

تاثیر ۸ هفته تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل کلرلا بر شاخص های آنتی اکسیدانی کلیه موش های صحرایی نر دیابتی شده

افسانه امامی مقدم^۱، امینه صحرانورد گرگری^۲

۱- کارشناسی ارشد تربیت بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- استادیار گروه تربیت بدنی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران. amineh.sahranavard@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به محدودیت گزارشات علمی موجود در زمینه نقش تمرینات ورزشی همراه با مصرف مکمل کلرلا بر عوارض دیابت و آنتی اکسیدان های کلیه در بین جامعه دیابتی و هم چنین عدم بررسی جامع آن بر روی مدل حیوانی، هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی به همراه مکمل کلرلا بر شاخص های آنتی اکسیدانی کلیه موش های دیابتی بود.

روش کار: ۵۰ راس موش ویستار نر بالغ در پنج گروه شامل کنترل سالم، کنترل دیابتی، تمرین، مکمل (کلرلا) و توام گروه بندی شدند. القای دیابت با تزریق استرپتوزوسین انجام شد. در طول مداخله، عصاره کلرلا به مدت هشت هفته قبل از غذای نوبت صبح مصرف شد. تمرین شامل پنج روز در هفته به صورت دویدن روی نوارگردان بود. برای تهیه مکمل کلرلا نیز عصاره کلرلا به اندازه ۵٪ وزن بدن روزانه ۲۰ الی ۳۰ دقیقه قبل از غذا در نوبت صبح پودر خشک کلرلا به صورت محلول در آب گرم تا پایان ۸ هفته به صورت گاوآذ تجویز و پس از هفته هشتم نمونه خونی گرفته شد. برای اندازه گیری آنزیم های آنتی اکسیدانی از خون تام و مالون دی آلدئید از سرم استفاده گردید.

یافته ها: بعد از دوره مداخله فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) در گروه های دیابتی، به طور معنی داری بیشتر از موش های غیردیابتی (کنترل سالم) و در عین حال، وزن بدن کمتر بود ولی هر سه مداخله سبب جلوگیری از افزایش فعالیت این آنزیم ها و جلوگیری از کاهش وزن ناشی از دیابت شدند. هم چنین با این که در مورد فعالیت SOD، تفاوتی بین مقدار تاثیر تمرین، مکمل و اثر توام وجود نداشت، ولی اثر گذاری گروه توام در جلوگیری از افزایش فعالیت CAT و جلوگیری از کاهش وزن، بهتر از هر دو مداخله تمرین و مکمل بود. مقدار مالون دی آلدئید (MDA) پلاسماهای گروه های توام و کلرلا، تفاوت معنی داری با موش های کنترل سالم و کنترل دیابتی داشت. گلوکز خون در هر دو گروه توام و تمرین کمتر از گروه کلرلا بود.

نتیجه گیری: افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی می تواند به علت ساز و کارهای فیزیولوژیکی برای رفع شرایط استرس اکسایشی در کلیه و از طرفی افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و نتیجه آثار سوء شرایط دیابتیک در کلیه باشد. به نظر می رسد مصرف کلرلا برای سلامت بافت کلیه دارای تاثیر مفیدی نبوده، که البته اثبات و مکانیسم مربوطه نیاز به پژوهش های بیشتر دارد.

واژه های کلیدی: تمرین هوازی، کلرلا، دیابت، کلیه.

مقدمه

جمعیت جهان به دیابت مبتلا هستند (۱۴). اگرچه عوامل متعددی را در ایجاد و پیشرفت عوارض دیابت دخیل می دانند (۷)، ولی امروزه نقش استرس اکسیداتیو و رادیکال های آزاد در آسیب شناسی این عارضه بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (۴). در این راستا، نفروپاتی

دیابت یکی از شایع ترین سندرم های متابولیک است که با اختلال در فعالیت انسولین و در پی آن افزایش گلوکز خون همراه است. شیوع بیماری دیابت در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه رو به افزایش است. براساس گزارش های مستند، ۱۰ درصد

اثرات فارماکولوژیکی آن ها ناشناخته است. در بین مطالعات مرتبط با گیاهان دارویی، گونه جلبک تک سلولی به نام "کلرلا"، تأثیرات دارویی گوناگونی را هم در مدل های حیوانی و هم در انسان نشان داده است. هم چنین گزارش شده است که کلرلا دارای خاصیت آنتی اکسیداتیو، ضد التهاب و ضد تومور است (۲۷). از این رو به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات آب دوست و چربی دوست از کلرلا به عنوان یک مکمل سلامت استفاده می شود (۳۴). پناهی و همکاران در مطالعه خود بر روی بیماران کبد چرب به این نتیجه رسیدند که ۱۲۰۰ میلی گرم مکمل کلرلا می تواند سبب کاهش تری گلیسیرید سرم و آنزیم های ALT و AST شود (۳۵). کیم و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که غلظت های صفر، ۵ و ۱۰ درصد کلرلا در موش ها، سبب کاهش مالون دی آلدئید پلاسما و بافت کلیه می گردد (۳۰). شواهد فراوان نشان می دهد که تحت شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک از جمله ورزش، عدم تحرک و بسیاری از بیماری ها مثل دیابت، آنتی اکسیدان های بدن نمی توانند به طور کامل از آسیب اکسایشی جلوگیری کنند. در سال های اخیر به دنبال گزارش آثار سوء آنتی اکسیدان های سنتزی یا مصنوعی تحقیقات بسیاری پیرامون جایگزین کردن آن ها با آنتی اکسیدان های طبیعی صورت گرفته است (۸). با توجه اثرات سوء برخی از ترکیبات دارویی شیمیایی، امروزه تلاش برای یافتن ترکیبات طبیعی افزایش یافته است. گزارشات حاکی از آن است که استفاده از داروهای گیاهی با توجه به قدمت زیاد و عوارض کم ناشی از مصرف آن ها رو به افزایش است (۱۹). کلرلا یک نوع جلبک سبز تک سلولی است که آنتی اکسیدان های بسیار موثری نظیر بتاکاروتن و لوتین را در خود جای داده و می تواند پتانسیل پیشگیری از اختلالات دیابتیک شود (۳۳). به نظر می رسد که تغییر در رژیم غذایی به تنهایی در درمان دیابت نوع ۲ و

