



دانشگاه شهید بهشتی

## فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنه

بهار و تابستان ۹۹، دوره ۱۳، شماره ۱، صفحه های: ۸۹-۹۹

### اثر چهار هفته تمرین هوازی بر سطوح سولفید هیدروژن در هیپوکمپ موش های صحرائی نر نژاد ویستار

فرهاد عظیمی، معرفت سیاه کوهیان\*، فرناز سیفی، رقیه افرونده

گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

\*نویسنده مسئول: معرفت سیاه کوهیان، تلفن: ۰۹۱۴۴۵۱۱۴۳۵، رایانامه: m\_siahkohian@uma.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۶/۱۵      ویرایش مقاله: ۱۳۹۷/۰۱/۲۵      پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۲/۰۲

#### چکیده

**هدف:** سولفید هیدروژن نقش مهمی در عملکردهای فیزیولوژیایی بدن دارد. مطالعه حاضر به منظور تعیین اثر ۴ هفته تمرین هوازی بر سطوح H<sub>2</sub>S و mRNA آنزیم های CBS و SAM در هیپوکمپ موش های صحرائی نر نژاد ویستار انجام شد. **روش ها:** ۱۴ سرموش صحرائی نر نژاد ویستار (با سن ۸ هفتهگی با میانگین وزنی ۱۹۵±۲۰ گرم)، به طور تصادفی در دو گروه کنترل و تمرین هوازی قرار گرفتند. گروه تمرینی ۵ روز در هفته به مدت ۴ هفته (۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه) به تمرین پرداختند. برای بیان ژن آنزیم های CBS و SAM در هیپوکمپ از تکنیک Real time-PCR و برای اندازه گیری H<sub>2</sub>S از روش الیزا استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون واریانس MANOVA و برای تعیین اندازه اثر از آزمون مجذور اتا و مجذور امگا در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد ( $P < 0.05$ ).

**نتایج:** ۴ هفته تمرین هوازی ویژه، سطوح CBS، SAM و H<sub>2</sub>S هیپوکمپ موش های صحرائی تمرینی را در مقایسه با موش های صحرائی کنترل، به طور معناداری افزایش می دهد (به ترتیب،  $ES=68/15$ ،  $P=0/002$ ؛  $ES=84/85$ ؛  $P=0/001$ ،  $ES=77/32$ ؛  $P=0/001$ ).

**نتیجه گیری:** چنین به نظر می رسد که تمرین هوازی ویژه به واسطه تنظیم مثبت سولفید هیدروژن از طریق آنزیم های CBS و SAM، نقش مهمی در عملکردهای فیزیولوژیایی و پاتوفیزیولوژیایی ایفا می کند و روش درمانی غیردارویی سودمندی در بهبود بیماران زوال عقلی است.

**واژه های کلیدی:** تمرین هوازی، سولفید هیدروژن، CBS، SAM.

## مقدمه

مغز دارای غلظتی در محدوده ۵۰ تا ۱۶۰  $\mu\text{M}$  است [۵]. اگرچه احتمال دارد غلظت واقعی کمتر از مقادیر ذکر شده باشد [۱۰]. پس از تجزیه و تحلیل فرایندهای زیستی مختلف در مغز، اب و کیمورا [۵] مطرح کردند که سولفید هیدروژن درون‌زاد عامل تعدیل‌کننده عصبی<sup>۹</sup> عمل می‌کند.

در اندک تحقیقات انجام‌شده در بررسی تأثیر فعالیت بدنی بر سطوح درون‌زاد سولفید هیدروژن و اثر آگزوژنی (برون‌زادی) آن، در برخی مطالعات از انجام فعالیت‌های هوازی نظیر دویدن روی نوارگردان با شدت و مدت متفاوت در تنظیم مثبت سولفید هیدروژن حمایت شده است. جوناتز و همکاران [۱۱] در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که ۴ هفته تمرین هوازی موش‌های صحرائی به مدت ۵ روز، باعث افزایش تقریباً ۱۴  $\mu\text{g}/\text{kg}$  سطوح درون‌زاد  $\text{H}_2\text{S}$  هیپوتالاموس موش‌های صحرائی نسبت به گروه کنترل می‌شود که با افزایش بیان ژن آنزیم CBS همراه است، در حالی که بیان ژن آنزیم‌های 3-MST و CSE تغییر معناداری نداشت.

در این راستا، وانگ و همکاران [۱۲] در سال ۲۰۱۷ گزارش کردند که سطوح درون‌زاد  $\text{H}_2\text{S}$  کبد موش‌های صحرائی نر بعد از تمرینات هوازی افزایش می‌یابد (تقریباً ۱۱  $\mu\text{mol}/\text{g}$  نسبت به گروه کنترل)، همچنین، باعث افزایش بیان mRNA آنزیم‌های CBS، CES و 3-MST در کبد موش‌های صحرائی می‌شود.

