گروه توام در جلوگیری از افزایش مقدار آنزیم کاتالاز بهتر از هر دو مداخله تمرین و مکمل باشد ($P<۰/۰۵$). هم‌چنین، کاهش معنی‌داری در مقدار آنزیم کاتالاز در هر سه گروه تمرین، مکمل و توام نسبت به گروه کنترل دیابتی مشاهده گردید.



نمودار شماره ۱- مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مغز موش‌های گروه‌های مورد بررسی پس از اعمال مداخله

*، †،‡: به‌ترتیب نمایانگر تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی و توام (P ۰/۰۵) بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، داده‌ها به‌صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شده‌اند (N=۱۰).

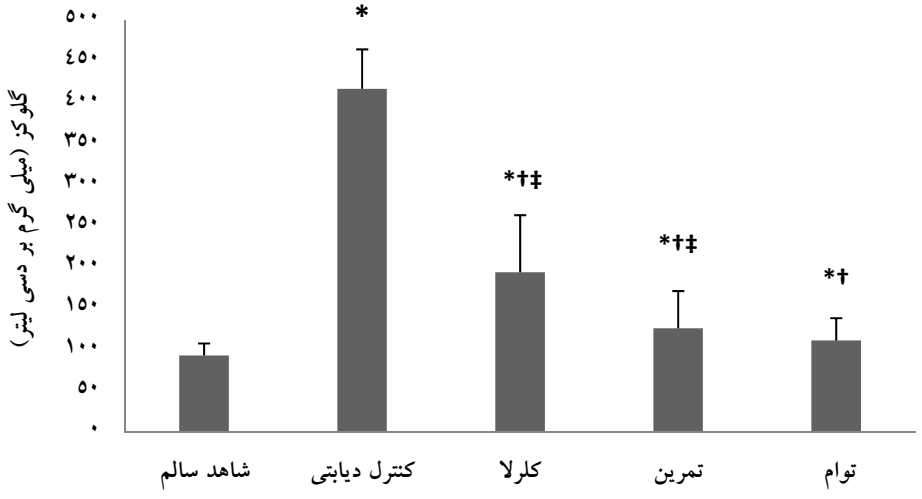
به‌علاوه، نتایج نشان داد با اینکه بعد از دوره مداخله سطوح گلوکز پلاسمای دو گروه تمرین و توام تفاوت معنی‌داری با موش‌های سالم غیردیابتی (گروه شاهد سالم) نداشتند ($P<۰/۰۵$)، بااین‌حال، کلرلا هم توانسته بود مشابه با گروه‌های توام و تمرین مقدار گلوکز خون را در موش‌های دیابتی کاهش دهد)نمودار شماره ۳). با اینکه گروه توام نسبت به تمرین در جلوگیری از افزایش قند خون ناشی از دیابت مزیت نداشت ($P>۰/۰۵$)، ولی مقدار گلوکز پلاسما در هر دو گروه توام و تمرین کمتر از گروه مکمل کلرلا گروه کنترل دیابتی بود ($P<۰/۰۵$).



نمودار شماره ۲- مقدار کاتالاز در مغز موش‌های گروه‌های مورد بررسی پس از اعمال مداخله

*، †،‡: به‌ترتیب نمایانگر تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی و توام (P ۰/۰۵) بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، داده‌ها به‌صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شده‌اند (N=۱۰).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2022-06-29]



نمودار شماره ۳- سطوح گلوکز پلاسمای موش‌های نر در گروه‌های مورد بررسی پس از اعمال مداخله

*، †،‡: به‌ترتیب نمایانگر تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی و توام (P ۰/۰۵) بر اساس نتایج آزمون تقیبی توکی، داده‌ها به‌صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شده‌اند (N=۱۰).