دیابتی یکی از مهم ترین عوامل نقص در عملکرد فیزیولوژیک کلیه ها در دیابت ملیتوس بوده و پیش بینی شده است که تأثیر زیادی بر کیفیت زندگی افراد دیابتی بگذارد (۱۲). تحقیقات انجام شده نشان می دهد افزایش گونه های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) در دیابت قندی منجر به تشدید آسیب بافت کلیه و آپوپتوزیس در بیماران مبتلا به دیابت می شود (۵). رادیکال های آزاد در بیماران دیابتی توسط اکسیداسیون گلوکز، گلیکاسیون غیر آنزیمی پروتئین ها و به دنبال آن تخریب اکسیداتیو پروتئین های گلایکوله ایجاد می گردد (۳). افزایش سطوح رادیکال های آزاد و کاهش هم زمان مکانیسم های دفاعی در برابر آن می تواند منجر به صدمه بافت کبد و ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی شود (۱۱). استرس اکسیداتیو که حاصل عدم توازن میان تولید رادیکال های آزاد اکسیژن و عملکرد آنتی اکسیدانی بدن می باشد، در بیماران دیابتی افزایش می یابد (۴). افزایش سطوح گونه های فعال اکسیژن (ROS) در دیابت می تواند به دلیل افزایش تولید یا کاهش سرکوب رادیکال های آزاد به وسیله آنتی اکسیدان های آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتینون پراکسیداز (GPx) و کاتالاز (CAT) باشد (۳۷). از سوی دیگر، پراکسیداسیون لیپیدی که به طور معمول با اندازه گیری مالون دی آلدئید (MDA) تعیین می شود، شاخص مهمی برای تعیین وضعیت اکسیداتیوی است (۲). نتایج حاصل از مطالعات با رویکرد ورزشی نشان می دهد، تمرینات هوازی که سبب کاهش استرس اکسیداتیو می شود، برای افراد مبتلا به دیابت مناسب است (۲۶). کاستیا و همکاران افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را متعاقب ورزش هوازی در بین افراد دیابتی گزارش کردند (۲۱). از طرفی، استفاده از گیاهان دارویی مدت ها است که در درمان بسیاری از بیماری ها استفاده می شوند، اگر چه در برخی موارد ترکیبات شیمیایی موثر و

گروه های تمرین کننده هر جلسه تمرین هوازی به صورت گرم کردن و سپس سرد کردن انجام شد. گروه های تمرین هوازی و تمرین هوازی با مصرف کلرلا برنامه تمرین هوازی را به مدت ۸ هفته روی نوار گردان الکتریکی ویژه جوندگان انجام دادند. در برنامه تمرین هوازی روی نوارگردان از هر یک از آزمودنی ها در ابتدای جلسه تمرین، ۲ دقیقه با سرعت ۵ متر در دقیقه و شیب صفر درجه، جهت گرم کردن دویندند. سپس، قسمت اصلی تمرین در هفته اول شامل: سرعت نوارگردان ۱۰ متر بر دقیقه، ۱۰ دقیقه با شیب صفر درجه و طبق جدول ۱ مقادیر سرعت و مدت تا پایان هفته هشتم آمده است (۳۹). در انتهای برنامه تمرینی، ۲ دقیقه با سرعت ۵ متر در دقیقه سرد کردن انجام شد. سرعت و مدت گرم کردن و سرد کردن در طول ۸ هفته (۲ دقیقه با سرعت ۵ متر در دقیقه) ثابت بود. سرعت و مدت تمرین در هفته اول (سرعت ۱۰ متر بر دقیقه، ۱۰ دقیقه) و مقادیر سرعت و مدت تا پایان هفته هشتم طبق جدول ۱ ارائه شده است (۳۹). در انتهای برنامه تمرینی، ۲ دقیقه با سرعت ۵ متر در دقیقه، مرحله سرد کردن (استراحت بعد از تمرین) انجام شد. پودر خشک کلرلا محلول در آب گرم به صورت عصاره کلرلا به اندازه ۵٪ وزن بدن روزانه ۲۰ الی ۳۰ دقیقه قبل از غذا در نوبت صبح تا پایان ۸ هفته به صورت گاوآژ تجویز شد (۳۲). عصاره کلرلا با استفاده از قرض ۳۰۰ گرمی کلرلا ولگاریس (محصول شرکت فردای سبز) و انحلال آن در ۱۰ لیتر آب مقطر، مهیا گردید (۱). نمونه خونی پس از اتمام هفته هشتم اخذ و سرم حاصله پس از سانتریفوژ جدا و مقدار آنزیم کاتالاز، از روش برادفورد (۱۹۷۶) مقدار سوپراکسید دیسموتاز در بافت کلیه به روش سان و همکاران اندازه گیری شد. هر واحد از فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به صورت غلظت آنزیم مورد نیاز برای ممانعت از تولید رنگ تا ۵۰ درصد در یک دقیقه،