به‌همین ترتیب، پان و همکاران [۱۳] در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که افزایش معناداری در سطوح پلاسمایی NO (۵/۰۹  $\mu\text{mol}/\text{L}$ )، CO (۳/۵۴  $\mu\text{mol}/\text{mg}$ ) و  $\text{H}_2\text{S}$  (۳/۷۱  $\mu\text{mol}/\text{mg}$ ) پس از ۱۲ هفته تمرین تای‌چی نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود. همچنین، در تحقیقات انجام شده نشان داده شده است که در اثر قرارگیری در معرض گاز  $\text{H}_2\text{S}$  در طول فعالیت‌های ورزشی زیربیشینه و بیشینه، تغییراتی

سولفید هیدروژن<sup>۱</sup> ( $\text{H}_2\text{S}$ ) گازی بی‌رنگ است که در غلظت‌های زیاد با بوی تند و ماهیت سمی آن شناخته می‌شود [۱]. گروه کوچکی از مولکول‌های گازی به‌تازگی کشف شده است که پیام‌رسان مولکولی عمل می‌کند [۲]. از این‌رو، این گازها ناقل‌های گازی<sup>۲</sup> نامیده می‌شود [۲]. تا حالا، سه ترکیب نیتریک اکسید<sup>۳</sup> (NO)، مونوکسید کربن<sup>۴</sup> (CO) و سولفید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{S}$ ) جدیدترین ناقل‌های گازی کشف‌شده در سلول‌های پستانداران شناخته شده است [۲]. با کمال تعجب، در گذشته نقش سولفید هیدروژن به‌جای مولکول فعال فیزیولوژیایی، فرآورده‌ای کم‌اهمیت تلقی می‌شد تا اینکه در دهه ۱۹۸۰، به تولید اندوژنی (درون‌زادی) سولفید هیدروژن توجه شد و بعد از مطالعه روی موش‌ها، نشان داده شد که تحت شرایط فیزیولوژیایی، سولفید هیدروژن در سطح سلولی بسیاری از بافت‌ها و اندام‌های حیاتی به‌صورت درون‌زاد تولید می‌شود [۳].

در پستانداران، تولید درون‌زاد سولفید هیدروژن به‌طور عمده از طریق مسیرهای آنزیمی سیستاتیونین- $\beta$ -سنتاز<sup>۵</sup> (CBS) و سیستاتیونین- $\gamma$ -لیاز<sup>۶</sup> (CSE) و مرکاپتو پپروات سولفور ترانسفراز<sup>۳</sup> (3-MST) انجام می‌گیرد [۴]. اب و کیمورا [۵] در سال ۱۹۹۶ گزارش کردند در مغز، آنزیم CBS بیشترین تولیدکننده سولفید هیدروژن با استفاده از سوبسترای سیستئین است. همچنین، فعال‌کننده آلوستری آنزیم CBS، اس آدنوزیل ال متیونین<sup>۸</sup> (SAM) است [۶].

به‌نظر می‌رسد  $\text{H}_2\text{S}$  درون‌زاد از طریق مسیر پیام‌رسانی آدنیلات سیکلاز (AC)/آدنوزین مونوفسفات سیکلاز حلقوی (cAMP)، کانال‌های پتاسیم وابسته به ATP ( $\text{K}_{\text{ATP}}$ ) و  $\text{K}_{\text{Ca}2+}$  را تعدیل می‌کند [۷]. با توجه به روش اندازه‌گیری غلظت  $\text{H}_2\text{S}$  و نوع بافت، سطوح متفاوتی از غلظت  $\text{H}_2\text{S}$  در پستانداران گزارش شده است [۸]. مطرح شده است که  $\text{H}_2\text{S}$  در خون پستانداران دارای غلظت ۱ تا ۳۰۰  $\mu\text{M}$  [۹] و در

فیزیولوژیایی H<sub>2</sub>S، تحقیقات بیشتری برای درک بهتر اثر روش‌های مختلف تمرینی بر تولید H<sub>2</sub>S و آنزیم‌های سنتزکننده آن مورد نیاز است و با عنایت به موارد ذکرشده، هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی ویژه بر سطوح H<sub>2</sub>S و mRNAهای آنزیم‌های CBS و SAM در هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

### روش پژوهش

#### نمونه‌های پژوهش

تحقیق حاضر از نظر روش‌شناسی، تجربی و از نظر هدف، بنیادی بود. نمونه تحقیق حاضر ۱۴ سرموش صحرایی نر از نژاد ویستار با سن ۸ هفتگی و با میانگین وزنی  $195 \pm 20$  گرم از انستیتو پاستور تهیه شد. موش‌های صحرایی در آزمایشگاه حیوانات بخش فیزیولوژی و فارماکولوژی انستیتو پاستور در شرایط کنترل‌شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر) دما ( $22 \pm 3$  سانتی‌گراد)، و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. تعداد ۳ تا ۵ موش صحرایی در قفس‌هایی از جنس پلکسی‌گلاس با در توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر به‌گونه‌ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند. سپس، موش‌های صحرایی به‌روش تصادفی ساده به دو گروه کنترل و گروه تمرین هوازی تقسیم شدند (۷ سرموش صحرایی در هر گروه). در این مطالعه، دوره تمرینی ۴ هفته انتخاب شد. تمامی مراحل اجرای پژوهش عبارت بود از نگهداری، اجرای پروتکل تمرین، کشتار موش‌های صحرایی و بافت‌برداری بر اساس ضوابط کمیته اخلاقی حیوانات مؤسسه پاستور.

#### پروتکل پژوهش

موش‌های صحرایی روی نوارگردان با شیب صفر درجه از ساعت ۹:۰۰ صبح تا ۱۴:۳۰ بعدازظهر و از شنبه تا چهارشنبه به‌مدت ۴ هفته (۵ روز در هفته با شدت و مدت مورد نظر)

در پارامترهای مختلف بیوشیمیایی در عضلات اسکلتی انسان ایجاد می‌شود [۱۴، ۱۵].