بحث

نتایج ما نشان داد که بعد از دوره مداخله مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در همه گروه‌های دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از موش‌های سالم غیردیابتی (گروه شاهد سالم) بود و هر سه نوع مداخله باعث کمترشدن مقدار افزایش آنزیم مذکور ناشی از دیابت شده بود. با اینکه تفاوتی بین مقدار تاثیر تمرین با مکمل وجود نداشت، ولی اثر تجمعی مصرف مکمل همراه با تمرین سبب شده بود تا اثرگذاری گروه توام در جلوگیری از افزایش مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بهتر از هر دو مداخله تمرین و مکمل باشد. در یک تحقیق دیگر نیز به‌طور مشابهی نشان داده شده است که القای دیابت سبب افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در مغز می‌شود، درحالی‌که فعالیت آن در کبد کاهش می‌یابد [۲۲]. از طرف دیگر گزارش شده است که افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد-اکسایشی در قلب و مغز در حین دیابت، ممکن است یک مکانیسم جبرانی در پاسخ به استرس اکسایشی ایجاد شده باشد؛ به‌طوری‌که ممکن است در برخی بافت‌ها بیان ژن‌های آنزیم‌های ضد اکسایشی افزایش چشم‌گیری یابد [۲۳]. بااین‌حال، ما مشاهده کردیم که در هر سه مداخله مورد بررسی شامل مصرف کلرلا، تمرین و اثر توام، مقدار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز کمتر از گروه کنترل دیابتی بود و به بیان دیگر، در اثر مواجهه با هر سه مداخله مورد بررسی فعالیت آنزیم مذکور رو به سوی بازگشت به شرایط کنترل طبیعی داشته است. بااین‌حال، به‌دلیل کمبود شواهد مشابه و عدم اندازه‌گیری مستقیم متغیرهای مربوط به این گمانه‌زنی‌ها این تفسیر ما هنوز قطعی نیست و نیازمند بررسی‌های بیشتر در آینده است.

لازم به ذکر است که امروزه اثرات ضد اکسایشی و فواید تمرین ورزشی منظم مساله‌ای کاملا روشن و بدیهی است [۲٤]. ورزش با افزایش نیاز به ATP متابولیسم هوازی و یا بی‌هوازی همراه است که به افزایش تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن منجر می‌شود. اثرات بازدارنده ورزش منظم حداقل تا اندازه‌ای به سازگاری‌های ناشی از استرس اکسایشی مربوط است. پاسخ‌های سازشی مربوط به چالش اکسایشی ورزش احتمالا فقط به سطح تولید گونه‌های فعال اکسیژن مربوط نیست، بلکه عمدتا به افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها و فعالیت آنزیم‌های مسئول ترمیم آسیب‌های اکسایشی مربوط است. به‌علاوه، به‌نظر می‌رسد اثرات مربوط به چالش اکسایشی ورزش حالت سیستمیک دارند و موضعی نیستند. عضله، مغز و کبد دارای عملکرد و ریتم متابولیکی خیلی متفاوتی در حین ورزش هستند، ولی پاسخ‌های سازشی آن‌ها به ورزش خیلی مشابه است که شامل افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی و مسئول ترمیم آسیب‌های اکسایشی، آسیب اکسایشی کمتر و افزایش تحمل به استرس اکسایشی در اثر تغییر در هموستاز اکسایش/ احیاء هستند. بنابراین، احتمال زیادی دارد که اثرات سودمند کاملا شناخته شده ورزش به‌دلیل قابلیت ورزش در تولید گونه‌های فعال اکسیژن بیشتر روی دهند. به‌بیان دیگر، استعداد بدن به استرس اکسایشی در وضعیت غیرفعال بیشتر از سبک زندگی فعال خواهد بود [۲۵]. در یک تحقیق دیگر نیز نتیجه‌گیری شده است با اینکه ورزش هوازی پراکسیداسیون لیپیدی مغز را تغییر نمی دهد، ولی در شرایط دیابتی سبب بهبود دفاع ضداکسایشی می‌شود [۲٦]. در بخش دیگر مطالعه ما اثر تجمعی مصرف مکمل همراه با تمرین سبب شده بود تا

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2022-06-29]

