

## اثر شنا و مکمل آربوتین بر سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

### و استرس اکسیداتیو قلب موش‌های صحرائی دیابتی

دکتر پروین فرزانی<sup>۱</sup>، دکتر معصومه حبیبیان\*<sup>۲</sup>، سیدمهدی انوری<sup>۳</sup>

۱- دانشیار، گروه تربیت بدنی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران. ۲- استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران.

۳- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

#### چکیده

**زمینه و هدف:** استرس اکسایشی نقش مهمی در تغییرات ساختاری و عملکرد میوکارد ناشی از دیابت ایفا می‌کند. این مطالعه به منظور تعیین اثر شنا و مکمل آربوتین بر سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و استرس اکسیداتیو قلب موش‌های صحرائی دیابتی انجام شد. **روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۴۲ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به شش گروه کنترل، دیابت، آربوتین، دیابت+آربوتین، دیابت+تمرین و دیابت+ترکیبی تقسیم شدند. دیابت با تزریق درون صفاقی آلوسکان (یک دوز  $90 \text{ mg/kg/bw}$ ) القا شد و مکمل آربوتین ( $50 \text{ mg/kg/bw}$ ) ۵ روز در هفته به صورت درون صفاقی تزریق گردید. پروتکل ورزشی شامل شش هفته شنا به مدت ۶-۳۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته بود. سطح مالون‌دی‌آلدنید، کاتالاز و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز قلب موش‌های صحرائی تعیین شد. **یافته‌ها:** دیابت منجر به افزایش معنی‌دار سطح مالون دی‌آلدنید، کاهش سطح کاتالاز و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز قلبی شد ( $P < 0/05$ ). شش هفته مصرف آربوتین، تمرین شنا و ترکیب این دو روش با افزایش سطح کاتالاز و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز قلبی همراه بود؛ اما کاهش سطح مالون دی‌آلدنید قلبی تنها در گروه‌های ترکیبی و تمرین معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). **نتیجه‌گیری:** هر دو مداخله فعالیت منظم ورزشی (شنا) و مکمل آنتی‌اکسیدانی (آربوتین) ممکن است به واسطه اثرات آنتی‌اکسیدانی خود از بافت قلبی در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت حمایت نمایند و ترکیب این دو شیوه درمانی ممکن است با اثرات هم‌افزایی همراه باشد.

**کلید واژه‌ها:** دیابت، آربوتین، تمرین هوازی، مالون دی‌آلدنید، سوپراکسید دیسموتاز

\* نویسنده مسؤول: دکتر معصومه حبیبیان، پست الکترونیکی [habibian\\_m@yahoo.com](mailto:habibian_m@yahoo.com)

نشانی: قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تلفن ۳۰-۲۵-۴۲۱۴۴۵۰۲۵-۰۱۱، شماره ۲۱۴۵۱۱۷

وصول مقاله: ۱۳۹۳/۸/۱۱، اصلاح نهایی: ۱۳۹۳/۱۱/۱۴، پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۱۵

#### مقدمه

نقص‌های اولیه‌ای هستند که در کاردپومیوپاتی قلبی، مقدم بر اختلالات قلبی بالینی مداخله می‌نمایند (۶). بر اساس شواهد تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی در قلب دیابتی افزایش می‌یابد (۷-۹). استرس اکسیداتیو که حاصل عدم تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی و پاسخ جبرانی از شبکه آنتی‌اکسیدانتی درون‌زا است؛ با تجمع لیپید قلبی و اکسیداسیون اسیدچرب میتوکندریایی همراه است (۱۰). به عبارت دیگر هاپیر گلیسمی و هاپیر لیپیدی، پرفشارخونی و التهاب ناشی از استرس اکسیداتیو، عوامل خطرزای توسعه پاتوژنز میکرو عروقی در میوکارد دیابتی هستند که منجر به بیان ژنی غیرطبیعی و فعال‌سازی مسیرهای منجر شونده به مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده میوکارد می‌شوند (۱۱). علاوه بر این گونه‌های اکسیژن واکنشی می‌توانند منجر به تغییر و تبدیل بیان ژنی

دیابت یکی از اختلالات متابولیکی مهم است که جمعیت وسیعی از مردم جهان گریبانگیر آن می‌شوند. به طوری که تعداد افراد مبتلا به دیابت تا سال ۲۰۵۰ حدود ۳۰۰ میلیون نفر برآورد شده است (۱). بیماری‌های قلبی عروقی به عنوان عامل اصلی ۸۰ درصد از مرگ و میر در افراد دیابتی شناخته شده است (۲). به علاوه غیرطبیعی شدن عملکرد و ساختار قلب ناشی از دیابت ممکن است مستقل از بیماری شریان کرونری و آترواسکلروز رخ دهد (۳ و ۴). دیابت می‌تواند هیپر تروفی قلبی را توسعه بخشیده و قلب را مستعد ابتلا به صدمات ایسکمی سازد و در نهایت خطر ناتوانی یا سکنه قلبی را افزایش بخشد (۵). مکانیسم‌های متعددی مانند تغییرات ساختاری میوکارد، متابولیسم و مسیر پیام‌دهی کلسیم از جمله

