DOI: 10.22100/jkh.v13i2.1935

مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی، دوره ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

مقاله پژوهشی

تأثیر همزمان فعالیت تمرینی منظم و ویتامین D بر سطح آپپتوز و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت قلب در رت‌های نر قرار گرفته در معرض آب اکسیژنه

مهدی پیروز[۱]، محمدعلی آذربایجانی*[۱]، سید علی حسینی[۲]، مقصود پیری[۱]

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۲۴، **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۷/۳/۶

چکیده

مقدمه: *اثرات بیولوژیک ترکیبات اکسیدکننده قوی در بدن انسان، تحت کنترل عوامل آنتی‌اکسیدان است. اختلال در عمل اندام‌ها ممکن است نتیجه واکنش‌هایی میان رادیکال‌های آزاد با غشاء سلول‌ها باشد. معلوم شده است که هدف اصلی رادیکال‌های اکسیژن، لیپیدهای غشاء سلول‌ها می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی آسیب‌پذیری سلول‌های میوکارد و ارزیابی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت قلب رت‌های نر می‌باشد.*

مواد و روش‌ها: *۶۰ سر رت نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۲۰±۲۲۰ گرم و سن ۸ تا ۱۰ هفته به‌طور تصادفی براساس مداخلات استرس، ویتامین D و فعالیت تمرینی منظم به ۱۰ گروه شش نفره شامل ویتامین D و فعالیت تمرینی منظم، گروه شاهد، آب اکسیژنه (H)، آب اکسیژنه دو برابر (H۲)، آب اکسیژنه + ویتامین دی (HD)، آب اکسیژنه دو برابر + ویتامین دی (HD۲)، آب اکسیژنه + تمرین (HE)، آب اکسیژنه دو برابر + تمرین (HE۲)، آب اکسیژنه + تمرین + ویتامین دی (HDE)، آب اکسیژنه دو برابر + تمرین + ویتامین دی (HDE۲) و نهایتاً دی متیل سولفوکساید + سالین(DMSO) تقسیم و به مدت ۸ هفته تحت پروتکل مداخله قرار گرفتند. سپس غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت قلب اندازه‌گیری و با استفاده از تجزیه و تحلیل واریانس سه طرفه تحلیل شد. سطح معناداری برابر ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.*

نتایج: *یافته‌ها نشان داد که تمرین باعث افزایش SOD و GPX شد اما افزایش کاتالاز معنادار نبود. همچنین از سوی دیگر تلفیق تمرین، ویتامین D و آب اکسیژنه تأثیر هم‌افزایی در مهار فعالیت پروتئین FAS داشت و در حفاظت و پیشگیری از عوارض ناشی از آپپتوز و التهاب میوکارد مؤثر بود.*

نتیجه‌گیری: *در رابطه با مصرف دوزهای مختلف H_2O_2 در مقایسه با گروه تمرین و D به تنهایی و یا گروه کنترل نشان داده شد که ترکیب تمرین استقامتی و D باعث افزایش معنادار و خیلی بیشتری در فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX می‌شود.*

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، فعالیت تمرینی منظم، مالون دی‌آلدئید، **SOD**، **CAT**.

***نویسنده مسئول:** تهران،شهرک غرب ابتدای خیابان ایران زمین،دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، گروه فیزیولوژی ورزشی، **تلفن:** ۰۹۱۲۳۱۷۲۹۰۸، **نمابر:** ۰۲۱۸۸۵۶۱۲۸۶، **Email:** m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

ارجاع: پیروز مهدی، آذربایجانی محمدعلی، حسینی سید علی، پیری مقصود. تأثیر همزمان فعالیت تمرینی منظم و ویتامین D بر سطح آپپتوز و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت قلب در رت‌های نر قرار گرفته در معرض آب اکسیژنه. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۷؛۱۳(۲):۲۹-۴۱.

مقدمه

استرس اکسیداتیو، فرآیندی است که توسط رادیکال‌های آزاد در سطح سلولی ایجاد می‌شود و می‌تواند منجر به آسیب ساختاری بخش‌های مختلف سلول شود. این موضوع از حدود دو دهه قبل در ورزش مطرح شده است. در واقع پدیده ایجاد استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت بدنی، بیشتر مربوطبه ارتباط بین این پدیده و اکسیژن مصرفی در حین فعالیت است (۱). بر خلاف تأیید اثرات سودمند فعالیت جسمانی بر سلامتی، پژوهش‌های زیادی گزارش کرده‌اند که هنگام فعالیت ورزشی به علت مصرف بیشتر اکسیژن و افزایش میزان سوخت وساز، فشار اکسایشی از راه تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS: Reactive oxygen species) ایجاد می‌شوند. عدم‌توازن بین تولید FR (Free radicals) و دفاع اکسایشی در بدن موجود زنده منجر به ایجاد فشار اکسایشی و درنتیجه آسیب به اجزای مختلف سلول می‌شود (۲). در طول فعالیت‌های شدید بدنی با افزایش اکسیژن مصرفی روبه رو هستیم به‌طوری‌که مصرف اکسیژن به ۱۰ تا ۲۰ برابر افزایش می‌یابد و درنتیجه تولید رادیکال‌های آزاد هم همزمان با افزایش مصرف اکسیژن بالا می‌رود. از طرف دیگر نشان داده شده است که فعالیت بدنی منظم با شدت متوسط می‌تواند توان ضداکسایشی بدن را هم افزایش دهد. پاره‌ای از تحقیقات نشان داده‌اند که سازگاری‌های ناشی از تمرینات بدنی منظم، بدن را در برابر اثر استرس‌های اکسایشی حفظ می‌کند (۳). مثلاً تمرینات استقامتی با شدت متوسط سبب کاهش فشار اکسیداتیو و کاهش تخریب عضلانی می‌شوند اما تمرینات استقامتی با حجم بالا اثر معکوسی دارند و سیستم آنتی‌اکسیدانی را کاهش داده و تولید رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهند. در یک تمرین استقامتی با حجم و شدت بالا (مثلاً دوچرخه‌سواری جاده) سبب افزایش ROS شده که خود به‌دلایل مختلف از جمله افزایش دمای مرکزی، افزایش تولید اسید لاکتیک، افزایش تولید کاتکولامین‌ها، نقص در زنجیره انتقال الکترون، افزایش غلظت کلسیم درون سلولی و افزایش تولید نیتریک اکساید می‌باشد (۴).

MDA یا مالون دی‌آلدئید که به‌عنوان شاخص فشار اکسایشی شناخته شده است یکی از محصولات عمده تخریب اسیدهای چرب غیراشباع توسط رادیکال‌های آزاد می‌باشد و در واقع توسط گروهی از رادیکال‌های آزاد به نام رادیکال هیدروکسیل (H_2O_2) که سبب پراکسیداسیون چربی‌ها می‌شود به‌وجود می‌آید (۵).