اثرگذاری گروه توام در جلوگیری از افزایش فعالیت هر دو آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز بهتر از هر دو مداخله تمرین و مکمل باشد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد همراه کردن مصرف مکمل کلرلا همراه با تمرین بدنی بتواند در تسکین وضعیت استرس اکسایشی ناشی از دیابت اثر بهتری نسبت به تمرین به تنهایی و یا مصرف مکمل به تنهایی داشته باشد. ولی این نکته نباید فراموش شود که در تحقیق ما افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز مغزی در اثر دیابت مشاهده شد که به احتمال زیاد در سایر بافت‌های بدن بر عکس این مساله اتفاق افتاده باشد. این امر در حالی است که افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به‌معنی دفاع بهتر آنتی اکسیدانی است و بنابراین در یک نگاه ساده‌انگارانه شاید به‌نظر برسد که دیابت دارای یک اثر سودمند بر وضعیت ضداکسایشی بدن است. همان‌طور که قبلا نیز بیان شد، این مساله را می‌توان به تلاش ارگانیزم و به‌ویژه مغز نسبت داد که از طریق مکانیسم‌هایی که فعلا ناشناخته هستند، با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در صدد جبران آسیب اکسایشی ناشی از دیابت برآمده است. بنابراین با اینکه این احتمال ما فقط در چند تحقیق نسبتا مشابه به‌طور غیرمستقیم تایید شده است، ولی بر همین مبنا نتیجه‌گیری شد که هم تمرین، هم مصرف مکمل کلرلا و هم اثر توام به احتمال زیاد سبب بهبود وضعیت ضد اکسایشی و یا حداقل کاهش استرس اکسایشی ناشی از دیابت شده‌اند و دیگر نیازی به افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و یا کاتالاز در مغز وجود نداشته و بدین‌ترتیب پس از مواجهه با هر سه شرایط مورد تحقیق، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رو به کاهش گذاشته است. به‌طور کلی هیپرگلیسمی هم به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و هم به افزایش جبرانی در خنثی کردن آنها می‌انجامد [۲۷]. کاهش فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی در برخی بافت‌ها در حین دیابت ممکن است مربوط به مهار یا غیرفعال شدن آنزیم‌ها در اثر افزایش بیش از حد تولید رادیکال‌های آزاد در حین دیابت مربوط باشد [۳۰-۲۹-۲۸]. درعوض، کاتالاز تجزیه آب اکسیژنه به آب و اکسیژن را کاتالیز می‌کند. بنابراین عدم توازن بین نسبت سوپراکسید دیسموتاز/کاتالاز بیان‌گر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسایشی است [۳۰]. Ceretta و همکاران نیز پیشنهاد کرده‌اند که دیابت در برهم‌زدن توازن بین کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در موش‌های دیابتی موثر است که احتمالا این مساله نیز در پاتوفیزیولوژی دیابت نقش دارد [۳۱]. بدین‌ترتیب، پیشنهاد می‌شود در تحقیقات مشابه آینده نسبت فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به کاتالاز در وضعیت دیابت به‌طور هم‌زمان در بافت‌های مختلف بررسی شود و همچنین وضعیت آنتی اکسیدانی تام پلاسما بررسی شود تا اطلاعات قطعی‌تری در این زمینه فراهم شود. *کلرلا ولگاریس* منبع غنی آنتی اکسیدان‌هایی هم‌چون لوتئین، آلفا و بتا کاروتن، اسید آسکوربیک و توکوفرول است که توانایی جاروب کردن رادیکال‌های آزاد را دارند و به‌نظر می‌رسد استفاده از آن بتواند در تنظیم عملکرد فیزیولوژیکی بدن در بیماری‌های بدخیم ناشی از استرس اکسیداتیو اثرات مطلوبی داشته باشد [۳۲]. اخیرا مکانیسم‌های اثرات ضد رادیکال‌های آزاد جوشانده آبی کلرلا به‌طور جزیی توسط Zhuang و همکاران [۳۳] بحث شده‌اند. درکل، تاثیر ضد اکسایشی ترکیبات حاصل از جوشانده آبی کلرلا در حال حاضر تقریبا مسلم است [۳٤]. در این تحقیق مشاهده شد که کلرلا هم می‌تواند مشابه با گروه‌های توام و تمرین مقدار گلوکز خون را در موش‌های دیابتی کاهش دهد. ولی اثر تمرین در این زمینه بیشتر از گروه مکمل کلرلا بود. بااین‌حال، نتایج پژوهش حاضر به‌دلیل تفاوت متابولیسم مغزی با سایر بافت‌های بدن نیاز به بررسی بیشتر در تحقیقات آینده دارد. مهم‌ترین نکات ضعف تحقیق ما تعداد کم آزمودنی‌ها، عدم بررسی متغیرهای مربوط به ظرفیت ضداکسایشی تام بدن و یا اندازه‌گیری آثار ناشی از استرس اکسایشی در بدن مانند سطح MDA، TBARs و پروتئین کربونیل شده و همچنین عدم مقایسه آثار ناشی از متغیرهای مورد بررسی در بافت‌های مختلف بدن است. به‌نظر می‌رسد که در تحقیقات آینده با رفع این محدودیت‌ها اطلاعات کامل‌تری در این زمینه فراهم شود.