(حاوی آربوتین معادل ۱۲/۶ درصد وزن گیاه خشک) مشاهده شده است (۲۴). لذا با توجه آسیب کمتر و جذابیت بیشتر ورزش شنا و مقادیر قابل توجه آربوتین موجود در برگ درخت گلابی وحشی و از سوی دیگر شیوع روز افزون دیابت و هراس از عوارض مختلف حاصل از جمله میوکاردیوپاتی دیابت (۳-۱)؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر شنا و مکمل آربوتین بر سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و استرس اکسیداتیو قلب موش‌های صحرایی دیابتی انجام گردید.

### روش بررسی

**حیوانات آزمایشگاهی:** این مطالعه تجربی روی ۴۲ سر موش صحرایی نر بالغ (۸ هفته‌ای) از نژاد ویستار با دامنه وزنی ۲۰-۱۹۵ گرم انجام شد.

حیوانات از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و با اختلاف وزنی کم در شش قفس مختلف در آزمایشگاه، به صورت مقدماتی دسته‌بندی شدند.

در طول مطالعه حیوانات در قفس‌های پلی‌اتیلنی به ابعاد ۱۵×۱۵×۳۰ سانتی‌متر، دمای ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵±۵ درصد به صورت ۴ سر موش صحرایی در هر قفس با حفظ چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و به آب و غذای پلت (ساخت شرکت بهرور کرج، به مقدار ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن) آزادانه دسترسی داشتند که به‌صورت وزن کشی هفتگی، در اختیار حیوانات قرار داده شد.

**گروه‌بندی:** برای تعیین گروه‌های تجربی و کنترل، از موش‌های موجود در هر یک از قفس‌ها (با مقادیر وزنی نزدیک به هم) به صورت تصادفی یک نمونه از هر قفس انتخاب و در یکی از شش گروه هفت‌تایی مطالعه شامل کنترل، دیابت، آربوتین، دیابت+آربوتین، دیابت+تمرین و دیابت+ترکیبی قرار گرفتند.

دیابت از طریق تزریق داخل صفاقی یک دوز آلوکسان مونوهیدرات (۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و پس از حل نمودن در سالیان ۹/۰ درصد) متعاقب ۱۲ ساعت ناشتایی به حیوانات القا شد. به منظور تشخیص دیابتی شدن حیوانات ۷۲ ساعت بعد از تزریق آلوکسان یک قطره نمونه خونی از سینوس چشم در حالت ناشتایی گرفته شد و با استفاده از دستگاه گلوکومتر (مدل Accu-Chek ساخت آلمان) سطح گلوکز سرم اندازه‌گیری شد. غلظت گلوکز سرم بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به عنوان شاخص القای دیابت در موش‌ها در نظر گرفته شد (۲۵). به گروه کنترل سالیان ۹/۰ درصد با همان حجم تزریق گردید. مکمل پودر آربوتین با درجه خلوص بالای ۹۶ درصد (خریداری شده از شرکت سیگما) به صورت داخل صفاقی با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن با ۲ سی‌سی سالیان محلول شد و پنج روز در هر هفته و به مدت ۶ هفته در ۲ ساعت قبل از تمرین به حیوانات تزریق

زنجیره سنگین میوزین قلبی از فرم آلفا به بتا از طریق فعال‌سازی عوامل هسته‌ای کاپایی (NF-kB) شوند و درمان با آنتی‌اکسیدانت‌ها منجر به مهار این تبدیلات می‌شود (۷). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز اولین خط دفاعی در مقابل آسیب قلبی ناشی از گونه‌های اکسیژن واکنشی هستند (۱۲). دیابت با تغییرات دگرگون‌کننده‌ای در بافت‌های مختلف بدن از جمله قلب همراه است که این عوارض بیشتر به علت افزایش استرس اکسیداتیو است (۱۳ و ۱۴). مطالعات قلبی نشان داده‌اند سطح پراکسیداسیون لیپیدی در بافت قلبی موش‌های صحرایی دیابتی افزایش و میزان آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز قلبی کاهش قابل ملاحظه‌ای یافته‌اند (۱۳ و ۱۴).

