

Effect of endurance exercise with chamomile recutita leaves extract on liver superoxide dismutase activity and malondialdehyde levels in type 1 diabetic rats

Alouei Amir¹, Zehsaz Farzad², Puzesh Jadidi Roghayeh²

1. Department of Physical Education & Sport Sciences, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran

2. Department of Physical Education & Sport Sciences, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

(Received: 2016/06/22

Accept: 2016/12/13)

Abstract

Background: Oxidative stress is the condition associated with increased production of free radicals that overcomes antioxidant defenses due to declining antioxidant levels or producing free radicals involved in developing diabetes and its complications. In this study, the effects of endurance exercise training accompanying chamomile recutita leaves extract on liver superoxide dismutase activity and malondialdehyde levels in the liver of the rats with streptozotocin-induced diabetes were analyzed.

Materials and Methods: In this experimental study, fifty male Wistar rats weight: 195-200 g (were randomly divided into 5 groups: the sedentary control (SC), sedentary diabetic (SD), trained diabetic (TD), diabetic plus chamomile extract treatment (DCh) and trained diabetic plus chamomile extract treatment (TDCh) groups. Animals in the trained groups were conducted submaximal exercise on a treadmill 4 days a week for 8 weeks. The rats in the DR and TDR groups were given 200 mg/kgbw rosemary extract by gastric cannula at 8 AM daily for 8 weeks. Also, the group treated with chamomile extract received 200 mg/kgbw chamomile extract solution by gavage daily for 8 weeks. Then the data was analyzed with the computer software SPSS version 21.0 (SPSS Inc., Chicago, USA).

Results: At the end of the study, liver superoxide dismutase (SOD) activity in the SD and SC groups respectively were 2.63 ± 0.1 and 4.85 ± 0.9 ($p < 0.001$), whereas liver malondialdehyde (MDA) levels in SD and SC groups respectively were 8.45 ± 0.2 and 5.13 ± 0.3 ($p < 0.001$). Through performing endurance training along with chamomil leaves extract, SOD activity and MDA level in group TDCh changed to the normal levels of the healthy control group (respectively 3.84 ± 0.2 and 6.04 ± 0.2).

Conclusion: The increased lipid peroxidation in the liver and decreased levels of the selective antioxidant enzyme induced by combined intervention of chamomile extract and submaximal endurance exercise may attenuate oxidative stress.

Keywords: Oxidative stress, Endurance exercise, Lipid peroxidation, Type 1 diabetes

* Corresponding author: Farzad Zehsaz
Email: f-zehsaz@iaut.ac.ir

تأثیر ورزش استقامتی همراه با مصرف محلول عصاره برگ‌های گیاه بابونه بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و سطح مالون دی آلدئید کبدی موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱

امیر عالیوی^۱، فرزاد زهساز^۲، رقیه پوزش^۲

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران
۲- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۴/۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۹/۲۳

چکیده:

سابقه و هدف: فشار اکسایشی شرایطی است که در آن افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی موجود به دلیل کاهش تولید آنتی‌اکسیدان‌ها یا افزایش تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد غلبه کرده که در توسعه دیابت و عوارض آن دخالت دارد. در مطالعه حاضر، تأثیر تمرین استقامتی به همراه مصرف عصاره برگ‌های بابونه، بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و سطح مالون دی آلدئید کبدی موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بررسی می‌شود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه که از نوع تجربی است ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۹۵-۲۰۰ گرم به طور تصادفی در ۵ گروه جای گرفتند: گروه کنترل غیرفعال (SC)، دیابتی غیرفعال (SD)، دیابتی تمرین کرده (TD)، دیابتی درمان شده با عصاره بابونه (DCh) و دیابتی تمرین کرده درمان شده با عصاره بابونه (TDCh). گروه‌های تمرین کرده به مدت ۸ هفته و ۴ روز در هفته روی نوارگردان به تمرین زیر بیشینه وا داشته شدند. همچنین گروه‌های تحت درمان با عصاره بابونه، روزانه ۲۰۰ mg/kgbw محلول عصاره بابونه از طریق گاوآژ به مدت ۸ هفته دریافت کردند. نمونه‌های بافت کبد پس از ۸ هفته از حیوانات تهیه شد. برای مقایسه بین گروهی از تحلیل واریانس یک طرفه در سطح آماری (P ≤ ۰/۰۵)، به عنوان وجود اختلاف معنادار بین گروه‌ها استفاده شد. تحلیل آماری با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS version ۲۱ (SPSS Inc., Chicago, USA) انجام شد.

یافته‌ها: فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) کبد در پایان مطالعه، در گروه SD، ۲/۶۳ ± ۱/۱ و در گروه SC، ۴/۸۵ ± ۱/۹ بود (p < ۰/۰۰۱). در حالی که سطوح مالون دی آلدئید (ADM) کبدی در گروه DS، ۸/۴۵ ± ۱/۲ و در گروه SC، ۵/۱۳ ± ۱/۳ بود (p < ۰/۰۰۱). فعالیت آنزیم SOD و سطوح MDA گروه TDCh در اثر تمرین ورزشی استقامتی به همراه مصرف عصاره برگ بابونه به حد طبیعی گروه سالم رسید (به ترتیب ۳/۸۴ ± ۱/۲ و ۶/۰۴ ± ۱/۲).