در سیستم هوازی تولید انرژی، اکسیژن از طریق انتقال به میتوکندری و تبدیل به آب، انرژی تولید می‌کند اما ۲ تا ۵ درصد از اکسیژن موجود در میتوکندری به‌دلیل نشت الکترون و دریافت الکترون منفرد از زنجیره انتقال الکترونی به ROS تبدیل می‌شوند. اکسیژن در هر بار واکنش فقط می‌تواند یک الکترون دریافت کند در حالی که برای تبدیل شدن به آب در میتوکندری به چهار الکترون نیاز دارد. درنتیجه در مسیر تولید آب موقتاً رادیکال‌های آزاد تولید می‌کند. افزودن یک، دو و سه الکترون به اکسیژن مولکولی به‌ترتیب باعث تولید رادیکال‌های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و هیدروکسیل می‌شود. این گونه‌ها بسیار سمی و آسیب‌زا بوده، اندامک‌ها و اجزای حیاتی سلول را در معرض فشار اکسایشی قرار می‌دهد (۶). بیشترین اثر تخریبی رادیکال‌های آزاد متوجه غشای سلولی و غشای ارگانل‌های داخل سلولی نظیر غشاء میتوکندری‌هاست. غشای بیولوژیکی از محتوای فسفولیپید به همراه نسبت بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع برخوردار است و از این رو به فشار اکسایشی (اثر تخریبی رادیکال‌های آزاد) بسیار حساس است و به شدت به واکنش‌های زنجیره‌ای کمک می‌کند (۷). از دیگر اجزای سلول که رادیکال آزاد باعث تخریب در آنها می‌شود می‌توان به تخریب DNA و RNA سلول (به‌ویژه DNA موجود در میتوکندری)، آنزیم‌های پروتئینی فعال و غیرفعال در سلول، پروتئین‌های ساختاری و لیزوزوم‌ها اشاره کرد (۹-۷). محصولات کاتابولیکی که در اثر تجزیه فسفولیپیدها در سلول آسیب دیده تجمع می‌یابند شامل اسیدهای چرب آزاد استریفه نشده، آسیل کارنیتین و لیزوفسفولیپیدها می‌باشند. این ترکیبات اثر دترژانت روی غشاها بوده و هم می‌توانند وارد دو لایه لیپیدی غشا شوند و هم جایگزین فسفولیپیدهای غشاء گردند که به این ترتیب باعث تغییر نفوذپذیری و تغییرات الکتروفیزیولوژیک می‌گردند. مهمترین محل‌های آسیب غشاء در طی آسیب سلول شامل غشاء میتوکندری، غشاء پلاسمایی و غشاء لیزوزوم می‌باشد (۱۰). آسیب غشاء میتوکندری منجر به کاهش تولید ATP، ایجاد نکروز و آزاد شدن پروتئین‌های تحریک‌کننده آپوپتوز می‌شود (۱۱). سلول‌ها مکانیسم‌هایی جهت ترمیم آسیب DNA دارند ولی در صورتی که این آسیب آن قدر شدید باشد که قابل اصلاح نباشد سلول برنامه خودکشی را شروع کرده و به طریق آپوپتوز می‌میرد (۱۲). مولکول‌های متعددی در فرآیند آپوپتوزی درگیر هستند. تحریک مولکول‌های پروآپوپتوزی و یا مهار فاکتورهای آنتی آپوپتوزی بستگی به نوع سلول و محرک دارد (۱۳ و ۱۴).

پروتئین‌های پروآپوپتوتیک مانند Bax و Bak باعث افزایش نفوذپذیری غشاء میتوکندری و آزاد شدن سیتوکروم C از غشای داخلی میتوکندری می‌شوند. در سیتوپلاسم، سیتوکروم C به مجموعه مولکول‌های آداپتور APaF1 و پروکاسپاز متصل می‌شود. علاوه‌بر این سیتوکروم C در آپوپتوزوم باعث هیدرولیز اتوکاتالیتیکی پیوندهای پپتیدی خاصی در توالی پروکاسپاز ۹ و ایجاد کاسپاز ۹ فعال و فعال

شدن آبشار کاسپازی می‌شود (۱۱). علاوه‌بر پروتئین‌های مسیر داخلی، پروتئین‌های مسیر خارجی نیز در آپپتوز دخیل است و در مسیر لیگاندهای مرگ این عمل را انجام می‌دهد.

رسپتورهای مرگ، رسپتورهای سطحی سلول هستند که پیام را از طریق لیگاندهای مخصوص انتقال داده و آبشار کاسپازی را فعال می‌کنند (۱۵). مهمترین رسپتورهای مرگ، خانواده رسپتوری TNF شامل TNFR-1، CD95(Fas)، TRAMP، TRAIL-1 و TRAIL-2 هستند که مشخصه همه آنها وجود پنج کپی از سیستئین در ناحیه خارج سلولی آنها است (۱۶ و ۱۷). در انتهای کربوکسیل این رسپتورها ناحیه درون سلولی به نام DD (Death domain) وجود دارد. وقتی این رسپتورها به لیگاند خود TNFa، لیمفوتوکسین، Fasl و غیره متصل می‌شوند مرگ سلولی اتفاق می‌افتد. اتصال TNFa به رسپتور موجب می‌شود مولکول TRADD(TNF-R associated deth domain) از طریق واکنش DD به رسپتور TNFمتصل شود و خود TRADDهم با DD دوم به خود DD مولکولFADD (FAS-associated deth domain) اتصال یابد و FADD هم از طریق واکنش DED-DED (Death effecter domain) به پروکاسپاز ۸ متصل شود. تجزیه و تبدیل پروکاسپاز ۸ به کاسپاز ۸ یا فرم فعال آن باعث راه اندازی آبشار کاسپازی می‌شود. در مرحله بعد، کاسپاز اجرایی ۳ فعال و به نوبه خود باعث فعال‌سازی سایر کاسپازهای اجرایی و پیشرفت چرخه آپپتوز می‌شود (۱۸ و ۱۹). TNFR-1 با به‌کارگیری مولکول سازگارکننده دیگری به نام RAdd(recombinant human ADAM15disintegrin domain)نیز می‌تواند خودکشی سلول را القا کند. RADD از طریق DD خود با مولکول سازگارکننده بعدی به نام RIP واکنش می‌دهد و RIP از طریق دومین CARD عمل می‌کند. مسیر رسپتوری Fas(D95) نیز مانند مسیر TNF-R فعال می‌شود.

Fasl به‌صورت ترایمر است و با اتصال FAS به FAS1 به سرعت کمپلکس پیام‌رسانی القاءکننده مرگ از طریق DD فعال می‌شود. FADD تنها مولکول سازگارکننده در این مسیر است و از این منظر با مسیر TNF-R که از دو مولکول سازگارکننده استفاده می‌کند متفاوت است. به کمپلکسFADD، Fas و پروکاسپاز ۸، دیسکDisc (death inducing signaling complex) گفته می‌شود. مولکول متفاوتی به نام (c-FLIP(FLICE inhibitory protein مسیر مرگ سلولی را از طریق Fas مهار می‌کند. c-FLIP شبیه پروکاسپاز ۸ است اما مکان فعال‌شدن پروتئازی را ندارد، بنابراین گرچه کمپلکس پیام‌رسانی Fas را به خدمت می‌گیرد، اما پیام مرگ را منتقل نمی‌کند.

فعالیت بدنی و ورزش به علت افزایش روند اکسیداسیون سلولی موجب تولید رادیکال‌های آزاد و افزایش ROS (گونه‌های فعال اکسیژن) می‌شود که این پدیده در درازمدت تخریب بافتی را به همراه دارد. عدم‌تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. به همین دلیل ورزشکاران و افراد فعال نیازمند مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. به عبارت دیگر انجام ورزش شدید در کسانی که به‌طور منظم ورزش نمی‌کنند و به آن عادت ندارند به‌دلیل افزایش رادیکال‌های آزاد سیستم دفاعی بدن را در هم می‌شکند و باعث تخریب بافت‌های بدن می‌شود. حال که روشن شد عمده‌ترین عامل بروز بیماری‌ها و کوتاهی عمر در اثر آسیب‌های رادیکالی می‌باشد منطقی است که بدن از تولید آن جلوگیری کرده و یا آن را به حداقل ممکن برساند. بدن برای مبارزه با رادیکال‌های آزاد از سیستم دفاعی پیچیده و ماهری به نام آنتی‌اکسیدان (ضداکسایش) استفاده می‌کند. آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که با اتصال به رادیکال آزاد و دادن الکترون، FRS را خنثی می‌کنند و در واقع واکنش زنجیره‌ای را می‌شکنند و در نهایت تبدیل به یک FR ضعیف شده می‌شوند اما در این حالت بی‌ضرر بوده و بدون انجام واکنشی دیگر، به حالت آنتی‌اکسیدانی خود برمی‌گردند.