در دهه‌های اخیر فعالیت ورزشی تنها و یا همراه با رژیم غذایی و دارو به عنوان راهکارهای قوی برای مدیریت و کنترل دیابت توصیه شده است (۲). فعالیت ورزشی به واسطه خواص چندگانه می‌تواند حداقل منجر به کاهش استفاده از داروهای ضد دیابتی و تقلیل اثرات جانبی آنها در افراد دیابتی گردد (۱۵). براساس شواهد موجود تمرینات مزمن شنا با کاهش اختلال عملکرد انقباضی و افزایش اندازه میوسیت‌های بطن چپ موش‌های دیابتی همراه بوده است (۱۶). همچنین کاهش سطح استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های قلبی در کاردیومیوپاتی ناشی از استرس اکسیداتیو پس از تیمار مزمن با آنتی‌اکسیدان‌ها در مطالعات حیوانی مشاهده شده است (۱۷ و ۱۸). اگرچه اثرات ضد اکسایشی و ضد دیابتی تمرینات ورزشی در مطالعات قبلی تایید شده است (۲۱-۱۹)؛ با این وجود مکانیسم تاثیر برنامه شنای فزاینده تنها و یا همراه با مکمل آنتی‌اکسیدانی آربوتین بر شاخص‌های اکسایشی بافت قلبی در مراحل ابتدایی دیابت مشخص نیست. علاوه بر این تغییرات ساختاری و عملکردی که در مراحل بعدی دیابت رخ می‌دهد؛ از پاسخ‌های قلبی حاد به افزایش ناگهانی سطح گلوکز در مراحل اولیه دیابت منتج می‌شود (۱۲). آلوکسان یکی از آنالوگ‌های سمی گلوکز است که در سلول‌های بتا از طریق انتقال دهنده گلوکز ۲ تجمع می‌یابد و در حضور تیول‌های درون سلولی به ویژه گلوکاتایون، منجر به تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی می‌شود. اتواکسیداسیون مواد حاصل از احیای آلوکسان با تولید رادیکال‌های آزاد منجر به مرگ سلول‌های بتا می‌شوند (۲۲). آربوتین (آربوتوزید) یک هیدروکینون گلیکوزید است که منشا گیاهی دارد و مطالعات قبلی نشان داده پوست و برگ‌های سبز درخت گلابی وحشی (یا درخت تلکا که در شمال ایران می‌روید) حاوی آربوتین است که با خواص آنتی‌اکسیدانی همراه است (۲۳). به‌علاوه کاهش سطح لیپیدی و گلوکز خون و نیز افزایش وضعیت آنتی‌اکسیدانی در موش‌های هایپر گلابسمیک تیمار شده با عصاره برگ گیاه تلکا

سوپراکسید دیسموتاز گروه‌های مورد مطالعه در جدول یک آمده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار هر سه متغیر در گروه‌های مختلف متعاقب ۶ هفته مداخله بود ( $P < 0/001$ ).

القای دیابت منجر به افزایش آماری معنی‌دار سطح مالون دی‌آلدئید قلبی (۲۲/۶۱ درصد) و کاهش آماری معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۱۶/۹۶ درصد) و غلظت کاتالاز (۲۹/۹۴ درصد) قلب در مقایسه با گروه کنترل گردید ( $P < 0/001$ ). شش هفته انجام تمرین شنا (۲۲/۰۳ درصد،  $P < 0/002$ )، مکمل‌سازی با آربوتین (۷/۶۵ درصد،  $P = 0/۶۷۳$ ) و ترکیبی از این دو مداخله (۴۱ درصد،  $P < 0/001$ ) با کاهش سطح مالون دی‌آلدئید قلبی موش‌های صحرایی دیابتی همراه بود (جدول یک). شش هفته انجام تمرین شنا (۹۵ درصد،  $P < 0/001$ )، مکمل‌سازی با آربوتین (۱۱۱ درصد،  $P < 0/002$ ) و ترکیبی از این دو مداخله (۱۵۰ درصد،  $P < 0/001$ ) با افزایش سطح کاتالاز در موش‌های صحرایی دیابتی همراه بود (جدول یک). شش هفته انجام تمرین شنا (۲۲/۶۳ درصد،  $P < 0/001$ )، مکمل‌سازی با آربوتین (۲۵ درصد،  $P < 0/001$ ) و ترکیبی از این دو مداخله (۲۹/۵۸ درصد،  $P < 0/001$ ) با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز قلبی موش‌های صحرایی دیابتی همراه بود (جدول یک).

بین اثر مداخله‌های تمرین و مکمل‌سازی با آربوتین در کاهش سطح مالون دی‌آلدئید و افزایش سطح سوپراکسید دیسموتاز قلبی مشاهده نشد. در حالی که اثر تمرین بر افزایش سطح کاتالاز به‌طور معنی‌داری بیشتر از مکمل‌سازی با آربوتین بود ( $P < 0/05$ ).

مداخله ترکیبی با کاهش بیشتر سطح استرس اکسیداتیو در مقایسه با هر یک از مداخله تمرین و مکمل‌سازی با آربوتین ( $P < 0/001$ ) و افزایش قابل توجه میزان کاتالاز در مقایسه با دو مداخله دیگر و حتی نسبت به گروه‌های کنترل و آربوتین تنها همراه بود ( $P < 0/001$ ). اختلاف آماری معنی‌داری بین اثر این سه مداخله بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز قلبی مشاهده نشد. هر چند تیمار با مکمل‌سازی با آربوتین با افزایش آماری معنی‌دار سطح کاتالاز در موش‌های سالم همراه بود ( $P < 0/001$ ).

گردید (۲۶).