عوارض دیابت کافی نبوده و بلکه انجام فعالیت ها و تمرینات فیزیکی و ورزشی نیز می تواند به برنامه روزانه افراد دیابتی اضافه گردد. کلرلا منبع گیاهی آنتی اکسیدانی (دارای لوتین، آلفا- و بتا- کاروتن، اسید آسکوربیک و کوئوکوفرول) است که به نظری رسد مصرف کلرلا می تواند در تنظیم عملکرد فیزیولوژیکی بدن در بیماری های بدخیم ناشی از استرس اکسیداتیو و دیابت اثرات مطلوبی داشته باشد (۹). بنابراین با توجه به عدم وجود مدارک و مستندات کافی در زمینه نقش تمرینات هوازی به همراه مصرف مکمل کلرلا بر عوارض دیابت و آنتی اکسیدان های کلیه در بین جامعه دیابتی و تحقیقات محدود منتشر شده در زمینه استفاده از مکمل کلرلا به همراه فعالیت هوازی لزوم پاسخ به این سوال که آیا ۸ هفته تمرین هوازی به همراه مکمل کلرلا بر آنتی اکسیدان های کلیه موش های صحرایی نرد یابتی شده تاثیر دارد، وجود داشته باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه از موش های صحرایی نر با دارای وزن ۱۹۵ الی ۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات پس از یک هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه، به طور تصادفی در ۵ گروه به طور مساوی تقسیم شدند، که شامل:

۱. گروه تمرین هوازی، ۲. گروه مکمل کلرلا، ۳. گروه تمرین هوازی و مکمل کلرلا، ۴. گروه دیابتی کنترل و ۵. گروه کنترل غیردیابتی.

در این مطالعه جهت القای دیابت نوع یک از ماده استرپتوزوتوسین، حل شده در بافر سترات ۰/۱ مولار و به میزان ۵۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق شد (۶). چهار روز پس از تزریق، غلظت گلوکز خون با استفاده از نمونه های خونی جمع آوری شده از دم حیوانات و روش آنزیمی گلوکز اکسیداز اندازه گیری شد. ملاک دیابتی بودن، غلظت خون بالاتر از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود. هم چنین

همه گروه های دیابتی، به طور معنی داری بیشتر از گروه غیردیابتی (گروه کنترل سالم) بود (۷۱/۹۵، ۶۴/۲۲، ۶۵/۳۸، و ۵۸/۴۱ واحد در مقایسه با ۴۷/۱۸ واحد در میلی گرم در گروه شاهد غیر دیابتی) و هر سه نوع مداخله باعث افزایش آنزیم کاتالاز ناشی از دیابت شده بودند ($P < 0.05$) (جدول ۳). بعد از دوره مداخله مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در همه گروه های دیابتی، به طور معنی داری بیشتر از موش های سالم غیردیابتی (گروه کنترل سالم) بوده و هر سه نوع مداخله باعث مقدار افزایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ناشی از دیابت شده بود ($P < 0.05$ ؛ ۶۴/۷۶، ۶۵/۲۶، ۶۹/۶۲ و ۶۰/۳۹ واحد در میلی لیتر در مقایسه با ۶۰/۳۹ واحد در گروه شاهد). ولی تفاوتی بین مقدار تاثیر تمرین، مکمل و اثر توام وجود نداشت. نتایج سطوح مالون دی آلدئید سرم در گروه های مورد بررسی پس از اعمال مداخله نشان داد با این که بعد از دوره مداخله، سطوح مالون دی آلدئید پلاسمای همه گروه ها به غیر از گروه تمرین، تفاوت معنی داری با موش های کنترل سالم و کنترل دیابتی داشتند ($P < 0.05$ ؛ ۶/۹۱، ۶/۱۲، و ۱۲/۲۳ نانومول بر میلی گرم در مقایسه با ۵/۲۳ نانومول بر میلی گرم در گروه شاهد)، با این حال، اثر کلرلا ضعیف تر از اثر تمرین (در افزایش مالون در آلدئید پلاسمایی ناشی از دیابت) و اثر توام ضعیف تر از هر دوی آن ها به تنهایی بود ($P < 0.05$)، که این یافته می تواند حاکی از اثر سوء مصرف این مکمل به طور مداوم در مورد تاثیر بر مقدار پراکسیداسیون لیپیدها باشد (جدول ۳).

تحت شرایط مطالعه، تعیین شد برای تعیین محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها بانام مالون دی آلدئید (MDA) از روش کی استفاده شد (۲۹، ۱۸). غلظت مالون دی آلدئید با استفاده از ۱، ۱، ۳، ۳ ترا اتوکسی پروپان به عنوان استاندارد تعیین و در گروه های تغذیه شده با مکمل کلرلا نیز عصاره کلرلا به اندازه ۵٪ وزن بدن روزانه ۲۰ الی ۳۰ دقیقه قبل از غذا در نوبت صبح (به صورت محلول) تا پایان ۸ هفته با گاوآژ تجویز شد (۲۲) و برای بررسی توزیع نرمال از آزمون k-s استفاده گردید. هم چنین برای مقایسه از تحلیل واریانس عاملی (۲×۲)، مقایسه بین گروهی داده ها با استفاده از تحلیل واریانس خطی $P < 0.05$ ، به عنوان وجود اختلاف معنادار بین گروه ها استفاده شد. در صورت نیاز به مقایسه های تعقیبی برای مقایسه دو به دوی گروه ها، از آزمون تعقیبی توکی برای تعیین تفاوت بین میانگین ها و در صورت معنی دار شدن آن از آزمون تعقیبی جیمز هاول استفاده شده است. تمامی تجزیه و تحلیل های آماری این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS انجام پذیرفت.