نقش تغذیه در عملیات ورزشی سال‌ها است که مورد مطالعه قرار گرفته است و اکنون به خوبی روشن شده است که یک وضعیت تغذیه‌ای بهینه، پیش‌نیازی برای انجام و دستیابی به بهترین نتیجه در فعالیت‌های ورزشی است. امروزه کانون توجهات در وضعیت تغذیه‌ای بر این مهم استوار است تا از استرس‌های اکسیداتیو ناشی از تمرینات فیزیکی شدید پیشگیری نموده و به بازگشت به حالت اولیه بعد از تمرین کمک نماید. آیا مکمل‌دهی آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند از تخریب عضلانی ناشی از ورزش جلوگیری کند یا ترمیم بعد از ورزش را تقویت کند؟ اگرچه مشخص است که کمبود ویتامین‌ها باعث ایجاد مشکلاتی در تمرینات ورزشی و ترمیم بعد از آن می‌شود ولی تأثیر مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی در یک ورزشکار سالم با تغذیه مناسب، هنوز مورد بحث است. بنابراین در پژوهش حاضر از مکمل ویتامین D به همراه ورزش استقامتی منظم استفاده شده است تا اثر آنها را بر شاخص‌های آپپتوزیس و رادیکال‌های آزاد ارزیابی نماییم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۶۰ سر رت نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۲۰±۲۲۰ گرم و سن ۸ تا ۱۰ هفته از مرکز حیوانات دانشگاه شیراز تهیه و به اتاق حیوانات مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان انتقال یافت. به‌طور تصادفی هر ۵ رت در قفس پلی‌پروپیلن، با اندازه ۱۶×۳۲×۴۲ سانتی‌متر، تحت شرایط استاندارد و کنترل دمایی ۲۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه متناوب روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته با دسترسی

آزادانه به آب و غذا (شرکت غذای دام پارس، تهران، ایران) نگهداری شدند. همه آزمایش‌های مربوطبه حیوانات باتوجه به دستورالعمل اخلاقی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شد. رت‌ها به مدت یک هفته قبل از شروع پروتکل با محیط و نوار گردان سازگار شدند. سپس به‌طور تصادفی به ۱۰ گروه (n=۶) شامل گروه شاهد، آب اکسیژنه، آب اکسیژنه دو برابر، آب اکسیژنه + ویتامین دی، آب اکسیژنه دو برابر + ویتامین دی، آب اکسیژنه + تمرین، آب اکسیژنه دو برابر + تمرین، آب اکسیژنه + تمرین + ویتامین دی، آب اکسیژنه دو برابر + تمرین + ویتامین دی و نهایتاً دی متیل سولفوکساید + سالین تقسیم شدند. طول مدت پروتکل مداخله‌گر ۸ هفته بود. تزریق درون صفاقی H_2O_2 در گروه‌های آب اکسیژنه با دوز ۱ میلی‌مول به ازای هر کیلوگرم از وزن بدنشان (۸۴ و ۸۵) و در گروه‌های آب اکسیژنه دو برابر، با دوز ۲ میلی‌مول به ازای هر کیلوگرم از وزن بدنشان (۸۷-۸۵) به‌صورت ۳ بار در هفته در روزهای زوج (۸۴) و تزریق درون صفاقی ویتامین D3، ۰/۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به‌صورت روزانه (۸۸) انجام شد. جهت رسیدن به دوز مناسب تزریقی از نرمال سالین برای رقیق کردن و از دی متیل سولفوکساید (DMSO) جهت حل کردن ویتامین D3 در سالین استفاده شد. باتوجه به لزوم بررسی تأثیر حلال مذکور یک گروه به نام DMSO تعریف شد که روزانه فقط حلال دریافت کردند. در پژوهش حاضر، از فعالیت تمرینی منظم به‌طور روزانه بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان به مدت ۸ هفته استفاده شد. شیب نوارگردان ۱۰ درجه ثابت بود ولی سرعت و مدت تمرین به‌تدریج افزایش یافت و از ۸ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته اول به ۱۲متر در دقیقه با زمان مشابه در هفته دوم، ۱۶ متر در دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه در هفته سوم، ۲۰ متر در دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه در هفته چهارم افزایش یافت. طی هفته‌های پنجم تا هشتم سرعت در ۲۰ متر در دقیقه با مدت ۶۰ دقیقه ثابت ماند (۸۹). ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه پروتکل، جهت اجتناب از سهم زیاد تولید ROS درون‌زا (۹۰) و بعد از ۱۲ ساعت گرسنگی، رت‌ها با استنشاق کلروفورم بیهوش وسپس با بریدن سر قربانی شدند. قلب‌ها به دقت جدا و بلافاصله در ازت مایع غوطه‌ور و منجمد شدند و برای آزمایشات بعدی در دمای ۷۵- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. از نرم‌افزار SPSS جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. قبل از تجزیه و تحلیل آماری، فرض طبیعی توزین داده‌ها توسط آزمون کلموگروف – اسمیرنوف و تجانس واریانس بین گروه‌ها به‌وسیله آزمون تجانس واریانس لوین انجام گرفت. جهت آزمون فرضیه‌ها بعد از دوره تمرین، تحلیل سه طرفه واریانس برای گروه‌های مستقل انجام و در صورت وجود تفاوت معنادار، برای مشخص شدن گروه‌های متفاوت از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده و سطح معناداری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

برای سنجش FAS بافت میوکارد، در روز انجام آزمایش، بافت‌ها را از فریزر خارج و مقدار معینی از بافت را وزن کرده و به تناسب آن بافر هموژن (PBS) با pH بین ۷/۲ تا ۷/۴ اضافه کردیم. سپس لوله‌های آزمایش حاوی بافت مورد نظر و بافر را به‌منظور جلوگیری از گرم شدن بافر و تخریب پروتئین‌ها در داخل یک ظرف حاوی یخ گذاشته و با استفاده از سونیکاتور طی ۵ سیکل ۱۰ ثانیه‌ای هموژن کردیم. سپس با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ کدیم و محلول رویی حاصل از آن را به تیوپ جدید منتقل نمودیم. برای انجام آزمایش، کیت و نمونه‌ها (سوپرناتانت) را حداقل به مدت ۲۰ دقیقه از یخچال خارج و در دمای آزمایشگاه قرار دادیم. سپس محلول‌های استاندارد را پس از ساخت و رقیق سازی به چاهک‌های کوت شده با آنتی‌بادی قرار دادیم و همچنین میزان ۴۰ لاندا از نمونه را نیز به چاهک‌های مخصوص نمونه اضافه کردیم و میزان ۱۰ لاندا از آنتی‌بادی FASL را برداشته و در درون چاهک‌های نمونه اضافه کردیم. در پایان حدود ۵۰ لاندا از آنزیم HRP به تمامی چاهک‌های استاندارد و نمونه اضافه شد. پس از ۶۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه پلیت را از انکوباسیون خارج و پس از تخلیه محتویات آن ۵ بار با استفاده از بافر شستشو، شتشو دادیم و سپس ۵۰ لاندا از محلول‌های کروموژن A و به‌دنبال آن ۵۰ لاندا محلول کروموژن B به چاهک‌ها اضافه و به‌منظور انجام واکنش مجدداً ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه نمودیم. پس از خارج سازی پلیت از انکوباتور محلول استاپ را اضافه و به واکنش خاتمه دادیم و در فاصله زمانی کمتر از ۱۰ دقیقه جذب نوری چاهک‌ها را در طول موج ۴۵۰ نانومتر خواندیم.

جهت تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدی، سطح TBARS ترکیبات واکنش‌دهنده با تیوباربیتوریک اسید در بافت قلب اندازه‌گیری گردید. TBARSمانند مالون‌دی‌آلدئید (MDA) با TBA واکنش داده و کمپلکس قرمز رنگی تولید می‌کند که در طول موج ۵۳۵ نانومتر دارای پیک جذبی است. جهت تهیه محلول TBA-TCA-HCL, ۳۷۵ میلی گرم تیوباربیتوریک اسید (TBA) در ۲ میلی‌لیتر اسید کلریدریک حل نموده و به ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ۱۵ درصدی تری کلرو استیک اسید (TCA) اضافه شد. جهت حل شدن کامل رسوبات از حمام آب۵۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. سپس بافت موردنظر توزین و بلافاصله با محلول کلرید پتاسیم ۱/۵ درصد هموژن گردید تا یک مخلوط هموژن۱۰ درصد به‌دست آید. سپس ۱ میلی‌لیتر از مخلوط هموژن بافتی با ۲ میلی‌لیتر از محلول TBA-TCA-HCL مخلوط شده و به مدت ۴۵ دقیقه در آب در حال جوش حرارت داده شد

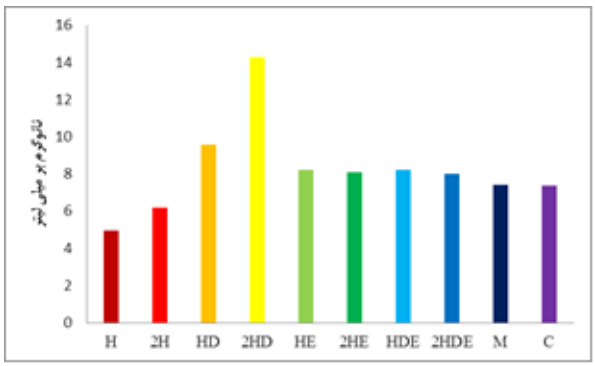
(محلول به رنگ نارنجی صورتی). بعد از خنک شدن، به مدت ده دقیقه با دور ۱۰۰۰دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و سپس جذب آن (A) در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (۹۱).