**برنامه تمرینی:** به حیوانات گروه‌های دیابت+تمرین و ترکیبی یک هفته قبل از شروع پروتکل اصلی برای آشنایی با آب، پنج دقیقه تمرین در روز داده شد. برنامه تمرینی اصلی شامل شنای اجباری در مخزن آبی به ابعاد  $۷۰ \times ۹۰ \times ۱۵۰$  سانتی‌متر، دمای  $2 \pm 32$  درجه سانتی‌گراد، ۵ روز در هفته، به مدت ۶ دقیقه در هفته اول بود که تا هفته ششم و مدت ۳۵ دقیقه در جلسه ادامه یافت (۲۷).

**بافت‌برداری و آنالیز بیوشیمیایی:** ۷۲ ساعت بعد از آخرین مداخله حیوانات با استفاده از تزریق درون صفاقی کشامین ۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش و سپس کشته شدند. بافت قلب به دقت جدا شد و در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

بافت فریز شده پس از پودر شدن در بافر پروتئاز (PBS, PH 7.4) هموژنیزه شد (۲۸). سطح پراکسیداسیون لیپیدی (مالون دی‌آلدئید) بافت قلب به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو با اندازه‌گیری مواد واکنشی تیوباربتوریک اسید توسط کیت (TBARS Cayman Chemicals CO, USA) تعیین شد. غلظت کاتالاز با روش آنزیماتیک و با استفاده از کیت تجاری (Catalase Assay kit, Cayman Chemical co) با ضریب تغییر ۵/۵ درصد و میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بافت هموژنیزه قلبی با استفاده از کیت تجاری (Superoxide Dismutase Assay Cayman Chemical co) با ضریب تغییر ۶/۱ درصد در طول موج ۵۰۵ نانومتر با روش اسپکتوفوتومتری تعیین گردید.

**تجزیه و تحلیل آماری:** از آزمون‌های کولموگروف-اسمیرنوف و لوین به ترتیب برای تعیین توزیع نرمال بودن داده‌ها و تجانس واریانس‌ها استفاده شد. تفاوت بین گروهی میانگین‌های داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه بررسی شد و از آزمون تعقیبی توکی برای تعیین محل اختلاف استفاده گردید. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS-20 با سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ انجام شد.

## یافته‌ها

میانگین و انحراف استاندارد مالون دی‌آلدئید، کاتالاز و

جدول ۱: میانگین و انحراف استاندارد مالون دی‌آلدئید، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز شش گروه مورد مطالعه

گروه‌ها	مالون دی‌آلدئید (نانومول/گرم پروتئین)	کاتالاز (نانومول/گرم پروتئین)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد/گرم پروتئین)
کنترل	$74/45 \pm 7/92$	$183/74 \pm 6/36$	$1734/28 \pm 25/43$
آربوتین	$70/50 \pm 9/80$	$220/40 \pm 10/11$	$1607/14 \pm 27/49$
دیابت	$91/29 \pm 6/10^*$	$128/71 \pm 4/78^*$	$1357/14 \pm 18/22^*$
دیابت+آربوتین	$84/30 \pm 4/27$	$250/71 \pm 11/57^{**}$	$1664/28 \pm 36/17$
دیابت+تمرین	$71/17 \pm 12/14$	$271/87 \pm 14/26^{***}$	$1697/14 \pm 21/79$
دیابت+ترکیبی	$52/57 \pm 10/01^*$	$322/43 \pm 11/03^*$	$1758/57 \pm 23/96^{**}$

\*  $P < 0/05$  نسبت به تمامی گروه‌ها، \*\*  $P < 0/05$  نسبت به آربوتین و کنترل، \*\*\*  $P < 0/05$  نسبت به آربوتین، کنترل و دیابت+آربوتین

## بحث

بر اساس یافته‌های پژوهش القای دیابت با افزایش معنی‌دار سطح مالون دی‌آلدئید و کاهش سطح کاتالاز و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بافت قلبی موش‌های دیابتی همراه بود. در حالی که شش هفته تمرین شنای منظم، مصرف آربوتین یا ترکیب مداخله‌های فوق منجر به کاهش معنی‌دار مالون دی‌آلدئید و افزایش قابل توجه پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بافت قلبی موش‌های دیابتی گردید. این نتایج بیانگر اثر مثبت این مداخله‌ها در کاهش استرس اکسیداتیو قلبی و سرکوب عوارض احتمالی ناشی از آن در بافت قلبی موش‌های صحرایی دیابتی است. در این راستا کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش استرس اکسیداتیو بافت قلب دیابتی در مطالعات حیوانی توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است (۹و۱۳و۱۴).