نتیجه‌گیری: افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدی کبدی و کاهش غلظت پایه آنزیم آنتی‌اکسیدانی منتخب در اثر مداخله ترکیبی عصاره برگ‌های بابونه با اجرای فعالیت استقامتی زیر بیشینه ممکن است فشار اکسایشی را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: فشار اکسایشی، تمرین استقامتی، پراکسیداسیون لیپیدی، دیابت نوع ۱

مقدمه:

انسولین تزریقی نیاز دارند (۴). افزایش سطح گلوکز خون ناشی از بیماری دیابت نوع ۱ از مسیر افزایش فشار اکسایشی، باعث بروز مشکلات و بیماری‌های مرتبط با دیابت می‌شود. در این میان، رادیکال‌های آزاد، عامل برجسته در توسعه بیماری‌های وابسته به دیابت به شمار می‌آیند. افزایش مزمن و طولانی سطح گلوکز خون از طریق اتواکسیداسیون گلوکز و گلوکوزیلاسیون پروتئین‌ها باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد به ویژه گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)

بیماری دیابت به عنوان یک اختلال متابولیک، از نقصان در ترشح هورمونی یا عملکرد انسولین یا هر دو ناشی می‌شود (۱). بیماری دیابت در دو دسته: دیابت نوع ۱ و دیابت نوع ۲ طبقه‌بندی می‌شود (۲). ۵ تا ۱۰ درصد از بیماران دیابتی، دیابتی نوع ۱ هستند که شیوع این بیماری روند رو به افزایشی دارد (۳). این بیماری به دنبال اختلال خودایمنی برگشت‌ناپذیر سلول‌های β جزایر لانگرهانس لوزالمعده، ایجاد می‌شود. (۴). بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ قادر به کنترل سطوح فیزیولوژیک گلوکز خون نیستند (۲) و برای ادامه حیات به مصرف طولانی مدت

1. Reactive oxygen species

نویسنده مسئول: فرزاد زهساز*

پست الکترونیک: f-zehsaz@iaut.ac.ir

شرکت خوراک دام پارس تهیه شد و آب آشامیدنی به صورت آزاد در دسترس قرار گرفت. این پژوهش دارای مجوز اخلاقی شماره ۹۱۱۳۴ از دانشگاه علوم پزشکی تبریز است.

طرح آزمایشی:

برای سازگاری حیوانات به محیط، آن‌ها به مدت ۲ هفته در محیط آزمایشگاه و درون قفس نگهداری شدند. در این مدت حیوانات برای آشنایی، روی نوارگردان ویژه جوندگان با سرعت ۶-۸ متر در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در روز و ۵ روز راه رفتند. پس از این دوره، حیوانات به صورت تصادفی در یکی از ۵ گروه به طور مساوی به ترتیب زیر قرار گرفتند ($n=10$).

گروه شاهد سالم غیر فعال (3SC): به موش‌های صحرایی این گروه، یک مرحله ۱۰۰ mM سیترات سدیم تزریق شد (۲۲) و طی مطالعه با غذای جوندگان تغذیه شدند.

گروه دیابتی غیرفعال (SD4): موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین (نوع ۱) که با غذای جوندگان تغذیه شدند.

گروه دیابتی تمرین کرده (TD5): موش‌های صحرایی دیابتی شده، که برنامه تمرین‌های ورزشی را ظرف مدت ۸ هفته با دامنه شدت کار ۲۰-۱۰ متر در دقیقه و هر نوبت ورزش روزانه (۴ روز در هفته) با دامنه ۵۰-۱۰ دقیقه، روی نوارگردان (ساخت گروه صنعتی آرین: ایران) اجرا کردند (۲۳).

گروه دیابتی تحت درمان با عصاره بابونه (DCh6): موش‌های صحرایی دیابتی شده که روزانه ۲۰۰ mg/kgbw محلول عصاره بابونه از طریق گاوژ به مدت ۸ هفته دریافت کردند.

گروه دیابتی تمرین کرده تحت درمان با عصاره بابونه (TDCh7): موش‌های صحرایی دیابتی شده که برنامه تمرین ورزشی را در مدت مشابه انجام داده و روزانه ۲۰۰ mg/kgbw محلول عصاره بابونه از طریق گاوژ به مدت ۸ هفته دریافت کردند.

شیوه دیابتی کردن حیوانات:

موش‌های صحرایی نر در هر ۴ گروه (SD، TD، DCh و TDCh) به بیماری دیابت نوع ۱ مبتلا شدند. بدین ترتیب که ۱۲ ساعت پیش از تزریق استرپتوزوتوسین، حیوانات مورد آزمایش در وضعیت گرسنگی قرار گرفتند. برای دیابتی شدن نوع ۱ حیوان، یک وهله داروی استرپتوزوتوسین (۰/۱ M STZ; Sigma, St. Louis, MO, USA) حل شده در بافر ۰/۱ M سیترات سدیم ($pH=4/5$) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق، غلظت گلوکز خون ناشتا پس از ۱۲ ساعت گرسنگی شبانه به وسیله گلوکومتر (GM Taiwan, Bionime ۱۱۰) و خونگیری از دم موش‌ها اندازه‌گیری شد تا از دیابتی شدن آن‌ها اطمینان حاصل شود. حیواناتی که گلوکز خون آن‌ها بالاتر از ۱۴ mmol/l بود به عنوان حیوان دیابتی شده در نظر گرفته شدند (۲۴، ۲۵). به موش‌های صحرایی که در گروه SC قرار داشتند، همزمان با سایر گروه‌ها، یک مرحله سیترات سدیم تزریق شد تا استرس وارد شده بر حیوانات در همه گروه‌ها یکسان باشد. لازم به یادآوری است که به واسطه نیمه عمر بسیار کم داروی استرپتوزوتوسین، در هفته پنجم دوباره تزریق داخل صفاقی انجام شد.