جهت تهیه هموژن بافتی ابتدا بافت را وزن کرده و با بافر فسفات سالین ۵۰ میلی‌مولار (PH=۷/۴) هموژن شد. سنجش فعالیت براساس روش madesh صورت گرفت. در این روش واکنش MTT با آنیون سوپراکسید تولید شده از پیروگالل، توسط آنزیم sod مهار می‌گردد. ابتدا محلول استاندارد آنزیم با بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=۷/۴) به غلظت‌های مختلف تهیه و منحنی استاندارد رسم گردید. ۳۰ میکرولیتر MTT (۱/۲۵ میلی‌مول) در حضور ۷۵ پیروگالل (۱۰۰ میکرمول) با ۱۰ میکرولیتر هموژن بافتی مخلوط شده و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس ۰/۷۵ میکرولیتر دی متیل سولفوکسید (DMSO) اضافه گردید و جذب نوری محلول در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا خوانده شد. برای به‌دست آوردن درصد مهار انجام شده با آنزیم SOD، از فرمول مربوطه براساس دستورالعمل کیت استفاده شد. با انطباق درصد مهار روی منحنی استاندارد فعالیت آنزیم به‌دست آمد و فعالیت آن براساس واحد بین المللی بر میلی‌گرم پروتئین تام گزارش شد (۹۲).

جهت تهیه هموژن بافتی ابتدا بافت را وزن کرده و با بافر فسفات سدیم۵۰ میلی‌مولار (PH=۷) هموژن شد. فعالیت آنزیم کاتاز با استفاده از روش Aebi (۸۱) و با دنبال نمودن تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. واکنش با اضافه کردن پراکسید هیدروژن ۳۰ میلی‌مولار به حجم مناسبی از هموژن بافتی در بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (PH=۷) شروع شد. سپس جذب طی سه دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت و فعالیت ویژه بر حسب واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

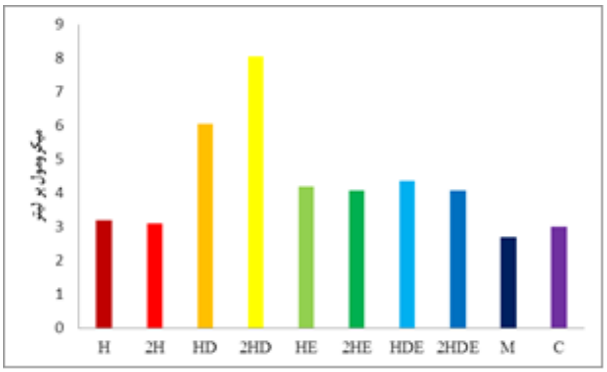
نتایج

از تحلیل سه طرفه واریانس مستقل جهت تعیین اثر تمرین و ویتامین D بر غلظت پروتئین FAS در رت‌های قرار گرفته در معرض H_2O_2 استفاده شد. براساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که تمرین اثر معناداری بر غلظت پروتئین FAS دارد (P=۰/۰۰۱). همچنین تعامل تمرین و ویتامین D نیز اثر معناداری بر غلظت این پروتئین داشت (P=۰/۰۱۴). اما القاء دوز بالای H_2O_2 در گروه‌های بدون تمرین باعث شد که آپوپتوز در بافت میوکارد رت‌ها مطابق شکل ۱ افزایش پیدا کند.



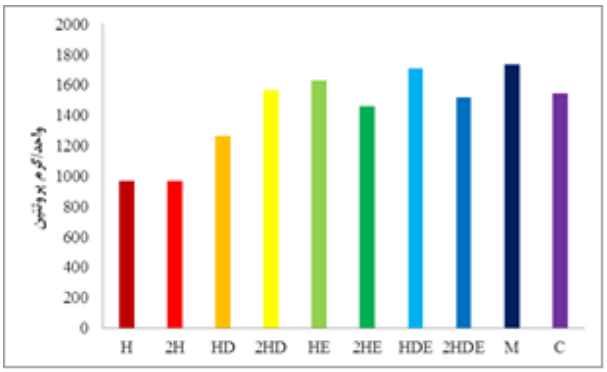
شکل ۱- مقایسه مقادیر غلظت FAS در گروه‌های پژوهش (نانوگرم/ میلی‌لیتر)

همچنین میزان پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) بافت در رت‌های بدون تمرین که در معرض القاء H_2O_2 قرار گرفته بودند افزایش یافت (P=۰/۱۱۹) اما در گروه تمرینی و ویتامین D، MDA بافتی کاهش معناداری داشت (P=۰/۰۰۱) (شکل ۲).



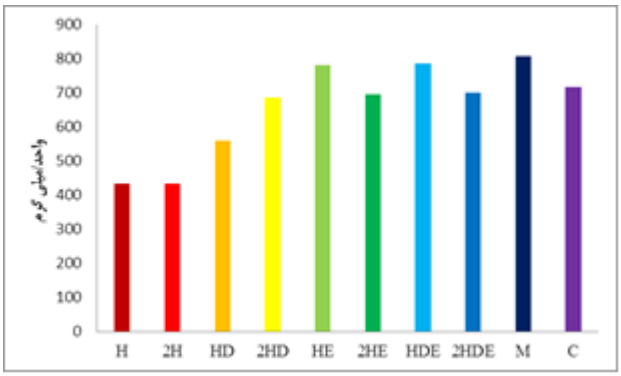
شکل ۲- مقایسه مقادیر غلظت MDA در گروه‌های پژوهش (میکرومول/ لیتر)

القاء ویتامین D و انجام تمرین، تأثیر معناداری در افزایش سوپراکسید دیسموتاز (SOD) داشت (P=۰/۰۰۳) اما هنگامی که ورزش و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به‌طور همزمان صورت گرفت افزایش SOD معنادار نبود (P=۰/۲۳۱) (شکل ۳).



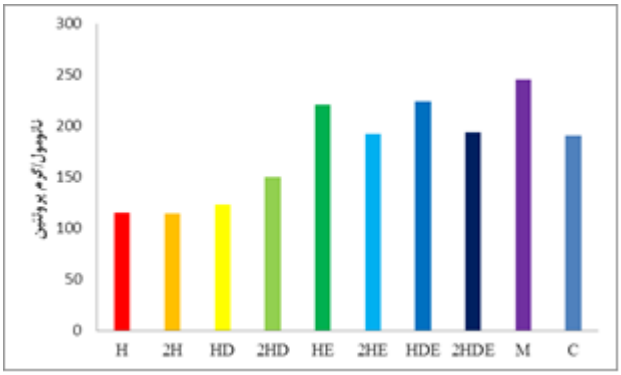
شکل۳- مقایسه مقادیر غلظت SOD در گروه‌های پژوهش (واحد/گرم پروتئین)

همچنین آنزیم آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) در گروه تمرین و گروه القاء ویتامین D افزایش معناداری داشت (P=۰/۰۰۱) اما هنگامی که H_2O_2 و ورزش با همدیگر صورت گرفت افزایش GPX معنادار نبود (P=۰/۷۸۹) (شکل ۴).



شکل ٤- مقایسه مقادیر غلظت GPX در گروه‌های پژوهش (واحد/میلی‌گرم)

القاء ویتامین D و ورزش هر کدام به تنهایی باعث افزایش آنزیم کاتالاز شد ولی این افزایش به نسبت GPX و SOD کمتر بود و تعامل ورزش و القاء H_2O_2 نیز باعث افزایش معنادار کاتالاز نشد (P=۰/۱۹۸) (شکل ۵).