هایپوانسولینی در دیابت منجر به افزایش فعالیت آنزیم اسیل کوآنزیم A اکسیداز، اکسیداسیون اسیدهای چرب و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود. افزایش پراکسیداسیون لیپیدی به عملکرد بافتی از طریق کاهش حالت سیالیت غشاء و تغییر فعالیت آنزیم‌های متصل به غشاء و گیرنده‌ها، آسیب می‌رساند (۱۳). از سوی دیگر هایپرگلیسمی و هایپرلیپیدی به علت افزایش تولید میتوکندریایی رادیکال‌های آنیون سوپراکسید، گلیکوزیله شدن غیر آنزیمی پروتئین‌ها و اتواکسیداسیون گلوکز منجر به القای گونه‌های اکسیژن واکنشی می‌شوند (۲۹و۳۰). بنابراین افزایش سطح مالون دی‌آلدئید قلبی در مطالعه حاضر اشاره بر این دارد که صدمات پراکسیداسیون لیپیدی ممکن است در توسعه عوارض قلبی ناشی از دیابت مداخله نمایند و فعالیت ورزشی، تیمار با مکمل آربوتین و یا اثر ترکیبی این دو مداخله می‌تواند یک مهار کننده قوی استرس اکسیداتیو بافت قلبی در شرایط حاصل از هایپرگلیسمی محسوب شوند. در این راستا ارشادی و همکاران نشان دادند ۶ هفته تمرین شنا با افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیداتیو قلبی همراه است. در حالی که میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز هنوز هم در مقایسه با موش‌های سالم به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود (۸). همچنین Camelia و همکاران گزارش کردند پس از ۴ هفته فعالیت ورزشی شنا سطح پراکسیداسیون لیپیدی در موش‌های دیابتی تمرین کرده در مقایسه با موش‌های دیابتی غیرفعال کاهش معنی‌داری و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز پلاسمایی افزایش معنی‌داری یافته است (۹). به‌علاوه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان کاتالاز و کاهش استرس اکسیداتیو بافت قلبی در موش‌های تمرین کرده دیابتی متعاقب ۸ هفته تمرین شنای منظم به مدت یک ساعت در روز توسط صالحی و محمدی مشاهده شد که بیانگر کاهش گلیکاسیون آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یا کاهش تجمع محصولات گلیکاسیون در بافت قلبی به واسطه فعالیت‌های ورزشی

است (۳۱). همچنین اثر تمرینات مزمن مقاومتی و یا دویدن روی چرخ دوار بر کاهش سطح شاخص استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (۲۱و۳۲) که تایید دیگری بر نقش حمایت قلبی ورزش در شرایط پراسترس دیابت است. مکانیسم‌های متعددی در این اثرات حمایتی قلبی مداخله دارند که تا حدی ممکن است از طریق تغییرات رداکس میانجی‌گری شوند و شامل القا پروتئین‌های شوک گرمایی، توسعه ظرفیت آنتی‌اکسیداتیو و یا افزایش سایر مولکول‌های حمایت کننده قلبی باشند (۳۳). سوپراکسید دیسموتاز با تبدیل آنیون سوپراکسید به آب اکسیژنه، اثرات سمی این رادیکال را در واکنش‌های ثانویه کاهش می‌دهد (۳۴). آنزیم کاتالاز نیز یک عامل تعیین کننده وضعیت آنتی‌اکسیداتیو قلبی است که با غیرفعال کردن یون سوپراکسید، نقش مهمی در از بین بردن خاصیت سمی آب اکسیژنه دارد (۱۳). لذا افزایش قابل توجه سطح کاتالاز و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز متعاقب مداخله‌های تمرین و مکمل آربوتین در مطالعه ما ممکن است نشان‌دهنده اثر مداخله‌های شنا و مکمل آربوتین در کاهش و یا مهار استرس اکسیداتیو در بافت قلبی موش‌های دیابتی از مسیر افزایش سطح آنتی‌اکسیدانی باشد. با وجود این تاثیر ۸ هفته فعالیت شنا بر کاهش اختلال عملکرد انقباضی میوسیت‌های بطن چپ تا شرایط نزدیک به وضعیت طبیعی در موش‌های تمرین کرده دیابتی نیز گزارش شده است (۱۶) که نشان‌دهنده اثرات بهینه تمرین بر عملکرد قلب دیابتی است. اگرچه در مطالعه حاضر تغییرات ساختاری و عملکردی قلب مورد بررسی قرار نگرفت که می‌تواند از محدودیت‌های این مطالعه نیز محسوب شود؛ ولی با توجه به نقش استرس اکسیداتیو در القای تغییرات ساختاری و عملکردی قلب (۶) از طریق آسیب مستقیم به پروتئین‌ها، DNA، القا آپوپتوز و نیز تغییر در ماتریکس خارج سلولی و آغاز هیپرتروفی میوسیت‌های قلبی (۱۱) می‌توان اظهار داشت که کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از مداخله‌های مطالعه حاضر ممکن است با تغییرات مطلوب ساختاری و عملکردی در بافت قلبی موش‌های دیابتی همراه بوده باشد.