یافته‌ها در بیشتر مطالعات موجود حاکی از این است که H<sub>2</sub>S علاوه بر نقش‌های فیزیولوژیایی خود به‌عنوان تعدیل‌کننده عصبی و محافظت‌کننده نرونی، در پاتوفیزیولوژی دستگاه عصبی مرکزی نیز درگیر است [۱۶]. H<sub>2</sub>S با بیماری‌های مهم عصبی مانند آلزایمر و پارکینسون مرتبط است. مشاهده شده است که در بسیاری از بیماری‌ها مانند سندرم داون، بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون و تشنج، سطوح درون‌زاد H<sub>2</sub>S کاهش یافته است [۱۶]. از آن به بعد، نقش‌های احتمالی H<sub>2</sub>S در تمام دستگاه‌های بدن تحت بررسی قرار گرفت. همچنین، گزارش شده است که H<sub>2</sub>S از طریق مسیرهای مختلفی از جمله تنظیم فشارخون [۱۷]، انتقال‌دهنده عصبی [۵]، ضدآکسایش [۱۸]، تنظیم التهابی [۱۹]، محافظ‌کننده قلب و عروق [۲۰]، مهار آپوپتوزیس [۲۱] و با تحریک آنژیوژنز [۲۲] و نوروژنز [۱۶] موجب ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده می‌شود و نقش مهمی در عملکردهای فیزیولوژیایی و پاتوفیزیولوژیایی دارد.

از سوی دیگر، یافته‌های مطالعات حاکی از آن است که فعالیت جسمانی روشی بی‌خطر، کم‌هزینه و مؤثر در پیشگیری و بهبود اختلال ادراکی و شیوع زوال عقلی از جمله بیماری آلزایمر است [۲۳]. حتی کاهش نسبتاً کم در بروز این بیماری تأثیر قابل‌توجهی در هزینه‌های اجتماعی و اقتصادی داشته است. فعالیت ورزشی منظم نقش حفاظت نرونی دارد و نوروتروفین‌ها را به‌صورت مثبت تنظیم می‌کند [۲۴].

با این حال، باید توجه داشت در متون پژوهشی تاکنون، در مورد تأثیر تمرین ورزشی بر سطوح درون‌زاد H<sub>2</sub>S و عوامل دخیل در تولید درون‌زاد آن در هیپوکمپ تحقیقی انجام نگرفته است. بنابراین، با توجه به عملکردهای مهم

و مطابق دستورالعمل کیت انجام شد. تمام مراحل انجام کار روی یخ، زیر هود و با استفاده از وسایل RNase free صورت گرفت. ضمن اینکه از GAPDH به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. کمی کردن داده‌ها (نسبت بیان ژن مورد نظر به ژن مرجع) با روش  $\Delta\Delta CT$ -2 صورت گرفت.

جدول ۱. نام و توالی پرایمرهای آغازگر مورد استفاده در Real time-PCR

ژن	توالی	کد ژن
CBS	F: 5'-GGAAAGGAGGGAGATGTGAGG-3' R: 5'-AGCAAGGAGCATGTGGG-3'	NM_012522.2
SAM	F: 5'-CCCTCCTGCCTCAACTCC-3' R: 5'-GCTGATGCCACCATGCTG-3'	NM_001271211.1

### تحلیل آماری

از آزمون شاپیروویلک و لوین به ترتیب، برای تعیین توزیع نرمال داده‌ها و تجانس واریانس‌ها استفاده شد. پس از مشخص شدن نرمال بودن توزیع داده‌ها و برقراری فرض برابری واریانس‌ها، برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون آماری تحلیل واریانس چند متغیری MANOVA در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. برای تعیین اندازه اثر<sup>۱۰</sup> (ES) از آزمون مجذور اتا<sup>۱۱</sup> و مجذور امگا<sup>۱۲</sup> استفاده شد. تمامی محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS-23 صورت گرفت.

### نتایج

بر اساس نتایج واریانس MANOVA و مقدار F و ES محاسبه شده برای داده‌های CBS، SAM و H<sub>2</sub>S، به ترتیب چنین به دست آمد:  $F=22/398$ ،  $P=0/001$ ،  $ES=0/737$ ؛  $F=57/023$ ،  $P=0/001$ ،  $ES=0/843$ ؛