شکل ٥- مقایسه مقادیر غلظت CAT در گروه‌های پژوهش (نانومول/ گرم پروتئین)

بحث

امروزه به خوبی ثابت شده است که تولید کنترل نشده گونه‌های اکسیژن فعال در درون سلول به‌ویژه بافت‌های عضلانی در جریان فعالیت‌های بدنی باعث می‌شود مولکول‌های زیستی همانند اسیدهای نوکلئیک (DNA)، پروتئین‌ها و چربی‌ها اکسیده شده و درنتیجه آن، اطلاعات ژنتیکی و ماهیت طبیعی پروتئین‌ها تغییر کند، آنزیم‌ها غیرفعال شوند و غشاهای زیستی دچار اختلال گردند. نتیجه این فعل و انفعالات، تولید فشار (استرس) اکسایشی در بدن است که متعاقباً باعث تضعیف دستگاه ضداکسایشی و ایمنی بدن می‌گردد (۲۲- ۲۱). استرس اکسایشی ناشی از فعالیت بدنی می‌تواند سبب فعال شدن اجزاء آنزیمی ضداکسایشی، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) (۲۳ و ۲۴) یا غیرآنزیمی (ویتامین C، E، اسید اوریک و بیلی روبین (۲۳) شود، لذا تعادل و یا عدم‌تعادل بین دفاع ضداکسایشی و استرس اکسایشی، نقش تعیین‌کننده‌ای در وقوع بسیاری از بیماری‌های قلبی- عروقی و فرآیند پیری ایفاء می‌کند (۲۵ و ۲۶). دو فرآیند التهاب و آپوپتوز نقش اساسی را در پاتوژنز نارسایی قلبی بازی می‌کنند و کلید اصلی در تنظیم جزئیات سیستم قلبی- عروقی هستند. آپوپتوز فرآیند ضروری فیزیولوژیک است که باعث حذف سلول‌های اضافه و مشکل دار از موجود زنده می‌شود و در صورت فعالیت کم یا زیادتر از حد طبیعی، مشکل ساز می‌گردد (۱۹ و ۲۲). یکی از سیستم‌های اصلی تنظیم‌کننده آپوپتوز، سیستم FAS(CD95)FASl است. فعال شدن آپوپتوز از این طریق با پیشرفت نارسایی قلبی و مرگ سلول‌های قلبی مرتبط است. FAS(CD95) پپتید گلیکولیز شده در سطح خارجی غشاء سلولی و متعلق به خانواده عوامل نکروز تومور (TNF) است (۲۳). FAS بر روی سطح لنفوسیت‌های B و T، انواع سلول‌های سرطانی و تعدادی از سلول‌های انسانی وجود دارد. افزایش بروز پروتئین FAS در سطح سلول‌ها، اینترفرون گاما و TNFa را تحریک می‌کند و باعث فعال شدن لنفوسیت‌ها می‌شود. اتصال FAS به FAS-L یا آنتی‌بادی بر ضد FAS منجر به تری‌مریزاسیون و سپس اتصال پپتیدهایی می‌شود که مجموعه القاءکننده پیام مرگ (DISC) را تشکیل داده و فرآیند آپوپتوز را شروع می‌کند (۹ و ۱۷).

در تحقیق حاضر اثر ۸ هفته القای استرس اکسیداتیو، فعالیت تمرینی منظم و مصرف ویتامین D بر سطوح پروتئین FAS بافت قلب رت‌های نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفت. براساس یافته‌های پژوهش، القای دوز بالای آب اکسیژنه با افزایش معنادار غلظت پروتئین FAS همراه بود و ۸ هفته تمرین منجر به کاهش معنادار غلظت پروتئین FAS بافت میوکارد این رت‌ها شد. همزمانی تمرین با ویتامین D و همچنین تعامل بین تمرین، ویتامین D و آب اکسیژنه دارای اثر کاهنده بر غلظت پروتئین FAS بود که بیانگر تأثیر حفاظتی تمرین منظم در کاهش شاخص التهاب قلب و همچنین سرکوب و پیشگیری عوارض احتمالی ناشی از آن است. از سوی دیگر تلفیق تمرین، ویتامین D و آب اکسیژنه تأثیر هم‌افزایی در مهار فعالیت FAS دارد و در حفاظت و پیشگیری از عوارض ناشی از آپوپتوز و التهاب میوکارد مؤثر است. ۸ هفته مصرف ویتامین D منجر به کاهش معنادار غلظت پروتئین FAS میوکارد رت‌ها شد. به نظر می‌رسد که مصرف ویتامینD در شرایط القای استرس اکسیداتیو بر شاخص FAS تأثیرگذار بوده است که از دلایل احتمالی آن می‌تواند کافی بودن مقادیر ویتامین D در میوکارد رت‌ها نسبت به زمان تمرین و القای استرس اکسیداتیو باشد. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که

تمرین استقامتی به تنهایی و تلفیق آن با ویتامین D می‌تواند باعث کاهش اپوپتوز در رت‌ها شود که این نتایج، همسو با نتایج سو و همکاران (۲۰۱۱) (۲۷)، بائیک و همکاران (۲۰۱۲) (۲۸)، میردار و همکاران (۲۰۱۲) (۲۹) و پیترز و همکاران (۲۰۰۶) (۳۰) می‌باشد.

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که پروتئین P53 شاخص القایی اصلی در آپوپتوز وابسته به میتوکندری است و انتقال آن به درون میتوکندری در آپوپتوز ناشی از ROS مهم است (۳۱). از آنجا که تمرینات ورزشی استقامتی می‌تواند موجب بهبود بیوژنز میتوکندریایی و از سوی دیگر مهار فعال‌سازی کمپلکس‌های موثر در ROS میتوکندری میوکارد شود (۳۲) می‌توان پیشنهاد کرد که تمرین استقامتی منظم با رعایت اصل تحریک و تثبیت اضافه بار، تولید ROS را مهارکرده و بنابراین دلیلی بر راه‌اندازی مکانیسم‌های جبرانی برای از بین بردن ROS و فعال سازی کمپلکس‌هایی که استرس اکسایشی و متعاقباً آپوپتوز را القاء می کنند وجود نداشته باشد. همچنین مکانیسم عدم‌بروز آپوپتوز در بافت قلب رت‌ها می‌تواند ناشی از افزایش تدریجی و آرام مدت تمرین و رعایت اصل تحریک و تثبیت در تنظیم برنامه رت‌ها باشد که طی سازگاری مناسب با آن موجب عدم‌افزایش تعداد سلول‌های آپوپتوزی ناشی از استرس تمرین و شدت آن در تحریک آپوپتوز گردید. علاوه‌بر این توجه به این نکته ضروری است که سرنوشت یک سلول به نسبت درون سلولی نیروی آنتی‌آپوپتوزی و پروآپوپتوزی آن بستگی دارد. علاوه بر این پژوهشگران در توجیه کاهش میزان آپوپتوز در اثر تمرین استقامتی منظم پیشنهاد کرده‌اندکه نیتریک اکساید (NO) در غلظت‌های فیزیولوژیکی به‌صورت معکوس سیتوکروم اکسیداز (کمپلکس IV از زنجیره انتقال الکترونی) را مهار می‌کند که منجر به هایپرپولاریزاسیون غشای میتوکندری می‌شود و بنابراین از آپوپتوز جلوگیری می‌کند. انواع مولکول‌های آنتی‌آپوپتوزی مستقیم و غیرمستقیم توسط NO تحت تنظیم افزایشی قرار می‌گیرند (۲۷). پروتئین‌های مختلف آنتی‌آپوپتوزی درون سلولی مانند نیتریک اکساید سنتاز القایی (iNOS)، لوسمی سلول میلوییدی یا مغز استخوانی (Mcl-1)، پروتئین تنظیم شده به‌وسیله گلوکز ۸ (Grp78) و اینترلوکین – ۸ در طی تمرین با شدت متوسط تحت تنظیم افزایشی قرار می‌گیرند و پس از بی‌تمرینی نیز در مقادیر بالا باقی می‌مانند. سطوح Mcl-1 به‌عنوان میانجی آنتی‌آپوپتوزی سیگنال NO به‌دلیل تخلیه مولکول اصلی پایین دست سیگنال NO یعنی گوانوزین مونو فسفات حلقوی (cGMP) سقوط می‌کند. به محض فعال‌سازی سیگنال NO-cGMP، نوتروفیل‌ها افزایش بیان Mcl-1 را حفظ کرده و روند آپوپتوز را کند می‌سازند. بنابراین پیشنهاد می‌شود که فعالیت ورزشی استقامتی با شدت متوسط از طریق تنظیم افزایشی مسیر iNOS-NO-cGMP-Mcl-1 روند آپوپتوز را کند می‌سازد (۲۷).

همچنین نتایج هافمن و همکاران (۲۰۰۹) (۳۳)، ناوالتا و همکاران (۲۰۰۹) (۳۴) و سرلوک و همکاران (۲۰۰۷) (۳۵) مغایر با نتایج این پژوهش بود. تفاوت یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج مطالعه هافمن و همکاران را می‌توان به نوع و شدت تمرین استفاده شده نسبت داد. یک نوبت فعالیت شدید منجر به تشکیل رادیکال‌های اکسیژنی فراتر از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن می‌شود که نشانه آن کاهش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز می‌باشد.