برنامه تمرین استقامتی:

گروه‌های TD و TDCh برنامه تمرین ورزشی استقامتی را به مدت ۸ هفته روی نوارگردان الکتریکی ویژه جوندگان انجام دادند. پروتکل تمرینی برگرفته از برنامه تمرینی چاو و همکاران (۲۰۰۹) بود (۲۶) که به موش‌های صحرایی دیابتی اختصاص داشت. مقادیر سرعت و مدت این روش تمرینی در جدول ۱ آمده است. طی دویدن روی نوارگردان سعی بر این بود که از شوک الکتریکی برای تحریک

بافت‌ها می‌شود (۵). افزایش سطوح ROS در دیابت می‌تواند به دلیل افزایش تولید یا کاهش سرکوب رادیکال‌های آزاد به وسیله آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) و کاتالاز (CAT) باشد (۶). از سوی دیگر، پراکسیداسیون لیپیدی که به طور معمول با اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید (MDA) تعیین می‌شود، فرآیندی مرتبط با رادیکال‌های آزاد است که به طور بالقوه به دلیل غیرقابل کنترل بودن، پیشروی خود به خودی آن و آسیب به غشاء‌ها، لیپیدها و سایر اجزای سلولی، مضر است (۷). کبد اندام اصلی تنظیم کننده هومئوستاز و رهاسازی گلوکز طبق نیاز متابولیکی است. در سال‌های اخیر آسیب کبدی از عوارض عمده دیابت محسوب می‌شود (۸). یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی نیز حاکی از آن است که عملکرد کبد همانند سایر اندام‌ها ممکن است تحت تأثیر این بیماری قرار گرفته و افزایش ROS، در آسیب بافتی ناشی از دیابت مشارکت کند (۹).

فعالیت ورزشی به عنوان ابزاری برای جلوگیری و کنترل بسیاری از بیماری‌ها به خصوص بیماری دیابت به طور گسترده‌ای، توصیه شده است (۱۱، ۱۰). ورزش متوسط ممکن است تولید رادیکال‌های آزاد را افزایش داده و بر دفاع آنتی‌اکسیدانی غلبه کند و به فشار اکسایشی منجر شود (۱۲). تحقیق‌ها نشان داده‌اند، تمرین ورزشی بخصوص ورزش با شدت متوسط، ممکن است از مسیر کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی، اثر محافظتی در موش‌های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین داشته باشد (۱۳).

از سوی دیگر، گیاهان دارویی در درمان دیابت بسیار رایج هستند (۱۴). از فواید عمده استفاده از گیاهان دارویی مؤثر بودن، آثار جانبی کمتر و قیمت پایین آن‌ها است. به طور تقریبی ۸۰۰ نوع گیاه دارویی برای کنترل دیابت شناخته شده است (۱۵) که از این دسته می‌توان بابونه را با نام علمی *Matricaria chamomilla.L* از تیره کاسنی یا گل ستاره ۲ نام برد (۱۶). بابونه دارای خواص زیادی از جمله کنترل گلوکز خون است (۱۷). این گیاه به دلیل داشتن ترکیب‌هایی مانند تروپونوئیدها و فلاونوئیدها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی است (۱۸). بنابراین مصرف این گیاه تأثیر مثبتی در درمان نسبی دیابت محسوب شود (۱۹). برخی از پژوهش‌ها نیز نشان داده‌اند مصرف بابونه به واسطه خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانی (۲۰) فعالیت شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی را در سلول‌های کبد موش‌های صحرایی که در معرض ترکیب‌های اکسایشی قرار داده شده بودند به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد (۲۱).

با ملاحظه ویژگی‌های حفاظتی تمرین استقامتی از یک سو و آثار آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌دیابتیکی عصاره گیاه بابونه در بیماران که از دیابت و عوارض ناشی از آن و مصرف داروهای شیمیایی به مدت طولانی رنج می‌برند، استفاده از تمرین استقامتی زیربیشینه و بابونه به عنوان یک ابزار سالم در درمان نسبی بیماری و بررسی آزمایشگاهی کاربرد توأم آن‌ها برای امکان کاهش عوارض جدی ناشی از فشار اکسایشی بیماری دیابت نوع ۱ را حائز اهمیت می‌سازد. بنابراین، در این مطالعه، پاسخ آنزیم آنتی‌اکسیدانی SOD و شاخص پراکسیداسیون لیپیدی MDA بافت کبدی به ۸ هفته ورزش استقامتی زیربیشینه به همراه مصرف عصاره برگ گیاه بابونه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین در دانشکده دامپزشکی تبریز در اسفند ماه سال ۹۳ ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها:

آماده‌سازی حیوانات:

این مطالعه از نوع تجربی است که به شیوه آزمایشگاهی و با دستکاری متغیرها انجام شد. در همه مراحل اجرای این پژوهش، قواعد مربوط به اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. بدین ترتیب، ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بر اساس وزن و در محدوده وزنی ۱۹۵ تا ۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور تهران تهیه شدند. حیوانات در اتاقی با دمای محیطی 24 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت 70 ± 5 درصد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و در قفس استیلی در ابعاد $1 \times 1 \times 1$ متر در دانشکده دامپزشکی تبریز قرار گرفتند. غذای مصرفی از

| | |
|-----------------------------|---|
| sedentary control | 3 |
| sedentary diabetes | 4 |
| training diabetes | 5 |
| diabetes chamomile | 6 |
| training diabetes chamomile | 7 |
| Chae | 8 |

Astraceae 2.

| هفته | سرعت (m/min) | مدت (min) | درصد شیب |
|-------|--------------|-----------|----------|
| اول | ۱۰ | ۱۰ | ۰ |
| دوم | ۱۰ | ۲۰ | ۰ |
| سوم | ۱۴-۱۵ | ۲۰ | ۰ |
| چهارم | ۱۴-۱۵ | ۳۰ | ۰ |
| پنجم | ۱۷-۱۸ | ۳۰ | ۰ |
| ششم | ۱۷-۱۸ | ۴۰ | ۰ |
| هفتم | ۲۰ | ۴۰ | ۰ |
| هشتم | ۲۰ | ۵۰ | ۰ |

موش‌ها به دویدن، استفاده نشود.