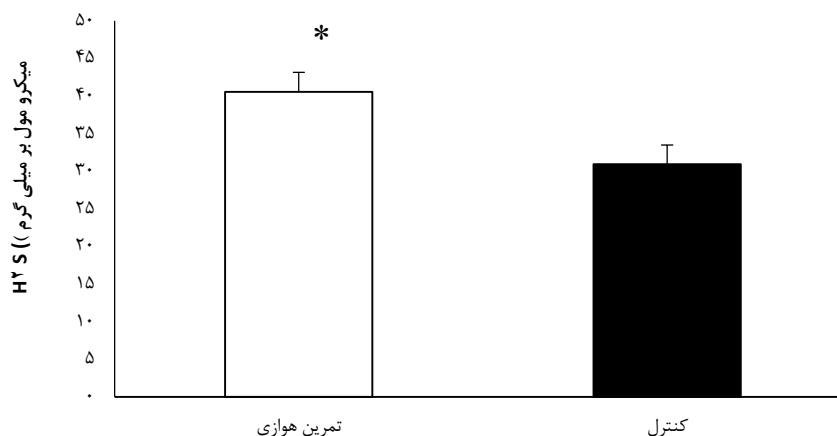
به تمرین پرداختند. موش‌های صحرایی در هفته اول و دوم با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه در دو نوبت جداگانه ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه ۵ دقیقه‌ای (استراحت غیرفعال، به منظور جلوگیری از خستگی عضلانی) روی نوارگردان دویدند. در هفته سوم، با افزایش شدت و زمان فعالیت، موش‌های صحرایی با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در سه نوبت جداگانه ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه ۵ دقیقه‌ای بین نوبت‌ها دویدند. در هفته چهارم، موش‌های صحرایی با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در ۴ نوبت جداگانه ۱۵ دقیقه‌ای با وقفه ۵ دقیقه‌ای بین نوبت‌ها به فعالیت پرداختند (شکل ۱) [۲۵]. موش‌های صحرایی گروه تمرین هواری در طول مدت جلسات تمرینی پایش شدند و با استفاده از شوک الکتریکی ضعیف (شدت ۰/۵ میلی آمپر) که در حیوان ایجاد استرس زیادی نمی‌کرد یا دستکاری با اسفنج به ادامه دویدن تشویق شدند.

### روش‌های آزمایشگاهی

۷۲ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی با تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش و هیپوکمپ سریعاً استخراج و در نیتروژن -۸۰- منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی به یخچال -۸۰- منتقل شد. اندازه‌گیری میزان H<sub>2</sub>S با روش الایزا و با توجه به دستورالعمل سازنده کیت الایزا (شماره کاتالوگ AMS.E02H0004، ساخت چین) انجام گرفت. همچنین، اندازه‌گیری سطوح بیان mRNAهای CBS و SAM از روش کمی RealTime-PCR و با استفاده از طراحی پرایمر ژن صورت گرفت (جدول ۱). پس از جداسازی مغز، حدود ۱۰۰ میلی گرم هیپوکمپ با روش هاون کوبی پودر و برای استخراج total RNA در ۱ میلی لیتر Isol RNA-Lysis reagent هموژن شد. به منظور استخراج RNA بافت سانتریفیوژ و با استفاده از آنزیم‌های مخصوص، cDNA سنتز شد. سنتز cDNA با PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time) شرکت TaKaRa (شماره کاتالوگ #RR037A)

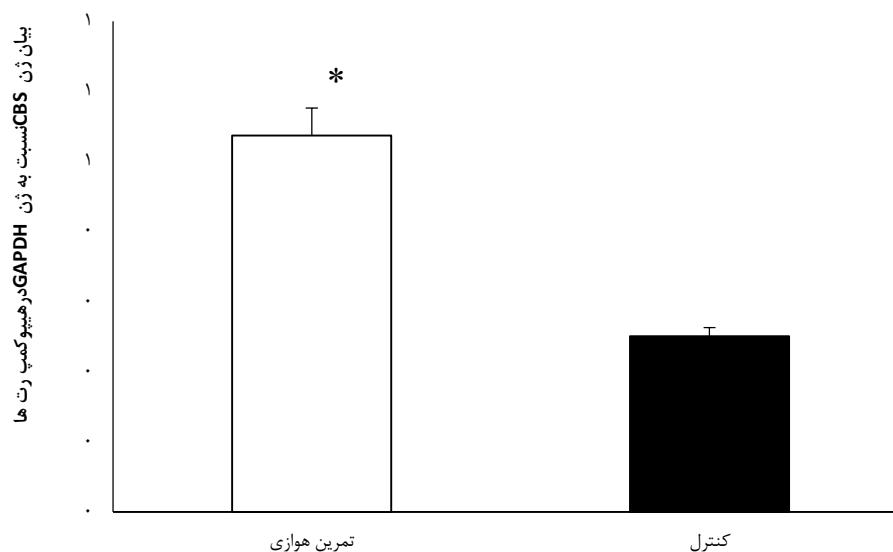
با ۴ هفته تمرین هوازی، سطوح  $H_2S$  هیپوکمپ موش‌های صحرایی گروه تمرین هوازی نسبت به موش‌های صحرایی گروه کنترل، به‌طور معناداری از ۳۰/۹۴ به ۴۰/۵۵  $\mu\text{mol}/\text{mg}$  بیشتر بود ( $ES=77/32$ ،  $P=0/001$ ) (شکل ۱). به‌عبارت دیگر، مقادیر اندازه‌اثر نشان داد ۷۷/۳۲ درصد تغییرات سطوح  $H_2S$  بین گروه‌های تمرین هوازی و کنترل مربوط به انجام تمرین هوازی است. باقی تغییرات بین این دو گروه به عوامل ناشناخته مربوط می‌شود.

به‌عبارت دیگر،  $F=42/835$ ،  $P=0/001$ . بین میانگین سطوح  $H_2S$  و SAM، CBS، در گروه‌های کنترل و تمرین هوازی اختلاف معناداری مشاهده شد. بعد از مقایسه جفتی سطوح  $H_2S$  و SAM، CBS، هیپوکمپ گروه‌های تمرین هوازی و کنترل با آزمون مجذور امگا، نتایج به‌دست‌آمده به شرح زیر بود.