نتایج

آزمون تی همبسته برای مقایسه درون گروهی مقدار گلوکز خون و وزن بدن در فاصله بین القای دیابت تا پایان دوره را نشان می دهد (جدول ۲). هم چنین، نتایج تحلیل واریانس خطی در مورد مقایسه بین گروهی آنزیم کاتالاز تمامی گروه ها پس از اعمال مداخله (پس آزمون) نشان داد که بعد از دوره مداخله مقدار آنزیم کاتالاز در

جدول ۱- مقادیر سرعت، مدت و شیب نوارگردان مورد استفاده در تمرین هوازی (۲۱)

هفته های تمرین								شاخص
اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم	
۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۴۰	۴۰	۵۰	مدت تمرین (دقیقه در روز)
۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۱۸-۱۷	۱۸-۱۷	۲۱-۲۰	۲۱-۲۰	سرعت نوارگردان (متر بر دقیقه)
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	شیب نوارگردان (درصد)

جدول ۲- مقایسه درون گروهی مقدار گلوکز خون و وزن بدن در فاصله بین القای دیابت تا پایان دوره

متغیر	گروه	در پیش آزمون	در پس آزمون	T	Sig
گلوکز	کنترل سالم	۹۲/۱۱±۶۰/۶۷	۹۳/۱۴±۴۰/۵۳	۰/۱۸	۰/۸۶
	کنترل دیابتی	۴۰۷/۴۳±۲۰/۲۶	۴۱۶/۴۷±۸/۹۳	۰/۴۲	۰/۶۸
	کلرلا	۴۰۶/۴۸±۵۰/۲۷	۱۹۴/۶۹±۴۰/۱۵	۹/۱۴	* ۰/۰۰۱
	تمرین	۳۹۱/۳۹±۶۶/۴۴	۱۲۶/۴۵±۳۳/۲	۱۴/۳۳	* ۰/۰۰۱
	توام	۴۰۶/۴۳±۴۱/۹۶	۱۱۱/۲۷±۵۰/۱۵	۱۵/۶	* ۰/۰۰۱
وزن بدن	کنترل سالم	۲۲۷/۵±۴/۷۷	۲۲۶/۹±۸/۸۵	۰/۳۹	۰/۷
	کنترل دیابتی	۲۲۳/۶±۴/۲۳	۸±۱۴۰/۸۹	۱۹/۹۹	* ۰/۰۰۱
	کلرلا	۲۲۰/۷±۲/۸۷	۱۷۲/۱۸±۴/۰۴	۷/۰۲	* ۰/۰۰۱
	تمرین	۲۲۴/۷±۴/۵۱	۱۷±۱۸۰/۵۹	۹/۰۵	* ۰/۰۰۱
	توام	۲۲۰/۸±۱۶/۴	۲۰۶/۹±۱۶/۸۶	۳/۹۴	* ۰/۰۰۲

جدول ۳- اثر تعاملی عامل های وضعیت تمرین بر آنزیم های پلاسما

شاخص	گروه	($\bar{x} \pm SD$)
سویر اکسید دسمیوتاز بافت کلیوی (واحد بین المللی بر میلی لیتر)	کنترل سالم	۶۰/۰±۳۹/۲۹
	کنترل دیابتی	۶۷/۲±۵۴/۶۲
	کلرلا	۶۴/۰±۷۶/۵۴
	تمرین	۶۵/۰±۲۶/۶۲
	توام	۶۳/۲±۶۲/۲۵
کاتالاز بافت کلیوی (واحد بین المللی بر میلی لیتر)	کنترل سالم	۴۷/۰±۱۸/۵۲
	کنترل دیابتی	۷۱/۰±۹۵/۳۲
	کلرلا	۶۴/۰±۲۲/۴۲
	تمرین	۶۵/۱±۳۸/۸۴
	توام	۵۸/۰±۴۱/۹۲
مالون دی آلدئید کلیه (نانومول بر میلی گرم)	کنترل سالم	۵/۰±۲۳/۴۸
	کنترل دیابتی	۵/۰±۷۴/۳۵
	کلرلا	۶/۰±۹۱/۳۸
	تمرین	۶/۰±۱۲/۴۴
	توام	۱۲/۰±۲۳/۳۸