روش عصاره‌گیری برگ‌های بابونه:

گیاه بابونه از مرکز کشت و پرورش گیاهان دارویی، تحت نظر متخصص بیوتکنولوژی گیاهی خریداری شد. پس از جداسازی برگ‌های تازه این گیاه، ۱۰ گرم از آن‌ها توزین و در ظرف شیشه‌ای که حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب بود، ریخته شد تا به جوش آید و به مدت یک ساعت به هم زده شد. سپس، در طول شب در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. با عبور این مخلوط از کاغذ صافی، محلول شفاف به دست آمد. آنگاه این محلول در آون (SHF, 35 ST, Iran) با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. به طوری که پودر سبز رنگ حاصل از عصاره برگ‌های بابونه به دست آمد (۲۴). موش‌های گروه‌های DCh و TDCh، روزانه ساعت ۸ صبح به مدت ۸ هفته پی در پی، ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از پودر حل شده در آب مقطر به وسیله گاوژ دریافت کردند.

روش‌های اندازه‌گیری آزمایشگاهی شاخص‌ها:

در پایان مطالعه، به طور تقریبی ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین استقامتی و ۱۲ ساعت گرسنگی شبانه، همه موش‌ها با اتر بی‌هوش شده، توزین و برای خونگیری و جداسازی بافت کبد کشته شدند. نمونه خونی در لوله‌های هپارینی جمع‌آوری شده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. بدین ترتیب پلاسما به دقت برای اندازه‌گیری گلوکز و انسولین پایه پلاسمایی جدا شد. بافت کبد به سرعت جدا شده و پس از شست‌وشو با محلول سالیین سرد، در بافر تریس همگن شده و در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد برای

جدول ۲- وزن، غلظت گلوکز و انسولین پلاسمایی پس از ۸ هفته تمرین ورزشی استقامتی و مصرف ۱-۲۰۰ mg.kgbw محلول عصاره برگ بابونه در گروه‌های پنجگانه

| گروه | شاهد سالم غیرفعال (SC) | دیابتی غیرفعال (SD) | دیابتی تمرین کرده (TD) | دیابتی تحت درمان با عصاره برگ بابونه DCh | دیابتی تمرین کرده تحت درمان با عصاره بابونه (TDCh) |
|--|------------------------|-------------------------|----------------------------|--|--|
| وزن نهایی (g) | ۲۲۴ ± ۱/۲ | ۱۹۴ ± ۰/۹ ^a | ۲۰۹/۳ ± ۱/۴ ^{a,b} | ۲۰۸/۶ ± ۱/۳ ^{a,b} | ۲۲۰ ± ۱/۳ ^{b,c,d} |
| گلوکز پلاسمایی (mmol.l ⁻¹) | ۶/۱ ± ۰/۲ | ۱۹/۲ ± ۰/۳ ^a | ۹/۵ ± ۰/۳ ^{a,b} | ۸/۹ ± ۰/۳ ^{a,b} | ۶/۷ ± ۰/۳ ^{b,c,d} |
| انسولین پلاسمایی (mU.l ⁻¹) | ۱۰/۶ ± ۰/۳ | ۵/۴ ± ۰/۳ ^a | ۸/۳ ± ۲/۳ ^{a,b} | ۸/۷ ± ۰/۳ ^{a,b} | ۸/۷ ± ۰/۳ ^{a,b} |

- Jain .9
Woolliams .10
Levene .11
Shapiro-Wilks .12

انجام آزمایش آنزیمی نگهداری شد. گلوکز خون با استفاده از کیت تجاری (Glucoquant Glucose/HK, Boehringer Mannheim) بر پایه روش آنزیمی هگزوکیناز/G6P-DH اندازه‌گیری شد (۲۶). غلظت انسولین پلاسمایی نیز توسط

کیت تجاری الیزا (ELISA)(Mercodia Ultrasensitive Rat Insulin, Sweden) برآورد شد (۲۷).

اندازه‌گیری سطوح MDA کبد:

سنجش مالون دی آلدئید بافت به وسیله کیت TBARS شرکت cayman chemical ساخت کشور آمریکا با استفاده از روش جین ۹ و همکاران ۱۹۸۹ انجام شد (۲۸).

اندازه‌گیری فعالیت SOD کبد:

فعالیت SOD به وسیله کیت RANSOD (RANDOX Laboratories Ltd, U.K) با روش ولیام ۱۰ و همکاران (۱۹۸۳) انجام شد (۲۹).