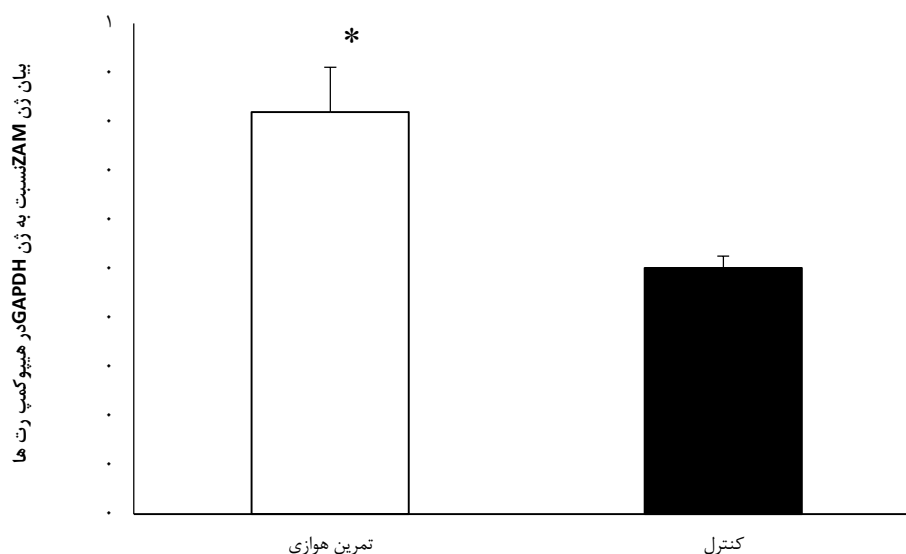


شکل ۱. مقایسه میانگین سطوح  $H_2S$  هیپوکمپ موش‌های صحرایی بین گروه‌های تمرین هوازی و کنترل \* تفاوت معنادار با گروه کنترل ( $P \leq 0/05$ ) (مقادیر به شکل انحراف معیار  $\pm$  میانگین بیان شده است)

یافته‌ها نشان داد که با ۴ هفته تمرین هوازی، سطوح بیان ژنی CBS و SAM هیپوکمپ موش‌های صحرایی گروه تمرین هوازی، در مقایسه با موش‌های صحرایی گروه کنترل، به‌طور معناداری بیشتر بود (به‌ترتیب،  $ES=68/15$ ،  $P=0/002$ ؛  $ES=84/85$ ،  $P=0/001$ ) (شکل ۲ و ۳). به‌عبارت دیگر، مقادیر اندازه‌اثر به ما نشان داد که به‌ترتیب ۶۸/۱۵ و ۸۴/۸۵ درصد تغییرات سطوح CBS و SAM بین گروه‌های تمرین هوازی و کنترل مربوط به انجام تمرین هوازی است.



شکل ۲. مقایسه نسبت سطوح CBS هیپوکمپ موش‌های صحرایی بین گروه‌های تمرین هوازی و کنترل \* تفاوت معنادار با گروه کنترل ( $P \leq 0.05$ ) (مقادیر به شکل انحراف معیار  $\pm$  میانگین بیان شده است)



شکل ۳. مقایسه نسبت سطوح ZAM هیپوکمپ موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف \* تفاوت معنادار با گروه کنترل ( $P \leq 0.05$ ) (مقادیر به شکل انحراف معیار  $\pm$  میانگین بیان شده است)

هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار منجر شود که ممکن است بیانگر تأثیر حمایتی متغیرهای پژوهش از طریق مسیرهای مختلف فیزیولوژیایی در حفاظت و بازسازی سلول‌ها باشد. بر اساس جستجوهای ما، این نخستین مطالعه‌ای است که تأثیر تمرین هوازی ویژه بر سطوح

### بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد ۴ هفته تمرین هوازی ویژه ممکن است به افزایش معناداری در سطوح درون‌زاد  $H_2S$ ، همچنین در سطوح بیان mRNA آنزیم‌های CBS و SAM

SAM در بافت هیپوکمپ مغز منجر می‌شود. جالب توجه است در این زمینه یافته‌های بیشتر مطالعات حاکی از این است که H<sub>2</sub>S علاوه بر نقش فیزیولوژیایی خود به‌عنوان تعدیل‌کننده عصبی و محافظت‌کننده نرونی، در پاتوفیزیولوژی دستگاه عصبی مرکزی نیز درگیر است. H<sub>2</sub>S با بیماری‌های مهم عصبی مانند آلزایمر و پارکینسون مرتبط است. مشاهده شده است که در بسیاری از بیماری‌ها مانند سندرم داون، بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون و تشنج، سطوح درون‌زاد H<sub>2</sub>S کاهش یافته است [۱۶].

در این راستا، ژانگ و همکاران [۲۱] در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که H<sub>2</sub>S مغز را در برابر آسیب دمانس عروقی<sup>۱۳</sup> ناشی از خون‌رسانی مجدد بعد ایسکمی مغزی از طریق مهار آپوپتوزیس در هیپوکمپ محافظت می‌کند. آن‌ها دریافتند که موش‌های صحرایی تحت درمان با هیدرو سولفید سدیم<sup>۱۴</sup> (NaHS) نسبت بیشتری از Bcl-2 (ضد آپوپتوز) به bax (عامل ایجاد آپوپتوز) دارند. همچنین، در هیپوکمپ بیان ژن Bcl-2 افزایش و بیان ژن bax کاهش پیدا می‌کند.