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که بعد از دوره مداخله مقدار آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در همه گروه های دیابتی، به طور معنی داری بیشتر از گروه سالم غیر دیابتی (گروه کنترل سالم) بوده و هر سه نوع مداخله باعث مقدار افزایش آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز ناشی از دیابت شده است ($P < 0/05$). اگر چه تفاوتی بین مقدار تاثیر تمرین، مکمل و اثر توأم وجود نداشت. با این که در مورد تاثیر تمرین و مصرف توأم کلرلا در بافت کلیه مدل های حیوانی اطلاعات زیادی در دسترس نیست، ولی در مدل موش به طور مشابهی گزارش شده است که القای دیابت سبب افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در مغز می شود، در حالی که در کبد فعالیت این آنزیم کاهش می یابد (۲۴). در آن تحقیق (۲۴) نتیجه گیری شده است که عامل دیابت، افزایش مختصری در آسیب اکسایشی مغز (آسیب ناشی از تنش اکسیداتیوی) ایجاد می کند، در حالی که نرخ آسیب در قلب و کلیه ها بیشتر است و در عین حال، نرخ آسیب اکسایشی ناشی از دیابت، در کبد و عضله کمتر می باشد. به نظر می رسد که برخی از بافت ها به میزان بیشتری تحت تاثیر رادیکال های آزاد قرار می گیرند. بنابراین ممکن است در مراحل اولیه دیابت نیز خیلی سریع در کلیه و قلب افزایش فعالیت آنزیم های ضد اکسایشی مشاهده شود (۲۴). در مطالعه آنجلس و همکاران (۱۶) در عضله موش های صحرایی، همبستگی مثبتی بین فعالیت کاتالاز و شاخص های استرس اکسیداتیو مشاهده کردند، به طوری که با افزایش استرس اکسیداتیو، مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز نیز افزایش یافت. لذا در این پژوهش، القای دیابت منجر به افزایش استرس اکسایشی در کل موش ها شده است و این افزایش (مواجهه با گونه های فعال اکسیژن در بافت کلیه)، با افزایش جبرانی در فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز همراه گردید. به بیان دیگر این وضعیت

پاتوفیزیولوژیکی تنش اکسیداتیو) حاکی از آن است که بافت کلیه در نتیجه استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت با تنظیم افزایشی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، در صدد کاهش مقدار آنیون های رادیکال و به حداقل رساندن عوارض سوء استرس اکسایشی ناشی از القای دیابت می باشد. با این حال، در هر سه مداخله مورد بررسی شامل مصرف کلرلا، تمرین و اثر توأم، مقدار فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز کمتر از گروه کنترل دیابتی بود. به بیان دیگر در اثر مواجهه با هر سه مداخله مورد بررسی فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز رو به سوی بازگشت به شرایط کنترل طبیعی داشته است (فید بک منفی). امروزه اثرات ضد استرس اکسیداتیوی و فوائد تمرین ورزشی هدفمند به خوبی مشخص گردیده است (۴۲، ۱۷). فعالیت ورزشی با افزایش نیاز به ATP، متابولیسم هوازی و یا بی هوازی همراه است که به افزایش تشکیل گونه های فعال اکسیژن منجر می شود. اثرات بازدارنده ورزش منظم حداقل تا اندازه ای به سازگاری های ناشی از استرس اکسایشی مربوط است. پاسخ های سازشی مربوط به چالش اکسایشی ورزش احتمالاً فقط به سطح تولید گونه های فعال اکسیژن مربوط نیست، بلکه عمدتاً به تحریک افزایش آنتی اکسیدان ها و تحریک فعالیت آنزیم های مسئول ترمیم صدمات اکسایشی مربوط است. به علاوه به نظر می رسد که اثرات مربوط به چالش اکسایشی ورزش حالت سیستمیک و داشته باشند (۳۶). در یک تحقیق مشاهده شده است که تمرینات ورزشی احتمالاً با کاهش رادیکال های سوپر اکسید تاثیر مثبتی بر هیپوکامپ موش ها دارد (۳۹). در پژوهشی دیگر نیز پیشنهاد شد که با این که ورزش هوازی پراکسیداسیون لیپیدی را در بافت مغز تغییر نمی دهد، ولی در شرایط دیابتی سبب بهبود دفاع ضد اکسیداتیوی می شود (۳۶). از سوی دیگر در بررسی نتایج مطالعه حاضر، در مورد جلوگیری از افزایش

رادر شرایط دیابت تایید کرده که مکانیسم احتمالی توجیه کننده این تغییرات به افزایش غلظت گلوکز (هایپرگلیسمی) برشمرده شده است (۴۰، ۲۸، ۶). در تحقیق علی احمد و همکاران (۲۰۱۲) در رابطه با مصرف مکمل کلرلا درموش های ۶ تا ۱۲ ماهه گزارش شده است که مکمل کلرلا تاثیری بر فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز هیچ یک از گروه ها ندارد، ولی سبب افزایش فعالیت GPx و کاهش فعالیت کاتالاز در حیوانات میانسال و جوان شده است. هم چنین مکمل کلرلا در تمام گروه ها مقدار MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داده است (۱۳، ۱۰). در مطالعات پیشین تاثیر ضد اکسیداتیوی گونه های مختلف میکروآلگانه (مانند کلرلا، اسپروولی ناودونالیا) که حاوی ترکیبات ضد اکسیدانی موثر می باشند، بررسی و گزارش شده است و این مکمل ها به عنوان منابع مقبول ضد اکسیدان معرفی می شوند (۴۳، ۲۰). بسیاری از مطالعات اثرات مفید فیزیولوژیکی کلرلا در برابر اکسایش، عفونت های ویروسی - باکتریایی و هم چنین کاهش وزن، اثرات پایین آورنده قند خون و کلسترول خون را گزارش کرده اند (۴۱، ۳۳، ۳۱، ۱). در بخش دیگر نتایج با این که بعد از دوره مداخله، سطوح مالون دی آلدئید پلاسمای هر دو گروه کلرلا و توام بیشتر از گروه های کنترل سه ماهه و شش بود، در گروه یک که فقط تمرین انجام داده بودند تفاوتی با گروه های کنترل وجود نداشت. با این حال، در گروه توام افزایش بیشتری در شاخص های آنزیمی، نسبت به گروه های کلرلا و تمرین به تنهایی مشاهده شد. به نظر می رسد، این مشاهدات می تواند حاکی از اثر سوء مصرف آن ها به طور توام به علت تاثیر گذاری بر نرخ پراکسیداسیون لیپیدها باشد. به بیان دیگر اگر چه در کل، در مورد فعالیت آنزیم های ضد اکسیداتیوی تاثیر مثبت مصرف کلرلا و تمرین و اثر توام این دو را بر بافت کلیه موش ها مشخص گردید، ولی در مورد