تجزیه و تحلیل آماری:

تحلیل آماری با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS version 21.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) انجام شد. آزمون‌های پارامتریک مطابق نتایج آزمون‌های لون ۱۱ برای بررسی همسانی واریانس‌ها و شاپیرو-ویلکز ۱۲ برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها اعمال شد. یافته‌ها بر حسب میانگین \pm انحراف استاندارد بیان شد. برای مقایسه بین گروهی از تحلیل واریانس یک طرفه در سطح آماری ($P \leq 0.05$)، به عنوان وجود اختلاف معنادار بین گروه‌ها استفاده شد. هنگامی که تحلیل واریانس معنادار نشان می‌داد، آزمون تعقیبی توکی برای تعیین تفاوت بین میانگین‌ها به کار برده شد (سطح معنادار $p < 0/001$ و $p < 0/05$).

یافته‌ها:

جدول ۲- وزن، غلظت گلوکز و انسولین پلاسمایی پایه را نشان می‌دهد. مقایسه‌های تعقیبی با استفاده از آزمون توکی حاکی از آن است که میانگین وزن، گروه SD تفاوت معناداری با گروه SC دارد ($p < 0/001$). همچنین گروه TD تفاوت معناداری با گروه SD دارد ($p < 0/001$). نتایج نشان داد گروه DCh تفاوت معناداری با گروه SD ($p < 0/001$) و گروه TD تفاوت معناداری با گروه‌های TD، SD، DCh و TD دارد ($p < 0/001$). میانگین گلوکز گروه SD در مقایسه با گروه SC افزایش معناداری داشت ($p < 0/001$). همچنین گروه TD افزایش معناداری نسبت به گروه SD ($p < 0/001$)، و گروه DCh افزایش معناداری نسبت به گروه‌های TD، DCh و TD دارد ($p < 0/001$). میانگین غلظت انسولین پایه پلاسمایی گروه SD در مقایسه با گروه SC کاهش معناداری یافته است ($p < 0/001$). همچنین انسولین گروه‌های DCh، TD و TDCh افزایش معناداری در مقایسه با گروه SD نشان داد ($p < 0/001$). با این حال، غلظت انسولین، در گروه‌های DCh، TD و TDCh نسبت به گروه SC به طور معناداری کمتر بود ($p < 0/001$). با توجه به جدول ۲ تفاوت معناداری بین انسولین گروه‌های DCh، TD و TDCh، مشاهده نشد. در تمامی گروه‌ها $n=10$ مقادیر به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (SEM): $p < 0/001^a$ در مقابل $p < 0/001^b$ ، SC، در مقابل $p < 0/001^c$ ، SD، در مقابل TD و $p < 0/001^d$ در مقابل DCh جدول ۳- میانگین و انحراف استاندارد فعالیت آنزیم SOD، و همچنین غلظت

دیابتی تمرین کرده تحت درمان با عصاره بابونه (TDCh)

دیابتی تحت درمان با عصاره برگ بابونه DCh

دیابتی تمرین کرده (TD)

دیابتی غیرفعال (SD)

شاهد سالم غیرفعال (SC)

گروه متغیر

۲۲۰ ± ۱/۳^{b,c,d}

۲۰۸/۶ ± ۱/۳^{a,b}

۲۰۹/۳ ± ۱/۴^{a,b}

۱۹۴ ± ۰/۹^a

۲۲۴ ± ۱/۲

وزن نهایی (g)

۶/۷ ± ۰/۳^{b,c,d}

۸/۹ ± ۰/۳^{a,b}

۹/۵ ± ۰/۳^{a,b}

۱۹/۲ ± ۰/۳^a

۶/۱ ± ۰/۲

گلوکز پلاسمایی (mmol.l⁻¹)

۸/۷ ± ۰/۳^{a,b}

۸/۷ ± ۰/۳^{a,b}

۸/۳ ± ۲/۳^{a,b}

۵/۴ ± ۰/۳^a

۱۰/۶ ± ۰/۳

انسولین پلاسمایی (mU.l⁻¹)

عمل کرده و برخی از ترکیب‌های مهم سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی درون‌زا مانند SOD و GPx را برای غلبه بر ROS، فعال می‌سازند، به عبارت دیگر ورزش متوسط غیر وامانده‌ساز به عنوان بهترین آنتی‌اکسیدان در برابر فشار اکسایشی عمل کرده و پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می‌دهد (۳۳). جوسکان ۱۴ و همکاران نشان دادند که تمرین ورزشی منظم با شدت متوسط، با کاستن از فشار اکسایشی و حفظ یکپارچگی سلول‌های β پانکراس اثر درمانی یا محافظتی روی دیابت دارد (۱۴). نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان می‌دهد مصرف روزانه محلول عصاره آبی برگ‌های بابونه (۲۰۰ mg/kgbw) به مدت ۸ هفته باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاهش سطح مالون دی‌آلدئید کبدی موش‌های صحرایی ویستار نر دیابتی شده نوع ۱ با استرپتوزوتوسین نسبت به گروه شاهد دیابتی به طور معناداری می‌شود که نشانگر تاثیر مثبت عصاره برگ‌های بابونه بر کاهش فشار اکسایشی است. این نتایج با نتایج الموسوی ۱۵ و همکاران (۲۰۱۴) همسو است (۱۷). کاهش فشار اکسایشی می‌تواند به دلیل وجود دو ترکیب روتین ۱۶ و پاتولیتیک ۱۷ در این گیاه باشد که خواص خنثی‌کنندگی قوی رادیکال‌های آزاد را