از جمله نتایج دیگر مطالعه حاضر اثر مکمل آربوتین بر کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی مشابه با فعالیت ورزشی شنا بود. علاوه بر این تیمار مزمن با مکمل آربوتین منجر به تغییری در سطح استرس اکسیداتیو و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در موش‌های سالم نشد که نشان‌دهنده اثر احتمالی این مکمل بر حمایت بافت قلبی، بیشتر در شرایط پاتولوژیکی دیابت است. با این وجود، مداخله ترکیبی تمرین شنا و مکمل آربوتین با اثرات قوی‌تری در کاهش سطح اکسیداتیو (حتی تا سطوحی کمتر از حیوانات سالم) و افزایش غلظت کاتالاز بافت قلبی و فعالیت

پاکسازی گونه‌های اکسیژن واکنشی و یا مهار تغییرات محصولات ناشی از آن می‌تواند از آسیب سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو جلوگیری نمایند (۳۷).

براساس این نتایج می‌توان اظهار داشت بافت عضلانی قلب در هنگام مواجهه با محرکات مزمن، قادر به یک مجموعه از سازگاری هستند و هر یک از مداخله‌های ورزش هوازی و مکمل آنتی‌اکسیدانی ممکن است به واسطه اثرات آنتی‌اکسیداتی خود از بافت قلبی در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت حفاظت نمایند و اثر تعاملی این دو شیوه درمانی ممکن است با اثرات هم‌افزایی بیشتری در کاهش استرس اکسیداتیو، به‌ویژه افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی همراه باشد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که هر دو مداخله فعالیت منظم ورزشی (شنا) و مکمل آنتی‌اکسیدانی (آرپوتین) ممکن است به واسطه اثرات آنتی‌اکسیدانی خود از بافت قلبی در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت حمایت نمایند و ترکیب این دو شیوه درمانی ممکن است با اثرات هم‌افزایی همراه باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه آقای سیدمهدی انوری برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی ورزش از دانشگاه آزاد اسلامی واحدساری بود. بدین وسیله از همه دانشجویان و همکارانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری نمودند؛ قدردانی می‌نمایم.

### References

- Zhang X, Chen C. A new insight of mechanisms, diagnosis and treatment of diabetic cardiomyopathy. *Endocrine*. 2012 Jun; 41(3):398-409. doi: 10.1007/s12020-012-9623-1.
- Voulgari C, Papadogiannis D, Tentolouris N. Diabetic cardiomyopathy: from the pathophysiology of the cardiac myocytes to current diagnosis and management strategies. *Vasc Health Risk Manag*. 2010 Oct; 6:883-903. doi: 10.2147/VHRM.S11681.
- Trost S, LeWinter M. Diabetic Cardiomyopathy. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2001 Dec;3(6):481-492.
- Wen HL, Liang ZS, Zhang R, Yang K. Anti-inflammatory effects of triptolide improve left ventricular function in a rat model of diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Diabetol*. 2013 Mar; 12: 50. doi: 10.1186/1475-2840-12-50.
- Hayat SA, Patel B, Khattar RS, Malik RA. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms, diagnosis and treatment. *Clin Sci (Lond)*. 2004 Dec;107(6):539-57.
- Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy, causes and effects. *Rev Endocr Metab Disord*. 2010 Mar;11(1):31-9. doi: 10.1007/s1154-010-9131-7.
- Aragno M, Mastrocola R, Medana C, Catalano MG, Vercellinato I, Danni O, et al. Oxidative stress-dependent impairment of cardiac-specific transcription factors in experimental diabetes. *Endocrinology*. 2006 Dec;147(12):5967-74.

سوپراکسید دیسموتاز (غیرمعنی‌دار) نسبت به دو مداخله دیگر گردید. اثرات آنتی‌اکسیداتی آرپوتین در نتایج تحقیق لکزیایی و همکاران تایید شد. به طوری که تیمار قلبی با عصاره اتانولی برگ تلکا منجر به کاهش پراکسیداسیون لپیدی در بافت‌های کبد، کلیه و پانکراس در موش‌های هیپرگلیسمیک شد (۳۵). مشابه با نتایج مطالعه حاضر در مطالعه Yu و همکاران ۱۶ هفته تیمار با کورکومین، منجر به کاهش سطح مالون دی‌آلدئید و افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز قلبی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین گردید (۱۷). از سوی دیگر افزایش سطح آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و کاهش مالون دی‌آلدئید بافت قلبی موش‌های دیابتی شده متعاقب تیمار با سایر عصاره‌های گیاهی در مطالعات دیگر گزارش شده است (۱۲ و ۳۶). همچنین مشاهده شده ۱۲ هفته تیمار با پروتوکاتکوئیک اسید (با خواص آنتی‌اکسیدانی) منجر به کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد میتوکندریایی در بافت قلبی موش‌های دیابتی شده است (۱۸). با جمع‌بندی نتایج مطالعات فوق و یافته‌های مطالعه حاضر به نظر می‌رسد مکمل آرپوتین مشابه با مکمل‌های گیاهی و یا دارویی دیگر ممکن است استرس اکسیداتیو بافت قلبی ناشی از هیپرگلیسمی را کاهش دهد. در مطالعه Camelia و همکاران نیز اثر تعاملی ۴ هفته تمرین شنا و مصرف کوآرستین با افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با هر یک مداخله‌های تمرین و کوآرستین صرف، همراه بود (۹). آنتی‌اکسیدانت‌ها به واسطه یکی از سه مکانیسم کاهش تولید،