مکانیسم‌های متعددی در القای آپوپتوز در بافت میوکارد قلب دخیل می‌باشند که از آن جمله می‌توان به نقش استرس‌های اکسیداتیو اشاره نمود. رادیکال‌های آزاد اکسیژن حاصله از استرس‌های اکسیداتیو و غیرفعال شدن آنزیم کینازی ERK1-2 و فعال شدن آنزیم کینازی دیگری به نام C-juN/C-juN/AP-1 می‌تواند بیانگر وقوع آپوپتوز در پی استرس‌های اکسیداتیو باشند (۳۸-۳۶). درمجموع محققان دلایل احتمالی زیر را جهت افزایش آپوپتوز سهیم دانستند: افزایش در کلسیم سیتوزولی، افزایش وضعیت اکسایشی سلول و کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی در اثر نوع ورزش، تخلیه ذخایر گلیکوژنی عضلانی، افزایش هزینه انرژی تمرین، تغییرات متابولیکی و هورمونی (شامل افزایش گلوکوکورتیکوئیدها و سایتوکین‌های همراه التهاب)، افزایش بیان ژنی گیرنده‌های مرگ در سطح سلول و کاهش پتانسیل بین غشایی میتوکندری (۴۱-۳۹).

باتوجه به نوع، شدت و مدت فعالیت بدنی، طیف وسیعی از تغییرات در بدن افراد ایجاد می‌شود. فعالیت ورزشی با شدت زیاد باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، آسیب به بافت‌های بدن، تولید هورمون‌های استرس زا، تغییر در تعداد ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها، فعالیت ایمنی و در نهایت افزایش خطر ابتلاء به عفونت می‌شود (۴).

عضله قلب به‌عنوان یک بافت اکسیداتیو و با فعالیت مداوم یکی از بافت‌های مستعد جهت بروز آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر نظیر سوپراکسید، پراکسید و هیدروکسیل می‌باشد (۴۶). استرس اکسایشی با سطوح بالای MDA که از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی است نشان داده می‌شود (۴۷).

مالون دی‌آلدئید به‌عنوان مارکر پراکسیداسیون لیپیدی استرس اکسیداتیو، فرآورده نهایی تجزیه لیپیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن است. بنابراین افزایش میزان MDA بافت قلب نشان‌دهنده افزایش آسیب غشاء سلولی در این بافت به علت افزایش استرس اکسیداتیو و از سویی اختلال در مکانیزم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی این بافت‌ها در واکنش به تمرین می‌باشد (۴۸).

شکل‌های باز فعال اکسیژن مانند هیدروژن پراکسید می‌توانند سبب مرگ سلولی از طریق مکانیسم‌هایی مانند پراکسیداسیون لیپیدی، تغییر

پروتئین‌های سلولی و شروع راه‌های گوناگون ایجاد پیام‌های استرس شوند (۳۲).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از ویتامین D همراه با ۸ هفته تمرین استقامتی منظم و تزریق H_2O_2 باعث افزایش فعالیت MDA در برخی گروه‌های مورد مطالعه شده است. این نتایج همسو با نتایج مطالعه چن و همکاران (۲۰۰۰) می‌باشد که در آن، افزایش مالون دی‌آلدئید سرم قبلی پیرو ۵ ساعت شنای وامانده ساز با تحمل وزنی معادل ۸ درصد وزن موش‌ها ثبت شده بود (۴۹).

همچنین فیلومینو و همکاران (۲۰۱۲) (۵۰) و سوامی و همکاران (۲۰۱۱) (۵۱) که از پروتکل‌های تمرینی موازی قدرتی و استقامتی استفاده کرده بودند نیز افزایش در MDA را گزارش کردند. محققین سازوکارهای این افزایش را به عواملی از جمله فراخوانی لکوسیت‌ها در جریان ورزش به محل تارهای عضلانی آسیب دیده از یک سو و واکنش‌های التهابی به دنبال تمرینات شدید و افزایش هورمون‌هایی نظیر اپی نفرین و کورتیزول از سویی دیگر نسبت داده‌اند. البته اغلب مطالعات نشان داده‌اند که یک مرحله تمرین وامانده ساز یا فعالیت ورزشی شدید که مصرف اکسیژن را تا ۱۰ برابر افزایش می‌دهد باعث پراکسیداسیون لیپید و آسیب‌های درون بافتی و سلولی می‌شود (۵۲ و ۵۳).

همچنین این پژوهش، کاهش مقدار MDA را در گروه‌های تمرینی که مکمل استفاده کرده بودند نشان داد. این یافته با نتایج مطالعات کوکی و همکاران (۲۰۰۸) (۵۴)، کیم و همکاران (۱۹۹۶) (۵۵) و کان و همکاران (۲۰۰۸) (۵۶) همسو بود. آنها در مطالعات خود تأثیر مکمل آنتی‌اکسیدانی را بر آسیب عضلانی و فشار اکسایشی بررسی کرده و دریافته بودند که مالون‌دی‌آلدئید در گروه مکمل و تمرین نسبت‌به گروه دارونما کاهش یافت. احتمالاً کاهش مالون‌دی‌آلدئید استراحتی پلاسما در هر ۲ گروه تمرین مقاومتی با شدت زیاد و متوسط ناشی از افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی است. شاید افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژنی طی جلسات فعالیت مقاومتی، میزان مقاومت غشاء سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع سلول‌ها را نسبت‌به واکنش‌های پراکسیداسیون چربی افزایش داده باشد (۵۷ و ۵۸). به عقیده بعضی محققین، وجود اثرات متفاوت تمرینی ممکن است ناشی از وجود جایگاه‌های سلولی ویژه (جایی که اقسام اکسیژن واکنش‌پذیر تولید می شوند) و ظرفیت ضداکسایش پایه بافت‌های مختلف بدن باشد (۵۹). عضله اسکلتی پایین‌ترین میزان آنزیم‌های ضداکسایش را دارد و حمل اکسیژن به این بافت حین تمرین شدید می‌تواند تا ۱۰۰ برابر افزایش یابد. متابولیسم پایه قلب در حدود ۱۰۰ برابر کبد بوده و مغز نیز در حدود ۲۰ درصد اکسیژن معرفی بدن را مورد استفاده قرار می‌دهد (۶۰). این به معنای بالاتر و متفاوت بودن میزان پراکسیداسیون چربی ناشی از استرس اکسایش در این بافت‌ها و صدمه دیدگی آنها بر اثر تمرین می‌باشد. موضوع مهم دیگر اختلاف در شدت یا سنگینی تمرینات به اجرا در آمده می‌باشد که می‌تواند به سطوح متفاوتی از استرس اکسایش منجر گردد (۶۱ و ۶۲).

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که همراه با افزایش استرس اکسایشی ناشی از تزریق پراکسید هیدروژن (که با مقادیر بالای مالون دی‌آلدئید مشخص می‌شود) فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GPX و SOD قلب نیز افزایش می‌یابد. همسو با این نتایج برخی از محققین نیز افزایش در GPX و SOD بافت قلبی موش‌ها را نشان دادند (۶۳ و ۶۴). علاوه‌بر سوپر اکسیددیسموتازها، خانواده وابسته‌به گلوتاتیون‌ها نیز در مقابله با استرس اکسایشی نقش مهمی دارند. گلوتاتیون پراکسیداز به‌عنوان آنزیم آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در تنظیم آپوپتوزیس ایفاء می‌کند (۴۱). آسیب عضله قلبی در اثر اکسایش، نتیجه عدم‌تعادل بین تولید و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد به‌دلیل تولید گونه‌های نیتروژن و اکسیژن واکنشی و یا دفاع ناکافی آنتی‌اکسیدانی است (۵۹). در شرایط استراحتی بافت عضله قلبی افراد سالم دارای میزان سوخت و ساز اکسایشی بالا و فعالیت نسبتاً پایین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است. با توجه به اینکه سوخت و ساز بافت قلب هنگام فعالیت ورزشی به چندین برابر می‌رسد این وضعیت می‌تواند بافت قلبی را پس از یک مرحله ورزش مستعد آسیب اکسایشی سازد. با این حال، تمرین ورزشی یک محرک مهم برای سیستم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی محافظت کننده از قلب مانند SOD، GPX و CAT محسوب می‌شود. به‌نظر می‌رسد تمرین استقامتی فعالیت پایه برخی از این آنزیم‌ها را افزایش می‌دهد (۶۶). در واقع علت افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند یک پاسخ جبرانی در جهت مقابله با استرس اکسایشی ناشی از تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد باشد. GPX آنتی‌اکسیدان مهمی است که که پراکسید هیدروژن را احیا می‌کند. این آنزیم نه تنها پراکسید هیدروژن را حذف می‌کند بلکه از تولید سایر رادیکال‌های آزاد مضر مثل رادیکال هیدروکسیل نیز جلوگیری می‌کند. GPX نسبت‌به CAT میل ترکیبی بیشتری با پراکسید هیدروژن دارد. همچنین این آنزیم به مقدار زیادی در بافت قلب به ویژه در بخش‌های سیتوزولی و میتوکندریایی آن وجود دارد (۶۰). این شواهد نشان می‌دهند که GPX، به‌عنوان یک مکانیزم دفاعی در بافت قلبی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. همچنین این آنزیم نسبت‌به SOD اثرات محافظتی بیشتری در برابر آسیب اکسایشی دارد زیرا دیسموتاسیون (Dismutation) آنیون سوپر اکسید توسط SOD ممکن است باعث افزایش پراکسید هیدروژن شود. بنابراین GPX نسبت‌به SOD یا CAT از نظر محافظت سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها در برابر آسیب اکسایشی مؤثرتر است (۶۷).