MDA را در بافت کبد موش‌های نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده از آزمون توکی نشان داد که سطوح MDA در گروه SD در مقایسه با گروه SC به طور معناداری بالاتر است ($p < 0/001$). همچنین غلظت MDA در گروه‌های TD، DCh و TDCh نسبت به گروه SD کمتر است که این تفاوت معنادار است ($p < 0/05$). این در حالی است که مقادیر MDA در گروه TDCh تفاوت معناداری با گروه SC ندارد. همچنین، فعالیت آنزیم SOD، یافت کبد در موش‌های دیابتی (SD) در مقایسه با گروه SC به طور معناداری پایین‌تر است ($p < 0/001$). با این حال، فعالیت این آنزیم در گروه‌های TD، DCh و TDCh نسبت به گروه SD بیشتر است که از لحاظ آماری معنادار است ($p < 0/05$). بالا بودن فعالیت آنزیم SOD در گروه TDCh در مقایسه با گروه‌های TD و DCh چشمگیرتر است ($p < 0/05$)، همچنین SOD اندازه‌گیری شده به طور معناداری جدول ۳- میانگین و انحراف استاندارد فعالیت آنزیم SOD، غلظت MDA پس از ۸ هفته تمرین ورزشی استقامتی و مصرف ۲۰۰ mg.kgbw محلول عصاره برگ بابونه در گروه‌های پنجگانه

| گروه متغیر | شاهد سالم غیر فعال (SC) | دیابتی غیر فعال (SD) | دیابتی تمرین کرده (TD) | دیابتی تحت درمان با عصاره برگ بابونه DCh | دیابتی تمرین کرده تحت درمان با عصاره بابونه (TDCh) |
|-------------------------|-------------------------|----------------------|------------------------|--|--|
| MDA (nmol/g protein) | ۵/۱±۰/۳ | ۸/۴±۰/۲ ^a | ۷/۲±۰/۳ ^{ab} | ۷/۲±۰/۳ ^{ab} | ۶±۰/۲ ^{bcd} |
| SOD (U/mg Protein) | ۴/۹±۰/۹ | ۲/۶±۰/۱ ^a | ۳/۲±۰/۱ ^{ab} | ۳/۲±۰/۱ ^{ab} | ۳/۸±۰/۲ ^{abcd} |

دارا هستند. همچنین این دو ترکیب مهارکننده قوی لیپواکسیژناز هستند که از مسیرهای تولید رادیکال آزاد است (۳۴). از طرف دیگر ممکن است به دنبال عمل حفاظت‌کننده عصاره بابونه در شروع مرحله اکسیداسیون اسیدهای چرب، از تولید MDA جلوگیری شده و آزاد شدن آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز (LDH) و اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) ۱۹ باعث مهار پراکسیداسیون لیپیدی شوند (۳۵). داده‌های به دست آمده در این پژوهش حاکی از آن است که ترکیب عصاره برگ‌های بابونه و تمرین استقامتی تاثیر چشمگیرتری بر افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و کاهش مالون دی‌آلدئید از اعمال دو مداخله به تنهایی نسبت به گروه شاهد دیابتی را داشت. در این رابطه ناظم ۲۰ و همکاران (۲۰۱۵) طی پژوهشی با عنوان آثار مفید ترکیب ۸ هفته تمرین استقامتی همراه با مصرف عصاره رزماری روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی خون موش‌های دیابتی شده نوع ۱ با استرپتوزوتوسین به این نتیجه رسیدند که ترکیب تمرین هوازی و مکمل آنتی‌اکسیدانی (عصاره رزماری) در مقایسه با اعمال هر کدام از مداخله‌گرها به تنهایی، باعث کاهش بیشتر در فشار اکسایشی می‌شود (۲۳). در مطالعه‌ای دیگر پیری و همکاران (۱۳۹۱) اثر عصاره آبی زعفران و ۲ هفته تمرین هوازی بر غلظت آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی کبدی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بررسی کردند و نتیجه گرفتند که ترکیب عصاره زعفران و ۲ هفته فعالیت هوازی روش مناسبی برای تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی کبدی در موش‌های دیابتی است (۳۶). برخی از محققان پیشنهاد دادند مصرف

نسبت گروه کنترل سالم (SC) کمتر بود ($p < 0/05$). در تمامی گروه‌ها $n = 10$; مقادیر به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (SEM); $p < 0/001$ در مقابل SC، $p < 0/05$ در مقابل SD، $p < 0/05$ در مقابل TD و $p < 0/05$ در مقابل DCh

بحث و نتیجه‌گیری:

نتایج تحقیق حاضر افزایش معناداری در میانگین غلظت مالون دی‌آلدئید کبد در گروه دیابتی نسبت به گروه سالم نشان داد. افزایش تولید مالون دی‌آلدئید در گروه دیابتی تأکیدی بر افزایش روند پراکسیداسیون لیپیدی در حیوان است. بیماران مبتلا به دیابت در مدل‌های انسانی و حیوانی، سطح فشار اکسایشی بالایی را به دنبال هیپرگلیسمی مزمن تجربه می‌کنند، به طوری که آنتی‌اکسیدان‌های سیستم دفاعی تخلیه شده و در مقابل تولید رادیکال‌های آزاد جدید افزایش می‌یابد (۳۰). یکی از دلایل افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید در گروه دیابتی ممکن است کاهش تشکیل آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش فعالیت ROS باشد که باعث افزایش تولید مالون دی‌آلدئید می‌شود (۳۱). از طرفی، کاهش انسولین در دیابت نوع ۱ فعالیت آنزیم آسپیل چرب کوانزیم A اکسیداز را که آغاز کننده بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب است، افزایش می‌دهد که به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی منجر می‌شود. افزایش پراکسیداسیون لیپیدی عملکرد غشاء را با کاهش سیالیت و تغییر فعالیت آنزیم‌ها و گیرنده‌های متصل به غشاء تضعیف می‌کند (۱). محققان گزارش کرده‌اند که تمرین استقامتی مداوم، می‌تواند دفاع آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشد و پراکسیداسیون لیپیدی را در موش‌های سالم، کاهش دهد (۳۲). همسو با این نتایج، یافته‌های تحقیق حاضر نیز شاخص پراکسیداسیون لیپیدی پایین‌تر و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را در کبد موش‌های صحرایی دیابتی گروهی که ورزش استقامتی انجام داده بودند، نشان داد. بر پایه شواهد علمی، رادیکال‌های آزاد تولید شده طی فعالیت جسمانی به عنوان یک هورمیسین ۱۳