بر اساس شواهد، آنزیم CBS هم در تولید H<sub>2</sub>S و هم در سوخت‌وساز هموسیستئینی نقش دارد و در پاتوژنز بیماری آلزایمر درگیر است. بیماری آلزایمر با کاهش تولید H<sub>2</sub>S همراه است که ممکن است دلیلی برای کاهش حفاظت از سلول‌های عصبی باشد، به طوری که آثار مخرب آسیب‌رسانی و التهاب عصبی ناشی از Aβ و فشار اکسایشی افزایش پیدا می‌کند [۲۹]. همسو با این مطالعه، لاینگ و همکاران [۳۰] در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند با انجام فعالیت‌های جسمانی، آثار زیانبار فشار اکسایشی و تسریع آن بر اثر پیری متوقف می‌شود و پیامدهای مطلوبی در شکل‌پذیری سیناپسی و ادراک دارد. به‌علاوه، سطوح بالای فعالیت جسمانی با سطوح کمتر نشانگرهای التهابی در محیط همراه است که ارتباط تنگاتنگی با بیماری آلزایمر دارد.

درون‌زاد H<sub>2</sub>S و سطوح بیان ژنی آنزیم‌های CBS و SAM هیپوکمپ موش‌های صحرایی بررسی شده است. همسو با نتایج این تحقیق، وانگ و همکاران [۱۲] در سال ۲۰۱۷ گزارش کردند که سطوح پلاسمایی H<sub>2</sub>S موش‌های صحرایی ۸ هفته‌ای بعد از تمرینات هوازی افزایش می‌یابد. همچنین، باعث افزایش بیان mRNA آنزیم‌های CBS، CES و 3-MST در کبد موش‌های صحرایی می‌شود. در این راستا، جونانز و همکاران [۱۳] در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که ۴ هفته تمرین هوازی موش‌های صحرایی روی نوارگردان موتوری به مدت ۵ روز باعث افزایش میزان سطوح درون‌زاد H<sub>2</sub>S در هیپوتالاموس موش‌های صحرایی می‌شود که با افزایش بیان ژن آنزیم CBS همراه بود، در حالی که بیان ژن آنزیم‌های 3-MST و CSE تغییر معناداری نداشته است [۱۱]. به‌همین ترتیب، پان و همکاران [۱۳] در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که پس از ۱۲ هفته تمرین تای‌چی (۶۰ دقیقه در روز، ۶ روز در هفته)، افزایش معناداری در سطوح پلاسمایی NO، CO و H<sub>2</sub>S مشاهده می‌شود.

تانگ و همکاران [۲۶] در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که موش‌های صحرایی بعد از ۸ هفته تمرین هوازی فزاینده روی نوارگردان افزایش معناداری در سطوح اندوژنی H<sub>2</sub>S داشتند. به‌این ترتیب، در تحقیقی دیگر، وانگ و همکاران [۲۷] در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که تمرین هوازی در موش‌های صحرایی با فشارخون بالا موجب بازسازی و افزایش سطوح H<sub>2</sub>S و NO در آئورت شد و در نتیجه باعث کاهش هیپرتروفی آئورت و اختلال عملکردی اندوتلیال می‌شود. از طرف دیگر، وو و همکاران [۲۸] در سال ۲۰۱۶ گزارش کردند که ۵ روز تمرین هوازی در هفته به مدت ۴۰ دقیقه، غلظت H<sub>2</sub>S و بیان ژن آنزیم CSE عضلات اسکلتی موش‌های صحرایی را به‌طور قابل توجهی افزایش می‌دهد.

در تحقیق حاضر نتایج نشان داده است که ۴ هفته تمرین هوازی ویژه به افزایش معنادار سطوح درون‌زاد H<sub>2</sub>S، CBS و

محافظت و ترمیم سلول‌های نرونی می‌شود و در بازسازی بافت‌ها بسیار سودمند است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرین هوازی ویژه با افزایش سطوح  $H_2S$ ، CBS و SAM در هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار مفید است. به‌طور کلی، با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، چنین می‌توان نتیجه گرفت که تمرین هوازی با تنظیم مثبت  $H_2S$  نقش مهمی در عملکرد فیزیولوژیایی و پاتوفیزیولوژیایی ایفا می‌کند و روش درمانی غیردارویی برای پیشگیری و بهبود بیماری‌های زوال عقلی سودمند است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری فرهاد عظیمی است. نویسندگان این مقاله از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی کمال تشکر را دارند.

### پی‌نوشت‌ها

- <sup>1</sup> Hydrogen sulfide
- <sup>2</sup> Gasotransmitters
- <sup>3</sup> Nitric oxide
- <sup>4</sup> Carbon monoxide
- <sup>5</sup> Cystathionine- $\beta$ -synthase
- <sup>6</sup> Cystathionine- $\gamma$ -lyase
- <sup>7</sup> 3-mercaptopyruvate Sulfotransferase
- <sup>8</sup> S-adenosyl-L-methionine
- <sup>9</sup> Neuromodulation
- <sup>10</sup> Effect Size
- <sup>11</sup> Eta squared
- <sup>12</sup> Omega squared
- <sup>13</sup> Vascular dementia
- <sup>14</sup> Sodium hydrogen sulfide
- <sup>15</sup> long-term potentiation
- <sup>16</sup> Neuroprotection
- <sup>17</sup> N-methyl-D-aspartate
- <sup>18</sup> Transient receptor potential ankyrin 1
- <sup>19</sup> D-serine