مطابق با پژوهش حاضر، ناوارو (۱۹۹۸) (۶۸)، گاندوز (۲۰۰۴) (۶۹) و چولوا (۲۰۰۸) (۷۰) افزایش در مقادیر GPX و SOD را نشان دادند درصورتی که آلریچ (۲۰۰۷) (۷۱) و هیتر (۲۰۰۹) (۷۲) کاهش، و جودگی (۲۰۰۵) (۷۳) که از پروتکل ورزش با شدت متوسط استفاده کرده بود عدم‌تغییر را در این فاکتورها نشان دادند. شاید این اختلاف‌ها به‌دلیل وجود تفاوت در روش‌های مورد استفاده، نوع و شدت تمرین بدنی، زمان اندازه‌گیری متغیرها، سطح آمادگی جسمانی افراد، بافت مورد مطالعه و غیره باشد. به‌عنوان مثال، بعضی از مطالعات میدانی نشان داده‌اند که فعالیت‌های ورزشی سنگین، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در عظلات مختلف و به میزان کمتر در بافت قلبی و کبد را تحریک می‌کنند و میزان تغییر در این شاخص‌ها، احتمالاً به وضعیت یا شدت تمرین و نوع تارهای عضلانی درگیر بستگی دارد (۷۴ و ۷۵).

همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که SOD در اثر تمرین و مصرف ویتامین D افزایش می‌یابد در صورتی که کاتالاز افزایش معناداری نسبت‌به SOD نداشت. باتوجه به افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی SOD در مقایسه با CAT هنگام مصرف همزمان ویتامین D و تمرین می‌توان گفت که اولاً مصرف همزمان این دو تداخلی در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نداشته و ثانیاً تأثیر آن بر SOD که فعالیت بیشتری نسبت‌به CAT دارد زیادتر است. آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز اولین خط دفاعی سیستم دفاع آنزیمی علیه تولید گونه‌های فعال اکسیژن در خلال ورزش‌های وامانده ساز است. کاهش میزان فعالیت این آنزیم نشان‌دهنده کاهش بلوکه شدن تشکیل یون هیدروکسیل از پراکسید هیدروژن است. بنابراین غلظت رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد که منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود (۷۶). اما کاتالاز آنزیمی وابسته به آهن است و فعالیتی مشابه SOD دارد و بالاترین فعالیت آن در کبد و پایین‌ترین فعالیت آن در عضله اسکلتی برقرار می‌باشد. در عضله اسکلتی نیز فعالیت آن بر حسب نوع تار متفاوت است به‌طوری‌که بیشترین فعالیت را در تارهای نوع اول و کمترین فعالیت را در تارهای نوع دوم دارد (۴۶). از این‌رو افزایش کمتر آن در مقایسه با SOD در گروه‌های تمرینی مصرف‌کننده ویتامین D احتمالاً به‌دلیل کمتر بودن فعالیت کاتالاز در عضلات می‌باشد (۷۷).

نتایج این تحقیق در مورد افزایش فعالیت SOD در گروه تمرین و تمرین-مکمل با نتایج دیازی و همکاران (۲۰۱۱) (۷۸) و ریکاردو و همکاران (۲۰۰۶) (۷۷) همخوانی دارد. احتمالاً افزایش بیشتر فعالیت SOD به دنبال ۸ هفته تمرین در این گروه‌ها نتیجه افزایش بیشتر پراکسیداسیون لیپیدی و تولید رادیکال سوپراکسید می‌باشد. از این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که وجود متغیرهایی چون تمرین و مکمل، احتمالاً از طریق افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن ناشی از افزایش فعالیت SOD خارج سلولی در این دوره زمانی صورت گرفته است (۷۹). همچنین واتسون (۲۰۰۵) (۸۰)، پاریس (۲۰۰۵) (۸۱) و اوگونسکی (۲۰۰۵) (۸۲) عدم‌تغییر یا کاهش را پس از تمرین و مکمل دهی نشان داده بودند که مطابق با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد .کاهش ذکر شده را می‌توان به اثرات تطابقی ورزش استقامتی منظم و طولانی در افزایش مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو دانست. در مطالعه حاضر فعالیت این آنزیم در رت‌های سالم به‌دنبال ورزش کاهش یافته است که علت آن را می‌توان به اثرات مثبت تطابقی ورزش طولانی مدت و منظم در کاهش نیاز به آنزیم فوق جهت دفاع آنتی اکسیدانی و فعال شدن سایر مسیرهای آنتی‌اکسیدانی در افراد سالم نسبت داد. این امکان وجود دارد که مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی درون عضله اسکلتی و خون و تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی بتوانند تجمع رادیکال‌های آزاد را خنثی کرده، از فشار اکسایشی ناشی از تمرین برون‌گرا، التهاب و آسیب عضلانی جلوگیری کنند و ریکاوری را بهبود بخشند.

تمرینات استقامتی متداول و منظم با شدت متوسط باعث افزایش مقاومت بافت‌ها در برابر پراکسیداسیون لیپید شده و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها را افزایش می‌دهد (۵۰). نتایج تحقیق حاضر نیز همسو با این واقعیت می‌باشد. هر چقدر مدت و شدت تمرین استقامتی افزایش یابد تولید رادیکال‌های آزاد افزایش یافته و تارهای عضلانی صدمه بیشتری می‌یابند (۵۱). در کل باتوجه به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی SOD با مصرف D و نیز افزایش بیشتر آن در گروه‌های تمرینی به‌نظر می‌رسد ترکیب نمودن فعالیت ورزش استقامتی و مصرف D برای افزایش اثرات مفید آن بر سیستم آنتی‌اکسیدانی بهتر باشد. لذا بر اساس مطالب بیان شده، دلایل این نتایج مغایر را می‌توان به پروتکل‌های تمرینی متفاوت، پاسخ‌های پراکسیداسون لیپیدی، ابزار اندازه گیری متفاوت، بافت‌های گوناگون مورد آزمایش، منطقه جغرافیایی، فقر آنتی‌اکسیدانی، تعداد نمونه‌ها، دریافت رژیم غذایی و غیره نسبت داد (۵۹ و ۸۳).

این مطالعه نشان داد که ترکیب تمرین استقامتی و ویتامین D باعث افزایش معنادار و خیلی بیشتری در فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX می‌شود.

این مقاله دارای کد کمیته اخلاق IR.KMU.REC.1396.1562 از دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان کرمان می‌باشد.

از مجموع نتایج تحقیقات بیان شده فوق می‌توان استنباط کرد که بهره مندی از وضعیت دفاع ضداکسایشی و سیستم ایمنی مطلوب‌تر بدن و متعاقباً کاهش و کنترل بیماری‌های قلبی- عروقی و کاهش زودرس فرآیند پیری در پرتو آن دسته از فعالیت‌های بدنی به‌دست

خواهد آمد که زندگی درون سلولی و بافت‌های حیاتی بدن را در معرض استرس اکسایشی شدید و شرایط مخاطره‌آمیز دیگر قرار ندهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری دررشته فیزیولوژی ورزش ، گرایش قلب وتنفس می باشد . نویسندگان این مقاله از همکاری ریاست وکادر اجرایی مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان کمال تشکروقدردانی را ابراز می نمایند.