14. Coskun
15. Al-Musa
16. Rutin
17. Patulithic
18. Lactate dehydrogenase
19. Aspartate aminotransferase
20. Nazem

13. Hormesis

که ترکیب تمرین هوازی و مکمل آنتی‌اکسیدانی با افزایش آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و کاهش مالون دی‌آلدئید ممکن است باعث کاهش فشار اکسایشی در کبد حیوانات دیابتی شده با استرپتوزوتوسین شود. با این حال در این تحقیق باید جانب احتیاط را رعایت کرد چون آنزیم‌های متعددی در سرکوب فشار اکسایشی دخالت دارند که SOD یکی از آنها است. از این رو پیشنهاد می‌شود در مطالعه‌های آینده به بررسی ترکیب تمرین استقامتی و عصاره بابونه بر سطح سایر آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی کبدی موش‌های دیابتی شده نوع ۱ پرداخته شود. البته این بررسی با تأکید بر نمونه انسانی و کنترل برنامه غذایی روزانه حائز اهمیت است. همچنین سطوح کلی فشار اکسایشی، بستگی به شاخص‌های مختلف بررسی شده فشار اکسایشی دارد. با این حال، در تحقیق حاضر، از میان شاخص‌های مختلف، پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان شاخص منتخب ROS استفاده شد.

تشکر و قدردانی:

این مقاله استخراج شده از پایان‌نامه کارشناسی ارشد آقای امیر عالی‌وی فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه است که بدینوسیله از تمامی استادان و کارکنان واحد میانه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع:

- Moussa SA. Oxidative stress in diabetes mellitus. *Romanian Journal of Biophysics*. 2008; 18(3): 225-36.
- Morhan SD, Chong ZZ, Maiese K. Oxidative stress and diabetes. *Wayne State University School of Medicine*. 2008; P: 153.
- Maiese K, Chong ZZ, Shang YC. Mechanistic insights into diabetes mellitus and oxidative stress. *Curr Med Chem*. 2007; 14(16): 1729-38.
- Mehra NK, Kumar N, Kaur G, Kanga U, Tandon N. Biomarkers of susceptibility to type 1 diabetes with special reference to the Indian population. *Indian J Med Res*. 2007; 125(3): 321-44.
- Hsu WT, Tsai LY, Lin SK, Hsiao JK, Chen BH. Effects of diabetes duration and glycemic control on free radicals in children with type 1 diabetes mellitus. *Ann Clin Lab Sci*. 2006; 36(2): 174-8.
- Robertson RP. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes. *J Biol Chem*. 2004; 279(41): 42351-4.
- Mahboob M, Rahman MF, Groover P. Serum lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in male and female diabetic patients. *Singapore Med J*. 2005; 46(7): 322-4.
- Francés DE, Ingaramo PI, Ronco MT, Carnovale CE. Diabetes, an inflammatory process: Oxidative Stress and TNF-alpha involved in hepatic complication. *Biomedical Science and Engineering*. 2013; 6, 645-653.
- Evelson P, Susemihl C, Villarreal I, Llesuy S, Rodríguez R, Peredo H, et al. Hepatic morphological changes and oxidative stress in chronic streptozotocin-diabetic rats. *Ann Hepatol*. 2005; 4: 115-20.
- American Diabetes Association: clinical practice recommendations. *Diabetes Care* 1998; 21: S1-95.
- Weinger K, Groot M, William T. Cefalu Psychosocial Research and Care in Diabetes: Altering Lives by Understanding Attitudes. *Diabetes Care*. 2016 Dec; 39 (12): 2122-2125.
- Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr*. 2000; 72(2): 653S-69S.
- Coskun O, Ocakci A, Bayraktaroglu T, Kanter M. Exercise training prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Tohoku J Exp Med*. 2004; 203(3): 145-54.
- Pari L, Uma MJ. Hypoglycemic effect of *Musa sapientum* L. in alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 1999; 68(1&3): 321-5.
- Chandra A, Mahdi AA, Ahmad S, Singh RK. Indian herbs result in hypoglycemic responses in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr Res*. 2007;

آنتی‌اکسیدان‌های رژیم غذایی به همراه ورزش استقامتی متوسط ممکن است سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی را با کاهش گونه‌های اکسیژن فعال در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، تقویت کند (۳۷). با این حال، ریستو ۲۱ و همکاران (۲۰۰۹) نتایجی بر خلاف یافته‌های به دست آمده از این تحقیق و پژوهش ما را گزارش کردند. این محققان نشان دادند که واسطه‌های ملکولی دفاعی در برابر ROS و GPx که با ۴ هفته فعالیت ورزشی استقامتی (۸۵ دقیقه / ۵ روز در هفته) افزایش می‌یابند، در اثر مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی بلوکه می‌شوند. آن‌ها پیشنهاد می‌دهند که مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی همزمان با برنامه تمرینی مذکور، ممکن است آثار مثبت تمرین ورزشی استقامتی را با کاهش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی در بیماران دیابتی، محدود کند (۳۸). این اختلاف در نتایج می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع و مقدار مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی مصرفی و برنامه تمرین ورزشی اعمال شده باشد.