نتیجه‌گیری

مصرف کلرلا و تمرین بدنی در مغز موش‌های دیابتی بر خلاف انتظار معمول با افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نسبت به گروه کنترل غیر دیابتی همراه است که به‌نظر می‌رسد به‌علت تلاش مغز برای رفع شرایط استرس اکسایشی در مغز بروز می‌کند. انتظار می‌رود که با ادامه ابتلا به دیابت در درازمدت، این مکانیسم‌ها نیز دیگر نتوانند جبران کننده کامل آثار سوء احتمالی ناشی از دیابت در مغز باشند. به‌علاوه، هر سه نوع مداخله در بهبود کنترل قند خون و افزایش جبرانی وزن بدن به‌دنبال کاهش ناشی از دیابت تا اندازه‌ای اثرگذار بودند که حاکی از فواید آن‌ها می‌باشد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایانامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز می‌باشد. نویسندگان از کلیه همکاران محترم مطالعه حاضر صمیمانه سپاس‌گزاری می‌کنند.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2022-06-29]

References:

[1] Hemmat Abadi M, Larijani B. A Review of the Role of Oxidative Stress and Antioxidant Therapy in Diabetes. ***Iran J Diabet Lipid*** 2009; 9(1): 1-6.

[2] Lee HS, Kim MK. Effect of Chlorella vulgaris on glucose metabolism in Wistar rats fed high fat diet. ***J Med Food*** 2009; 12(5): 1029-37 .

[3] Bgeginski R, Ribeiro PAB, Mottola MF, Ramos JGL. Effects of weekly supervised exercise or physical activity counseling on fasting blood glucose in women diagnosed with gestational diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. ***J Diabetes*** 2017; 9(11): 1023-32.

[4] Aksu I, Topcu A, Camsari UM, Acikgoz O. Effect of acute and chronic exercise on oxidant–antioxidant equilibrium in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. ***Neurosci letters*** 2009; 452(3): 281-5.

[5] Ceretta LB, Réus GZ, Abelaira HM, Ribeiro KF, Zappellini G, Felisbino FF, et al. Increased oxidative stress and imbalance in antioxidant enzymes in the brains of alloxan-induced diabetic rats. ***Exper Diabet Res*** 2012; 2012.

[6] Hidaka S, Okamoto Y, Arita M. A hot water extract of Chlorella pyrenoidosa reduces body weight and serum lipids in ovariectomized rats. ***Phytother Res*** 2004; 18(2): 164-8.

[7] Senthilkumar T, Sangeetha N, Ashokkumar N. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and renoprotective effects of Chlorella pyrenoidosa in diabetic rats exposed to cadmium. ***Toxicol Mech Method*** 2012; 22(8): 617-24.

[8] Itakura H, Kobayashi M, Nakamura S. Chlorella ingestion suppresses resistin gene expression in peripheral blood cells of borderline diabetics. ***Clinic Nutr Espen*** 2015 ; 10(3): e95-e101.

[9] Aliahmat NS, Noor MR, Yusof WJ, Makpol S, Ngah WZ, Yusof YA. Antioxidant enzyme activity and malondialdehyde levels can be modulated by Piper betle, tocotrienol rich fraction and Chlorella vulgaris in aging C57BL/6 mice. ***Clinics (Sao Paulo)*** 2012; 67(12): 1447-54.

[10] Nakagawa H, Kasahara S, Tsujimura A, Akira K. Changes of body composition during starvation in chlorella-extract fed ayu [Plecoglossus altivelis]. ***Bullet Japan Soc Sci Fish*** 1984.

[11] Aizzat O, Yap SW, Sopiah H, Madiha MM, Hazreen M, Shailah A, et al. Modulation of oxidative stress by Chlorella vulgaris in streptozotocin (STZ) induced diabetic Sprague-Dawley rats. ***Adv Med Sci*** 2010; 55(2): 281-2.

[12] Lee HS, Park HJ, Kim MK. Effect of Chlorella vulgaris on lipid metabolism in Wistar rats fed high fat diet. ***Nutr Res Practice*** 2008; 2(4): 204-10.

[13] Shibata S, Hayakawa K, Egashira Y, Sanada H. Hypocholesterolemic mechanism of Chlorella: Chlorella and its indigestible fraction enhance hepatic cholesterol catabolism through up-regulation of cholesterol 7α-hydroxylase in rats. ***Bioscience, Biotechl Biochem*** 2007; 71(4): 916-25.

[14] Ghani I, Mohammadi M, Jafari M, Khoshbatan A, Asgari A. Evaluation of oxidative stress indices in rat brain after exposure to paraoxon. ***Kowsar Med J*** 2008; 13(1): 1-8.

[15] Panahi Y, Ghamarchehreh ME, Beiraghdar F, Zare R, Jalalian H, Sahebkar A. Investigation of the effects of Chlorella vulgaris supplementation in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized clinical trial. ***Hepato-Gastro*** 2012; 59(119): 2099.