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تفاوتی بین مقدار تاثیر تمرین، مکمل و اثر توام وجود نداشت، با این حال در مورد کاتالاز، با این که تفاوتی بین سطح فعالیت آنزیمی تاثیر تمرین با مکمل وجود نداشت، ولی اثر هم کوشی مصرف مکمل همراه با تمرین در جلوگیری از افزایش مقدار آنزیم کاتالاز، بیشتر از هر دو مداخله تمرین و مکمل بود. با توجه به تطابق یافته این مطالعه با دو مطالعه بررسی شده (۳۹، ۳۶) می توان نتیجه گیری کرد که هم عامل تمرین، و هم عامل مکمل کلرلا (و اثر هم کوشی این دو عامل) می تواند سبب بهبود وضعیت اکسیداتیوی و یا دست کم کاهش تنش اکسیداتیوی ناشی از دیابت شده باشد. بنابر این نیازی به تحریک آنزیمی و فعالیت بیشینه سوپر اکسید دیسموتاز و یا کاتالاز در بافت کلیه وجود ندارد. بدین ترتیب پس از مواجهه با هر سه شرایط مورد تحقیق، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز رو به کاهش گذاشته شده است. لازم به ذکر است که از نظر سازوکار بیوشیمیایی، عارضه دیابت سبب فعالیت آنزیمی بیشتر سوپر اکسید دیسموتاز در سطح میتوکندریایی شده و این افزایش سوپراکسیدها علت اصلی آسیب بافتی در دیابت محسوب می شود (۲۳). در واقع در سطح سلولی و در شرایط دیابتی که دارای غلظت بالای گلوکز درون سلولی می باشند، مقدار پیرووات مشتق از گلوکز بیشتری در چرخه کربس اکسید شده که سبب افزایش جریان ناقلین الکترون ($FADH_2$ و $NADH$) به زنجیره انتقال الکترون می شود. بنابراین انتقال الکترون در داخل کمپلکس III مهار می گردد و سبب افزایش تولید سوپراکسید می گردد (۲۵). آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به طور انتخابی با کاتالیزه کردن، دیسموت شدن رادیکال های آنیون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن (آب اکسیژنه یا H_2O_2) سبب خنثی شدن آن ها می شود (۲۲). تحقیقات اولیه هم افزایش استرس اکسایشی در گلبول های قرمز، کلیه، کبد، مغز و قلب

کلرلا می توان نتیجه گرفت که این ترکیب می تواند باعث کاهش تنش اکسیداتیوی ناشی از دیابت در کلیه حیوانات دیابتی شود. البته انجام این بررسی با تاکید بر مدل انسانی و تنظیم برنامه های غذایی روزانه پیشنهاد می گردد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر حاوی بخشی از یافته های پایان نامه کارشناسی ارشد است نویسنده گان مقاله بدین وسیله از افراد مشارکت کننده در مراحل آزمایشی شامل عوامل کمک کننده انجام این تحقیق تشکر می کنند.

آلوکسان. پژوهش نامه فیزیولوژی ورزشی کاربردی. دوره ۱۱، شماره ۲۲، ص ۷۵-۸۶

۵- سلیمی، ز.، حیدری، ر.، نجاتی، و.، اسکندری، آ. ۱۳۹۱. اثر حفاظتی عصاره آبی میوه سماق بر فعالیت آنزیم کاتالاز و هیستوپاتولوژی کبد در رت های دیابتی شده با آلوکسان. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، دوره ۶، شماره ۲، ص ۴۴-۵۲.

۶- معینی فرد، م.، هدایتی م. ۱۳۹۳. آلوکسان و استرپتوزوتوسین، ابزار پژوهش دیابت. پژوهش نامه فیزیولوژی ورزشی کاربردی. سال دهم. شماره بیستم ص ۱۳-۲۲.

7. Afkhami Ardakani, M., Rashidi, M. (2005). Type 2 diabetes and its risk factors. JRUMS, 4(4);348-365.

8. Azzat, O., Yap, S. W., Sopia, H., Madiha, M., Hazreen, M., Shailah, A., Musalmah, M. (2010). Modulation of oxidative stress by *Chlorella vulgaris* in streptozotocin (STZ) induced diabetic Sprague-Dawley rats. Advances in Medical Sciences, 55(2); 281-288.

9. Aksu, I., Topcu, A., Camsari, U. M., Acikgoz, O. (2009). Effect of acute and chronic exercise on oxidant-antioxidant equilibrium in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. Neuroscience letters, 452(3); 281-285.

مقدار مالون دی آلدئید که شاخص نشانگر مقدار پراکسیداسیون لیپیدی است، اثرات مغایری مشاهده شد. این مشاهدات اگرچه که به دلیل وجود محدودیت های روش شناختی در این پژوهش و هم چنین عدم وجود شواهد کافی نیازمند بررسی های بیشتری می باشند، پیشنهاد می شود که مصرف کلرلا دست کم برای سلامت بافت کلیه موثر نیست، البته اثبات این یافته و مکانیسم مربوطه نیاز به پژوهش های تکمیلی دارد. با توجه به یافته های مطالعه حاضر و سایر پژوهش های انجام شده در رابطه با ترکیب تمرین هوازی با مصرف

منابع

۱- اسماعیلی، م.، بهرام، د.، فتح الهی، ش.، فضل الله، د. ۱۳۹۷. اثر تمرینات هوازی همراه با مکمل یاری کلرلا بر مقاومت به انسولین و سطح سرمی گرلین زنان چاق. مجله زنان، مامایی و نازایی ایران ۲۱، ۱۰ ص ۴۸-۵۱.