- Arshadi S, Peeri M, Bakhtiyari S. The effect of 6 weeks swimming training on plasma antioxidants activity in diabetic rats. *Eur J Exp Biol*. 2013; 3(4):230-35.
- Camelia CI, Baltaru D, Maier M, Muresan A, Clichici S. Effects of quercetin and chronic (training) exercise on oxidative stress status in animals with Streptozotocin-induced diabetes. *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine*. 2013; 70(1):31-39.
- Bugger H, Boudina S, Hu XX, Tuinei J, Zaha VG, Theobald HA, et al. Type 1 diabetic akita mouse hearts are insulin sensitive but manifest structurally abnormal mitochondria that remain coupled despite increased uncoupling protein 3. *Diabetes*. 2008 Nov; 57(11):2924-32. doi: 10.2337/db08-0079.
- Liu Q, Wang S, Cai L. Diabetic cardiomyopathy and its mechanisms: Role of oxidative stress and damage. *J Diabetes Investig*. 2014 Nov;5(6):623-34. doi: 10.1111/jdi.12250.
- Cai L, Kang YJ. Oxidative stress and diabetic cardiomyopathy: a brief review. *Cardiovasc Toxicol*. 2001; 1(3):181-93.
- Kumar G, Sharmila Banu G, Ganesan Murugesan A. Effect of Helicteres isora bark extracts on heart antioxidant status and lipid peroxidation in streptozotocin diabetic rats. *J Appl Biomed*. 2008;6: 89-95.
- Tripathi UN, Chandra D. The plant extracts of Momordica charantia and Trigonella foenum-graecum have anti-oxidant and anti-hyperglycemic properties for cardiac tissue during diabetes mellitus. *Oxid Med Cell Longev*. 2009 Nov-Dec;2(5):290-6.

doi: 10.4161/oxim.2.5.9529.

15. Teixeira-Lemos E, Nunes S, Teixeira F, Reis F. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Cardiovasc Diabetol*. 2011 Jan; 10:12. doi: 10.1186/1475-2840-10-12.

16. Silva MF, Pelúzio Mdo C, Amorim PR, Lavorato VN, Santos NP, Bozi LH, et al. Swimming training attenuates contractile dysfunction in diabetic rat cardiomyocytes. *Arq Bras Cardiol*. 2011 Jul; 97(1):33-9. [Article in English, Portuguese, Spanish]

17. Yu W, Wu J, Cai F, Xiang J, Zha W, Fan D, et al. Curcumin alleviates diabetic cardiomyopathy in experimental diabetic rats. *PLoS One*. 2012; 7(12): e52013. doi: 10.1371/journal.pone.0052013.

18. Semaming Y, Kumfu S, Pannangpetch P, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Protocatechuic acid exerts a cardioprotective effect in type 1 diabetic rats. *J Endocrinol*. 2014 Oct; 223(1):13-23. doi: 10.1530/JOE-14-0273.

19. Golbidi S, Badran M, Laher I. Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise in diabetic patients. *Exp Diabetes Res*. 2012; 2012: 941868. doi: 10.1155/2012/941868.

20. Abou-Seif MA, Youssef AA. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clin Chim Acta*. 2004 Aug; 346(2):161-70.

21. Samadi A, Gaeini A, Ravasi A, Hedayati M, Rahimi M. [The effect of resistance exercise on oxidative stress in cardiac and skeletal muscle tissues of streptozotocin-induced diabetic rats]. *Journal of Basic and Clinical Pathophysiology*. 2013; 2(1):28-33. [Article in Persian]

22. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008 Feb; 51(2): 216-26.

23. Couteau C, Coiffard LJ. Photostability determination of arbutin, a vegetable whitening agent. *Farmaco*. 2000 May; 55(5):410-3.

24. Shahaboddin ME, Pouramir M, Moghadamnia AA, Parsian H, Lakzaei M, Mir H. *Pyrus bioessieriana* Buhse leaf extract: An antioxidant, antihyperglycaemic and antihyperlipidemic agent. *Food Chem*. 2011 Jun; 126(4): 1730-3. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.069.

25. Ramprasath T, Kumar PH, Puhari SS, Murugan PS, Vasudevan V, Selvam GS. L-Arginine ameliorates cardiac left ventricular oxidative stress by upregulating eNOS and Nrf2 target genes in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Nov; 428(3): 389-94. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.10.064.

26. Matsuda H, Nakata H, Tanaka T, Kubo M. [Pharmacological study on *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. II. Combined effects

of arbutin and prednisolone or dexamethazone on immunoinflammation]. *Yakugaku Zasshi*. 1990 Jan; 110(1):68-76. [Article in Japanese]

27. Lunz W, Peluzio MC, Dias CM, Moreira AP, Natali AJ. Long-term aerobic swimming training by rats reduces the number of aberrant crypt foci in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Braz J Med Biol Res*. 2008 Nov; 41(11):1000-4.