[16] Lee HS, Kim MK. Effect of Chlorella vulgaris on glucose metabolism in Wistar rats fed high fat diet. ***J Med Food*** 2009; 12(5): 1029-37.

[17] Chen HT, Chung YC, Chen YJ, Ho SY, Wu HJ. Effects of Different Types of Exercise on Body Composition, Muscle Strength, and IGF-1 in the Elderly with Sarcopenic Obesity. ***J Am Geriatr Soc*** 2017; 65(4): 827-32 .

[18] Cherng, JY, Shih MF. Preventing dyslipidemia by Chlorella pyrenoidosa in rats and hamsters after chronic high fat diet treatment. ***Life Sci*** 2005; 76(26): 3001-13.

[19] Noguchi N, Yanagita T, Rahman, SM, Ando Y. Chlorella Protein Hydrolysate Attenuates Glucose Metabolic Disorder and Fatty Liver in High-fat Diet-induced Obese. Mice ***J Oleo Sci*** 2016; 65(7): 613-20.

[20] Queiroz ML, da Rocha MC, Torello CO, de Souza Queiroz J, Bincoletto C, Morgano MA, Calgarotto AK. Chlorella vulgaris restores bone marrow cellularity and cytokine production in lead-exposed mice. ***Food Chem Toxicol*** 2011; 49(11): 2934-41 .

[21] Salo DC, Lin SW, Pacifici RE, Davies KJ. Superoxide dismutase is preferentially degraded by a proteolytic system from red blood cells following oxidative modification by hydrogen peroxide. ***Free Radic Biol Med*** 1988; 5(5-6): 335-9.

[22] Genet S, Kale RK, Baquer NZ. Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: effect of vanadate and fenugreek (Trigonella foenum graecum). ***Molecul Cellul Biochem*** 2002; 236(1-2): 7-12 .

[23] De Angelis K, Cestari I, Barp J, Dall'Ago P, Fernandes T, Homem de Bittencourt P, Irigoyen M. Oxidative stress in the latissimus dorsi muscle of diabetic rats. ***Braz J Med Biol Res*** 2000; 33(11): 1363-8.

[24] de Sousa CV, Sales MM, Rosa TS, Lewis JE, de Andrade RV, Simões HG. The antioxidant effect of exercise :a systematic review and meta-analysis. ***Sports Med*** 2017; 47(2): 277-93.

[25] Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise ***Free Rad Biol Med*** 2008; 44(2): 153-9.

[26] Shibata S, Natori Y, Nishihara T, Tomisaka K, Matsumoto K, Sansawa H, Nguyen VC. Antioxidant

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2022-06-29]

and anti-cataract effects of Chlorella on rats with streptozotocin-induced diabetes. ***J Nutr Sci Vitaminol*** 2003; 49(5): 334-9.
[27] Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. ***Diabet*** 1991; 40(4): 405-12.
[28] Kakkar R, Mantha SV, Kalra J, Prasad K. Time course study of oxidative stress in aorta and heart of diabetic rat. ***Clin Sci (Lond)*** 1996; 91(4): 441-8.
[29] Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. ***Eur J Biochem*** 1974; 47(3): 469-74.
[30] Michel T, Thome J, Martin D, Nara K, Zwerina S, Tatschner T, Koutsilieri E. Cu, Zn-and Mn-superoxide dismutase levels in brains of patients with schizophrenic psychosis. ***J Neural Trans*** 2004; 111(9): 1191-201.
[31] Ceretta LB, Réus GZ, Abelaira HM, Ribeiro KF, Zappellini G, Felisbino FF, et al. Increased oxidative stress and imbalance in antioxidant enzymes in the brains of alloxan-induced diabetic rats. ***Experiment Diabet Res*** 2012.
[32] Wuorinen EC, Page R, Wuorinen SH. Acute and chronic varied exercise intensity effects on total antioxidant capacity and protein carbonylation. ***FASEB Jm*** 2017; 31(1 Supplement): 826-39.
[33] Zhuang X, Zhang D, Qin W, Deng J, Shan H, Tao L, et al. A comparison on the preparation of hot water extracts from Chlorella pyrenoidosa (CPEs) and radical scavenging and macrophage activation effects of CPEs. ***Food Funct*** 2014; 5(12): 3252-60.
[34] Kitada K, Machmudah S, Sasaki M, Goto M, Nakashima Y, Kumamoto S, et al. Antioxidant and antibacterial activity of nutraceutical compounds from Chlorella vulgaris extracted in hydrothermal condition. ***Separation Sci Technol*** 2009; 44(5): 1228-39.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2022-06-29]