۲- خاکی، آ.، فرنام، ع.، احمدی آشتیانی، ح.، رضازاده، ش.، رستگار، ح.، آقامحمدی، ر. ۱۳۸۹. بررسی اثرات عصاره ریحان بر میزان آپوپتوزیس بافت رحم در موش های صحرایی تحت تاثیر در میدان های الکترومغناطیسی. فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی، جلد ۱ شماره ۳۳ ص ۴۹-۵۷.

۳- دوستار، ی.، رضایی، ع.، مهاجری، د. ۱۳۹۰. اثرات عصاره دانه انگور بر آپوپتوز سلول های قلبی در موش های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. دوره ۲۱، شماره ۳، ص ۱۶۸ تا ۱۷۴.

رشید پور، ف.، فرزادنگی پ.، تقی پور، م. ۱۳۹۴. اثر تعاملی تمرین شنا و عصاره برگ گیاه تلکا (آربوتین) بر وضعیت اکسیدانی و آنتی اکسیدانی تام بافت کبد رت های دیابتی شده با

10. Aliahmat, NS., Noor, MRM., Yusof, WJW., Makpol, S., Ngah, WZW., Yusof, YAM. (2012). Antioxidant enzyme activity and malondialdehyde levels can be modulated by *Piper betle*, tocotrienol rich fraction and *Chlorella vulgaris* in aging C57BL/6 mice. *Clinics*, 67(12);1447-1454.
11. Alipour, M., Salehi, I., Soufi, F. G. (2012). Effect of exercise on diabetes-induced oxidative stress in the rat hippocampus. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 14(4); 222- 228.
12. Amano, Y., Kawakubo, K., Lee, J., Tang, A. (2004). Correlation between dietary glycemic index and cardiovascular disease risk factors among Japanese women. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(11);1472- 1478.
13. Baynes, J. W. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, 40(4); 405-412.
14. Cai, X., Yang, Q., Wang, S. (2015). Antioxidant and hepatoprotective effects of a pigment-protein complex from *Chlorella vulgaris* on carbon tetrachloride-induced liver damage in vivo. *RSC Advances*, 5(116);96097-96104.
15. Chin, S-F., Ibahim, J., Makpol, S., Hamid, NAA., Latiff, AA., Zakaria, Z. (2011). Tocotrienol rich fraction supplementation improved lipid profile and oxidative status in healthy older adults: A randomized controlled study. *Nutrition & metabolism*, 8(1); ID: 42. doi: 10.1186/1743-7075-8-42.
16. De Angelis, K., Cestari, I., Barp, J., Dall'Ago, P., Fernandes, T., Homem de Bittencourt, P. (2000). Oxidative stress in the latissimus dorsi muscle of diabetic rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 33(11);1363-1368.
17. De Sousa, C. V., Sales, M. M., Rosa, T. S., Lewis, J. E., De Andrade, R. V., Simões, H. G. (2017). The antioxidant effect of exercise: a systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 47(2); 277-293.
18. Dhindsa, R. S., Matowe, W. (1981). Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation. *Journal of experimental botany*, 32(1); 79-91.
19. Eidi, M., Eidi, A., Zamanizadeh, H. (2005). Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(3); 310-313.
20. El-Baky, H. H. A. (2009). Enhancing antioxidant availability in grains of wheat plants grown under seawater-stress in response to microalgae extracts treatments. *African Journal of Biochemistry Research*, 3(4); 077-083.
21. Fisher-Wellman, K., Bloomer, R. J. (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic medicine*, 8(1); article ID: 1.
22. Fridovich, I. (1983). Superoxide dismutases: regularities and irregularities. *Harvey lectures*, 79; 51-75.
23. Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Shimomura, I. (2017). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, 114(12); 1752-1761.
24. Genet, S., Kale, RK., Baquer, NZ. (2002). Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: effect of vanadate and fenugreek (*Trigonella foenum graecum*). *Molecular and Cellular Biochemistry*, 236(1-2);7-12.
25. Giacco, F., Brownlee, M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation research*, 107(9); 1058-1070.
26. Gordon, L. A., Morrison, E. Y., McGrowder, D. A., Young, R., Fraser, Y. T. P., Zamora, E. M., Irving, R. R. (2008). Effect of exercise therapy on lipid profile and oxidative stress indicators in patients with type 2 diabetes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 8(1); article ID: 21.
27. Guzman, S., Gato, A., Calleja, J. (2001). Anti-inflammatory, analgesic and free radical scavenging activities of the marine microalgae *Chlorella stigma tophora* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Phytotherapy Research*, 15(3); 224-230.
28. Kakkar, R., Mantha, SV., Kalra, J., Prasad, K. (1996). Time course study of oxidative stress in aorta and heart of diabetic rat. *Clinical Science*, 91(4);441-448.
29. Kei, S. (1987). Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica chimica acta*, 90(1); 37-43.
30. Kim, Y. J., Jeong, S., Kwon, S., Kim, M. K. (2009). Effect of *Chlorella vulgaris* intake on antioxidative capacity in rats oxidatively stressed with dietary cadmium. *Food Science and Biotechnology*. 18(5); 1055-1062.