درباره چگونگی تأثیر فعالیت بدنی بر حافظه و مغز، بحث‌های زیادی مطرح شده است و سازوکارهای زیربنایی مداخله به‌طور قطعی آشکار نیست، ولی فرض بر این است که با تغییراتی در بدن این آثار به‌وقوع می‌پیوندد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد بعد از اجرای تمرین هوازی ویژه میزان  $H_2S$  در موش‌های صحرایی افزایش می‌یابد و این افزایش ممکن است از طریق سازوکارهای فیزیولوژیایی  $H_2S$  در دستگاه عصبی مرکزی، از جمله تعدیل انتقال‌دهنده عصبی، تقویت بلندمدت عصبی<sup>۱۵</sup> (LTP) و محافظت نرونی<sup>۱۶</sup>، مغز را از عوامل بیماری‌زای بی‌شماری محافظت کند [۱۶].  $H_2S$  بر کانال‌های یونی و عملکردهای متعددی از دستگاه عصبی تأثیرگذار است.

در این راستا، مطالعات اب و کیمورا [۵] در سال ۱۹۹۶ درباره عملکرد زیستی درون‌زاد  $H_2S$ ، نشان داده است که  $H_2S$  باعث افزایش گیرنده ان‌متیل دی‌اسپاراتات<sup>۱۷</sup> (NMDA) و افزایش تقویت بلندمدت عصبی می‌شود.  $H_2S$  تقویت بلندمدت عصبی را با افزایش جذب  $Ca^{+2}$  در آستروسیت با فعال کردن کانال گیرنده‌های کاتیونی<sup>۱۸</sup> (TRPA1) تسهیل می‌کند. آستروسیت سپس، دی-سرین<sup>۱۹</sup> (D-serine) را داخل سیناپس رها می‌کند و باعث افزایش فعالیت گیرنده‌های NMDA می‌شود.

در مجموع، افزایش تولید درون‌زاد  $H_2S$  در هیپوکمپ مغز به‌واسطه آنزیم‌های CBS و SAM، از طریق مسیرهای فیزیولوژیایی مختلفی از جمله تنظیم فشارخون [۱۷]، انتقال‌دهنده عصبی [۵]، ضداکسایشی [۱۸]، تنظیم التهاب [۱۹]، محافظت‌کننده قلب و عروق [۲۰]، مهار آپوپتوزیس [۲۱] و با تحریک آنژیوژنز [۲۲] و نوروژنز [۱۶] موجب



## منابع

- [1] Reiffenstein R, Hulbert WC, Roth SH. Toxicology of hydrogen sulfide. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 1992; 32(1): 109-34
- [2] Farrugia G, Szurszewski JH. Carbon monoxide, hydrogen sulfide, and nitric oxide as signaling molecules in the gastrointestinal tract. Gastroenterology. 2014; 147(2): 303-13.
- [3] Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. Biochemical and Biophysical Research Communications. 1997; 237(3): 527-31.
- [4] Sun L, Jin H, Sun L, Chen S, Huang Y, Liu J, et al. Hydrogen sulfide alleviates myocardial collagen remodeling in association with inhibition of TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway in spontaneously hypertensive rats. Molecular Medicine. 2014; 20(1): 503.
- [5] Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. Journal of Neuroscience. 1996; 16(3): 1066-71.
- [6] Nagy P, Pálinkás Z, Nagy A, Budai B, Tóth I, Vasas A. Chemical aspects of hydrogen sulfide measurements in physiological samples. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2014; 1840(2): 876-91.
- [7] Luz G, renato N, Alexandre A. Gaseous mediators in temperature regulation. Comprehensive Physiology. 2014; 4(4): 1301-38.
- [8] Olson KR. Is hydrogen sulfide a circulating "gasotransmitter" in vertebrate blood? Biochim Biophys Acta. 2009; 1787: 856-863.
- [9] Norris EJ, Culbertson CR, Narasimhan S, Clemens MG. The liver as a central regulator of hydrogen sulfide. Shock. 2011; 36: 242-250.
- [10] Jin Z., Chan H., Ning J., Lu K., Ma D. The role of hydrogen sulfide in pathologies of the vital organs and its clinical application. Journal of Physiology and Pharmacology. 2015; 66(2): 169-179.
- [11] Nogueira JE, Soriano RN, Fernandez RA, Francescato HD, Saia RS, Coimbra TM, et al. Effect of physical exercise on the febrigenic signaling is modulated by preoptic hydrogen sulfide production. PloS One. 2017; 12(1): e0170468.
- [12] Wang B, Zeng J, Gu Q. Exercise restores bioavailability of hydrogen sulfide and promotes autophagy influx in livers of mice fed with high-fat diet. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. 2017; 95(6): 667-74.
- [13] Pan X, Zhang Y, Tao S. Effects of Tai Chi exercise on blood pressure and plasma levels of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulfide in real-world patients with essential hypertension. Clinical and Experimental Hypertension. 2015; 37(1): 8-14.
- [14] Kilburn KH. Effects of hydrogen sulfide on neurobehavioral function. Southern Medical Journal. 2003; 96(7): 639-47.
- [15] Bhambhani Y, Singh M. Physiological effects of hydrogen sulfide inhalation during exercise in healthy men. Journal of Applied Physiology. 1991; 71(5): 1872-7.
- [16] Hu LF, Lu M, Hon Wong PT, Bian JS. Hydrogen sulfide: neurophysiology and neuropathology. Antioxidants & Redox Signaling. 2011; 15(2): 405-19.