28. Habibian, M, Peeri M, Azarbayjani, M, Hedayati M. [Protective effect of aerobic exercise against some of proinflammatory cytokines-induced chronic nitric oxide synthase inhibition in renal tissue rats]. *J Babol Univ Me Sci*. 2013; 15(1): 30-37. [Article in Persian]

29. Formagio AS, Kassuya CA, Neto FF, Volobuff CR, Iriguchi EK, Vieira Mdo C, et al. The flavonoid content and antiproliferative, hypoglycaemic, anti-inflammatory and free radical scavenging activities of *Annona dioica* St. Hill. *BMC Complement Altern Med*. 2013 Jan; 13: 14. doi: 10.1186/1472-6882-13-14.

30. Jeong SM, Kang MJ, Choi HN, Kim JH, Kim JI. Quercetin ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia and improves antioxidant status in type 2 diabetic db/db mice. *Nutr Res Pract*. 2012 Jun; 6(3): 201-7. doi:10.4162/nrp.2012.6.3.201.

31. Salehi I, Mohammad M. [Effect of regular Swimming on heart oxidative stress indexes and its relation to diabetes in rat]. *Arak University of Medical Sciences Journal*. 2009; 12(3): 67-76. [Article in Persian]

32. Naderi R, Mohaddes G, Mohammadi M Ghaznavi R, Ghyasi R, Vatankehah AM. Voluntary exercise protects heart from oxidative stress in diabetic rats. *Adv Pharm Bull*. 2015 Jun; 5(2):231-36. doi: 10.15171/apb.2015.032.

33. Ascensão A, Ferreira R, Magalhães J. Exercise-induced cardioprotection--biochemical, morphological and functional evidence in whole tissue and isolated mitochondria. *Int J Cardiol*. 2007 Apr; 117(1):16-30.

34. Bhattacharya A, Chatterjee A, Ghosal S, Bhattacharya SK. Antioxidant activity of active tannoid principles of *Emblica officinalis* (amla). *Indian J Exp Biol*. 1999 Jul; 37(7):676-80.

35. Lakzaei M, Pouramir M, Zabihi E. [Moghadamnia A. preventive effect of *pyrus bioessieriana* buhse leaves wextract on lipid and protein peroxidation in hyperglycemic rats]. *J Babol Uni Med Sci*. 2013; 15(2): 25-30. [Article in Persian]

36. Bhatti R, Sharma S, Singh J, Ishar MP. Ameliorative effect of *Aegle marmelos* leaf extract on early stage alloxan-induced diabetic cardiomyopathy in rats. *Pharm Biol*. 2011 Nov; 49(11):1137-43. doi: 10.3109/13880209.2011.572077.

37. Vassort G, Turan B. Protective role of antioxidants in diabetes-induced cardiac dysfunction. *Cardiovasc Toxicol*. 2010 Jun; 10(2):73-86. doi: 10.1007/s12012-010-9064-0.

Original Paper

## Effect of swimming training and arbutin supplement on cardiac antioxidant enzymes and oxidative stress in diabetic rats

Farzanegi P (Ph.D)<sup>1</sup>, Habibian M (Ph.D)\*<sup>2</sup>, Anvari SM (M.A)<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Associate Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, Iran. <sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Qaemshahar Branch, Qaemshahar, Iran. <sup>3</sup>M.A in Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, Iran.

### Abstract

**Background and Objective:** Oxidative stress plays a major role in the structural and functional changes of the myocardium due to diabetes. This study was done to determine the effect of swimming training and arbutin supplement on cardiac antioxidant enzymes and oxidative stress in diabetic rats.

**Methods:** In this experimental study, 42 male Wistar rats were randomly allocated into 6 groups including control, diabetes, Arbutin, diabetes+Arbutin, diabetes+exercise and diabetes+ exercise + Arbutin (combined). Diabetes induced using alloxan (90 mg/kg/bw, intraperitoneally). Arbutin (50 mg/kg/bw, ip) was administered for 5 days a week. The exercise consisted of swimming training at 5 min to 36 min per day, 5 days a week for 6 weeks. Renal Malondialdehyde, catalase level and superoxide dismutase (SOD) activity were evaluated in animals.

**Results:** Diabetes significantly increased cardiac Malondialdehyde level and decreased cardiac SOD activity and catalase level ( $P<0.05$ ). Six weeks of supplementation with Arbutin, swimming training and combined intervention significantly increased catalase level and superoxide dismutase activity compared to the diabetes group ( $P<0.05$ ). Malondialdehyde level significantly reduced in combined and exercise groups in comparison with diabetic group ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** Regular training (swimming) and Antioxidant supplement (Arbutin) protect the cardiac tissue against diabetes-induced oxidative stress through their antioxidants capacity and the combination of the two interventions have synergic effect.

**Keywords:** Diabetes mellitus, Arbutin, Aerobic exercise, Malondialdehyde, Superoxide dismutase

\* Corresponding Author: Habibian M (Ph.D), E-mail: [habibian\\_m@yahoo.com](mailto:habibian_m@yahoo.com)

Received 2 Nov 2014

Revised 3 Feb 2015

Accepted 4 Feb 2015