31. Lee, S. H., Kang, H. J., Lee, H.-J., Kang, M.-H., Park, Y. K. (2010). Six-week supplementation with *Chlorella* has favorable impact on antioxidant status in Korean male smokers. *Nutrition*, 26(2); 175-183.
32. Mizoguchi, T., Takehara, I., Masuzawa, T., Saito, T., Naoki, Y. (2008). Nutrigenomic studies of effects of *Chlorella* on subjects with high-risk factors for lifestyle-related disease. *Journal of Medicinal Food*, 11(3); 395-404.
33. Nakashima, Y., Ohsawa, I., Konishi, F., Hasegawa, T., Kumamoto, S., Suzuki, Y., Ohta, S. (2009). Preventive effects of *Chlorella* on cognitive decline in age-dependent dementia model mice. *Neuroscience Letters*, 464(3), 193-198.
34. Park, SW., Goodpaster, BH., Lee, JS., Kuller, LH., Boudreau, R., De Rekeneire, N. (2009). Excessive loss of skeletal muscle mass in older adults with type 2 diabetes. *Diabetes care*, 32(11); 1993-1997.
35. Panahi, Y., Ghamarchehreh, M., Beiraghdar, F., Zare, R., Jalalian, H., Sahebkar, A. (2012). Investigation of the effects of *Chlorella vulgaris* supplementation in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized clinical trial. *Hepato-gastroenterology*, 59(119); 20-29.
36. Radak, Z., Chung, H. Y., Goto, S. (2008). Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(2); 153-159.
37. Rarick, KR., Pikosky, MA., Grediagin, A., Smith, TJ., Glickman, EL., Alemany, JA. (2007). Energy flux, more so than energy balance, protein intake, or fitness level, influences insulin-like growth factor-I system responses during 7 days of increased physical activity. *Journal of Applied Physiology*, 103(5); 1613-1621.
38. Shibata, S., Hayakawa, K., Egashira, Y., Sanada, H. (2007). Hypocholesterolemic mechanism of *Chlorella*: *Chlorella* and its indigestible fraction enhance hepatic cholesterol catabolism through up-regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase in rats. *Bioscience, Biotechnology, And Biochemistry*, 71(4); 916-925.
39. Shibata, S., Natori, Y., Nishihara, T., Tomisaka, K., Matsumoto, K., Sansawa, H., Nguyen, V. C. (2003). Anti oxidant and anti-cataract effects of *Chlorella* on rats with streptozotocin-induced diabetes. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 49(5); 334-339.
40. Van Dam, PS., Gispen, WH., Bravenboer, B., Van Asbeck, BS., Erkelens, DW., Marx, JJ. (1995). The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic ions. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 11(3); 181-192.
41. Yamagishi, S., Nakamura, K., Inoue, H. (2005). Therapeutic potentials of unicellular green alga *Chlorella* in advanced glycation end product (AGE)-related disorders. *Medical hypotheses*, 65(5); 953-955.
42. Wuorinen, EC., Page, R., Wuorinen, SH. (2017). Acute and chronic varied exercise intensity effects on total antioxidant capacity and protein carbonylation. *The FASEB Journal*, 31(1 Supplement); 839.26-36.
43. Zhang, D., Lee, Y. (1997). Enhanced accumulation of secondary carotenoids in a mutant of the green alga, *Chlorococcum* sp. *Journal of applied phycology*, 9(5), 459-463.



Effects of Aerobic Training and Chlorella Consumption on Renal Antioxidant Indices in Male Diabetic Rats

A.Emami¹, **A. Sahranavard Gargari**²

1. MSc in Physical Education, Dept. of Physical Education and Sports Sciences, Faculty of Humanities and Education, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

2. Assistant Prof., Department of Physical Education, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran.
amineh.sahranavard@yahoo.com

Received:2020.6. 1

Accepted: 2020.4.3

Abstract

Inroduction & Objective: The aim of this study was to investigate the effects of eight weeks of aerobic exercise and chlorella supplementation on renal antioxidants in diabetic rats.

Materials and Methods: 50 male adult wistar rats were randomized into healthy control, diabetic control, training, supplement (chlorella) and training-supplementation(synergistic intervention) groups and the diabetes induced using intraperitoneal injection of streptozocin (STZ). Throughout the intervention period, chlorella extract was consumed daily with the dosage equal to 5% of body weight prior to the morning meal for eight weeks and the training was included on treadmill running for 5 days/week (on a smart automated animal device). The data were compared using two way factorial and one way ANOVA.

Results: In all groups the higher superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities as well as lower body weight compared to healthy controls were remarkable following to intervention period ($P<0.05$), however; all three interventions diminished the diabetes induced increases in the activity of these enzymes as well as body weight reductions ($P<0.05$). Furthermore, while there were no between group differences in the effects from training, chlorella supplementation or synergistic intervention upon SOD activity, however; the synergistic effect was better than both them to diminish diabetes induced changes in CAT activity and/or body weight. there is no significant differences were observed in plasma glucose level in between the training and synergistic intervention groups with healthy controls, while a significant difference were demonstrated for these two groups compared to chlorella group ($P<0.05$).

Conclusion: These elevated enzymes activities could probably attributable to the amelioration of the oxidative stress by the organism in the kidneys and the higher lipid peroxidation and hazardous effect from diabetes on kidneys. However; because of the lack of similar evidences and some methodological limitations in this study, more research remains to be done in this area.

Key word: Aerobic Training, Chlorella, diabetes, kidney.