- [17] Ali M, Ping C, Mok YY, Ling L, Whiteman M, Bhatia M, et al. Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulphide? *British Journal of Pharmacology*. 2006; 149(6): 625-34.
- [18] Wu D, Hu Q, Liu X, Pan L, Xiong Q, Zhu YZ. Hydrogen sulfide protects against apoptosis under oxidative stress through SIRT1 pathway in H9c2 cardiomyocytes. *Nitric Oxide*. 2015; 46: 204-12.
- [19] Hu LF, Wong PTH, Moore PK, Bian JS. Hydrogen sulfide attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation by inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase in microglia. *Journal of Neurochemistry*. 2007; 100(4): 1121-8.
- [20] Johansen D, Ytrehus K, Baxter GF. Exogenous hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) protects against regional myocardial ischemia-reperfusion injury. *Basic Research in Cardiology*. 2006; 101(1): 53-60.
- [21] Zhang Y, Li H, Zhao G, Sun A, Zong NC, Li Z, et al. Hydrogen sulfide attenuates the recruitment of CD11b+ Gr-1+ myeloid cells and regulates Bax/Bcl-2 signaling in myocardial ischemia injury. *Scientific Reports*. 2014; 4.
- [22] Katsouda A, Bibli S-I, Pyriochou A, Szabo C, Papapetropoulos A. Regulation and role of endogenously produced hydrogen sulfide in angiogenesis. *Pharmacological Research*. 2016; 113: 175-85.
- [23] Rockwood K, Middleton L. Physical activity and the maintenance of cognitive function. *Alzheimers Dement*. 2007; 12(3): 38-44.
- [24] Radak Z, Hart N, Sarga L, Koltai E, Atalay M, Ohno H, et al. Exercise plays a preventive role against Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2010; 20: 777-783.
- [25] Zagaar M, Alhaider I, Dao A, Levine A, Alkarawi A, Alzubaidy M, et al. The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation: behavioral, electrophysiological and molecular evidence. *Neurobiology of Disease*. 2012; 45(3): 1153-62.
- [26] Tang Z, Wang Y, Zhu X, Ni X, Lu J. Exercise increases cystathionine-γ-lyase expression and decreases the status of oxidative stress in myocardium of ovariectomized rats. *International Heart Journal*. 2016; 57(1): 96-103.
- [27] Gu Q, Wang B, Zhang XF, Ma YP, Liu JD, Wang XZ. Contribution of hydrogen sulfide and nitric oxide to exercise-induced attenuation of aortic remodeling and improvement of endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2013; 375(1-2): 199-206.
- [28] Wu D, Lu Z, Li M, Feng Z, Liu A, Jin D, et al. Treadmill exercise increases cystathionine γ-lyase expression and decreases inflammation in skeletal muscles of high-fat diet-induced obese rats. *Int J Clin Exp Med*. 2016; 9(12): 23119-26.
- [29] He XI, Yan N, Zhang H, Qi YW, Zhu LJ, Liu MJ et al. Hydrogen sulfide improves spatial memory impairment and decreases production of Aβ in APP/PS1 transgenic mice. *Neurochemistry International*. 2014; 67: 1-8.
- [30] Liang KY, Mintun MA, Fagan AM, Goate AM, Bugg JM, Holtzman DM et al. Exercise and Alzheimer's disease biomarkers in cognitively normal older adults. *Annals of Neurology*. 2010; 68(3): 311-8.



Shahid Beheshti University

## Sport and Exercise Physiology

Spring and Summer 2020; Vol.13; No.1

---

### The effects of 4-weeks aerobic training on hydrogen sulfide levels in hippocampus of Wistar male rats

Farhad Azimi, Marefat Siahkhouian\*, Farnaz Seifi, Roghayeh Afroundeh

Department of Sport Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

\*Corresponding Author: Maerefat Siahkohian, Tel: +98-9144511435, E-mail: m\_siahkohian@uma.ac.ir

Received: 06/09/2017

Revised: 14/04/2018

Accepted: 22/04/2018

#### Abstract

**Purpose:** Hydrogen sulfide has an important role in the body's physiological functions. The aim of the present study was to survey on the effects of 4-week aerobic training on CBS, SAM and H<sub>2</sub>S levels in hippocampus of Wistar male rats.

**Methods:** 14 male Wistar rats (12 weeks old and weight 195±20 g) were randomly divided into two groups including: control and aerobic training. Training group trained 5 days a week for 4 weeks (15 minutes at 10 m/min). CBS and SAM mRNA expression in hippocampus was measured by Real time-PCR technique and the ELISA method was used to measure H<sub>2</sub>S. For data analysis, MANOVA and Eta and Omega squared tests were used to determine the effect size at 95% confidence level ( $P<0.05$ ).

**Results:** Findings revealed that the 4-week of special aerobic training increased significantly the CBS, SAM and H<sub>2</sub>S levels in hippocampus of training rats compared to the control rats (ES=68.15,  $P=0.002$ ; ES=84.85,  $P=0.001$ ; ES=77.32,  $P=0.001$ ).

**Conclusion:** According to the results, it seems that the special aerobic training can play an important role in physiological and pathophysiological functions through positive regulation of hydrogen sulfide via CBS and SAM enzymes and as a non-pharmacologically beneficial therapeutic treatment for dementia patients.

**Keywords:** Aerobic exercise, CBS, Hydrogen sulfide, SAM.