با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر و سایر پژوهش‌های انجام شده در رابطه با ترکیب تمرین هوازی و مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی، می‌توان نتیجه گرفت

Rištow .21

27(3): 161-8.

16. Singh O, Khanam Z, Misra N, Srivastava MK. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L). An overview. *Pharmacogn Rev*. 2011; 5(9): 82-95.

17. Albaroudi D. Hepatoprotective Effect of Chamomile Capitula Extract against 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Faculty of Home Economics King Abdulaziz University Jeddah-Saudi Arabia Rajab*. 2013.

18. Sadighara P, Barin A, Jahed Gh, Farjadmand F. Assessment of Antioxidant Capacity and Anti-Inflammatory of Alcoholic Extraction of Chamomile, Morus, Marshmallow, Borage and Rosemary. *knowledge & Health*. 2013; 8(1):31-34. (Full Text in Persian)

19. Sakai I, Izumi SI, Murano T, Okuwaki S, Makino T, Suzuki T. Presence of aldose reductase inhibitors in tea leaves. *Jpn. J. Pharmacol*. 2001; 85: 322 - 326.

20. Cioanca O, Miron A, Aprotosoaie AC, Hancianu M, Trifan A, Stanescu U. Contributions to the comparative study of the antioxidant potential of some extracts obtained from chamomile flowers. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 2009; 113(4):1274-9.

21. Asghari S, Naderi GH, Bashardoost N, Etminan Z. The study of antioxidant potential of *chamaemelum nobile* extract on liver cell of rats. *Journal of Herbal Drugs*. 2011; 1: 69-76.

22. Cho SY, Park JY, Park EM, Choi MS, Lee MK, Jeon SM, et al. Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract *Clinica Chimica Acta*. 2002; 317: 109-11.

23. Nazem F, Farhangi N, Neshat-Gharamaleki M. Beneficial Effects of Endurance Exercise with *Rosmarinus officinalis* Labiatae Leaves Extract on Blood Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Can J Diabetes*. 2015; 39(3): 229-234.

24. Emam MA. Comparative evaluation of antidiabetic activity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Chamomile recutita* in streptozotocin induced diabetic rats. *AgrBiol J N Am* 2012; 3(6): 247-52.

25. Waer HF, Helmy SA. Cytological and histochemical studies in rat liver and pancreas during progression of Streptozotocin induced diabetes and possible protection of certain natural antioxidants. *J Nutr Food Sci* 2012; 2(9): 1-7.

26. Chae CH, Jung SL, An SH, Park BY, Wang SW, Cho IH, et al. Treadmill exercise improves cognitive function and facilitates nerve growth factor signaling by activating mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase1/2 in the streptozotocin-induced diabetic rat hippocampus. *Neuroscience* 2009; 164(4), 1665-1673.

27. Amessou M, Bortoli S, Liemans V, Collinet M, Desbuquois B, Brichard S, et al. Treatment of streptozotocin-induced diabetic rats with vanadate and phlorizin prevents the over-expression of the liver insulin receptor gene. *Eur J Endocrinol* 1999; 140(1): 79-86.
28. Ali MM, El Kader MA. The influence of naringin on the oxidative state of rats with streptozotocin-induced acute hyperglycaemia. *Z Naturforsch C* 2004 Sep-Oct; 59(9&10): 726-33
29. Jain SK., McVie R, Duett J, Herbst JJ. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycolylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes* 1989; 38(12): 1539-43.
30. Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep. *Res Vet Sci* 1983; 34(3): 253-6.
31. Hammes HP, Martin S, Federlin K, Geisen K, Brownlee M. Aminoguanidine treatment inhibit the development of experimental diabetic retinopathy. *Proceedings*. 1991; 88, 11555-11558.
32. Varashree BS, Gopalakrishna Bhat P. Correlation of lipid peroxidation with glycated haemoglobin levels in diabetes mellitus. *OJHAS* 2011;10:1e4.
33. Gul M, Laaksonen DE, Atalay M, Vider L, Hänninen O. Effects of endurance training on tissue glutathione homeostasis and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 2002; 12, 163–170.
34. Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Vina J. Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. *Ann N Y AcadSci* 2006; 1067: 425-35.
35. Papaioannou P, Lazari D, Karioti A, Souleles C, Heilmann J, Hadjipavlou-Litina D and et al. Phenolic compounds with antioxidant activity from *Anthemis tinctoria* L. (Asteraceae). *Zeitschrift fur Naturforschung C- Journal of Biosciences* 2007; 62 (5 - 6): 326 - 30.
36. Asgari S, Naderi G, Bashardust N, Etminan Z. The effect of essential oils and plant extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) on rat hepatocytes. *Quarterly medicinal plants* 2001; 1(1): 69-76. (Full Text in Persian)
37. Peeri M, Mosalman M, Azarbayjani M, Atashak S, Behrouzi Gh, Effect of aqueous extract of saffron and aerobic training on hepatic non enzymatic antioxidant levels in streptozotocin-diabetic rats. *Des Sciences*. 2012; 66(10):525-532.
38. Naziroğlu M, Butterworth PJ. Protective effects of moderate exercise with dietary vitamin C and E on blood antioxidative defense mechanism in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Can J Appl Physiol*. 2005; 30(2): 172-85.
39. Rišlow M, Zarse K, Oberbach A, Klötting N, Birringer M, Kiehnopf M, et al. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106(21): 8665-70.