References

1. Dill DB, Costill DL. Calculation of percentage changes of blood, plasma and red cells in hydration. J Appl Physiol 1974;37:247-8. doi: 10.1152/jappl.1974.37.2.247
2. Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. Toxicol Pathol 2007;35:495-516. doi: 10.1080/01926230701320337
3. Hunter GR, Wetzstein CJ, Fields DA, Brown A, Bamman MM. Resistance training increases total energy expenditure and free-living physical activity in older adults. J Appl Physiol 2000;89:977-84. doi: 10.1152/jappl.2000.89.3.977
4. Kruger K, Frost S, Most E, Volker K, Pallauf J, Mooren FC. Exercise affects tissue lymphocyte apoptosis via redox-sensitive and Fas-dependent signaling pathways. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2009;296:R1518-27. doi: 10.1152/ajpregu.90994.2008
5. Mooren FC, Blöming D, Lechtermann A, Lerch MM, Volker K. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. J Appl Physiol 2002;93:147-53. doi: 10.1152/japplphysiol.01262.2001
6. Navalta JW, Sedlock DA, Park KS. Effect of exercise intensity on exercise induced lymphocyte apoptosis. Int J Sports Med 2007;28:539-42. doi: 10.1055/s-2006-955898
7. Jackson MJ, Pye D, Palomero J. The production of reactive oxygen and nitrogen species by skeletal muscle. J Appl Physiol 2007;102:1664-70. doi: 10.1152/japplphysiol.01102.2006
8. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: Their relation to human disease and environmental stress. Environ Health Perspect 1994;102:5-12.
9. Bloomer RJ, Goldfarb AH. Anaerobic exercise and oxidative stress: A review. Can J Appl Physiol 2004;29:245-63.
10. Haycock JW, Jones P, Harris JB, Mantle D. Differential susceptibility of human skeletal muscle proteins to free radical induced oxidative damage: A histochemical, immu-nocytochemical and electron microscopical study in vitro. Acta Neuropathol 1996;92:331-40.
11. Mooren FC, Blöming D, Lechtermann A, Lerch MM, Volker K. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. J Appl Physiol 2002;93:147-53. doi: 10.1152/japplphysiol.01262.2001
12. Volker K, Bischoff A, Agnischock S, Lechtermann A, Kruger K, Mooren FC. lymphocyte and granulocyte apoptosis after exhaustive and moderate resistance training. Medicine and Science in Sports and Exercise 2007;39:S172.
13. Mooren FC, Lechtermann A, Volker K. Exercise-induced apoptosis of lymphocytes depends on training status. Med Sci Sports Exerc 2004;36:1476-83.
14. Bloomer RJ. Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. Adv Clin Chem 2008;46:1-50.
15. Hunter GR, Wetzstein CJ, Fields DA, Brown A, Bamman MM. Resistance training increases total energy expenditure and free-living physical activity in olderadults. J Appl Physiol 2000;89:977-84. doi: 10.1152/jappl.2000.89.3.977
16. Zoppi CC, Macedo DV. Overreaching-induced oxidative stress, enhanced HSP72 expression, antioxidant and oxidative enzymes downregulation. Scand J Med Sci Sports 2007;18:67-76. doi: 10.1111/j.1600-0838.2006.00630.x
17. Schippinger G, Wonisch W, Abuja PM, Fankhauser F, Winklhofer-Roob BM, Halwachs G. Lipid peroxidation and antioxidant status in professional American football players during competition. Eur J Clin Invest 2002;32:686-92.
18. Hoffman JR, Im J, Kang J, Maresh CM, Kraemer WJ, French D, et al. Comparison of low- and high-intensity resistance exercise on lipid peroxidation: Role of muscle oxygenation. J Strength Cond Res 2007;21:118-22. doi: 10.1519/00124278-200702000-00022
19. Bloomer RJ, Goldfarb AH, Wideman L, McKenzie MJ, Consitt LA. Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. J Strength Cond Res 2005;19:276-85. doi: 10.1519/14823.1
20. Boraita Pérez A. Exercise as the cornerstone of cardiovascular prevention. Rev Esp Cardiol 2008;61:514-28.
21. Aguiló A, Tauler P, Pilar Guix M, Villa G, Córdova A, Tur JA, et al. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. J Nutr Biochem 2003;14:319-25.
22. Ognovszky H, Berkers I, Kumagia S, Kaneko T, Tahara S, Goto S, et al. The effects of moderate-, strenuous-and over-training on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in rat brain. Neurochem Int 2005;46:635-40.
23. Vincent HK, Bourguignon CM, Weltman AL, Vincent KR, Barrett E, Innes KE, et al. Effects of antioxidant supplementation on insulin sensitivity, endothelial adhesion molecules, and oxidative stress in normal-weight and overweight young adults. Metabolism 2009;58:254-62. doi: 10.1016/j.metabol.2008.09.022
24. Moffarts B, Portier K, Kirschvink N, Coudert J, Fellmann N, van Erck E, et al. Effects of exercise and oral antioxidant supplementation enriched in (n-3) fatty acids on blood oxidant markers and erythrocyte membrane fluidity in horses. Veterinary J 2007;174:113-21. doi: 10.1016/j.tvjl.2006.06.001
25. Afzalpour ME, Gharakhanlou R, Gaeini AA, Mohebbi H, Hedayati M, Khazaei M. The effects of aerobic exercises on the serum oxidized LDL and total antioxidant capacity in non-active men. CVD Prevention and Control 2008;3:77-82. doi: 10.1016/j.cvdpc.2008.01.002
26. Tyldum GA, Schjerve IE, Tjønna AE, Kirkeby-Garstad I, Stølen TO, Richardson RS, et al. Endothelial dysfunction induced by post-prandial lipemia: complete protection afforded by high-intensity aerobic interval exercise. J Am Coll Cardiol 2009;53:200-6. doi: 10.1016/j.jacc.2008.09.033
27. Su SH, Jen CJ, Chen HI. NO signaling in exercise training-induced anti-apoptotic effects in human neutrophils. Biochem Biophys Res Commun 2011;405:58-63. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.12.123
28. Baek SS, Jun TW, Kim KJ, Shin MS, Kang SY, Kim CJ. Effects of postnatal treadmill exercise on apoptotic neuronal cell death and cell proliferation of maternal-separated rat pups. Brain Dev 2012;34:45-56. doi: 10.1016/j.braindev.2011.01.011
29. Mirdar Sh, Arab A, Hedayati M, Hajizade A. The effect of pregnant rat swimming on hypoxia-inducible factor-1α levels of neonatal lung. Tehran Univ Med J 2012;69:754-60.
30. Peters EM, Van Eden M, Tyler N, Ramautar A, Chuturgoon AA. Prolonged exercise does not cause lymphocyte DNA damage or increased apoptosis in well-trained endurance athletes. Eur J Appl Physiol 2006;98:124-31. doi: 10.1007/s00421-006-0227-4

31. Qi Z, He J, Zhang Y, Shao Y, Ding S. Exercise training attenuates oxidative stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. Free Radic Biol Med 2011;50:794-800. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.022

32. Sun L, Shen W, Liu Z, Guan S, Liu J, Ding S. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: Effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. Life Sci 2010;86:39-44. doi: 10.1016/j.lfs.2009.11.003

33. Hoffman-Goetz L, Pervaiz N, Guan J. Voluntary exercise training in mice increases the expression of antioxidant enzymes and decreases the expression of TNF-alpha in intestinal lymphocytes. Brain Behav Immun 2009;23:498-506. doi: 10.1016/j.bbi.2009.01.015

34. Navalta JW, McFarlin BK, Lyons TS, Faircloth JC, Bacon NT, Callahan ZJ. Exercise-induced lymphocyte apoptosis attributable to cycle ergometer exercise in endurance-trained individuals. Appl Physiol Nutr Metab 2009;34:603-8. doi: 10.1139/H09-018

35. Navalta JW, Sedlock DA, Park KS, McFarlin BK. Neither gender nor menstrual cycle phase influences exercise-induced lymphocyte apoptosis inuntrained subjects. Appl Physiol Nutr Metab 2007;32:481-6. doi: 10.1139/H07-022

36. Atalay M, Laaksonen DE. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. J Sports Sci Med 2002;1:1-14.

37. Doustar Y, Salehi I, Mohamadi M, Mohajeri D, Hashemi M. Study of effects of treadmill exercise on diabetic nephropathy in rats. Medical Science Journal of Islamic University Tehran Medical Unit 2007;17:187-93.[Persian].

38. Fahim MA, el-Sabban F, Davidson N. Muscle contractility decrement and correlated morphology during the pathogenesis of streptozotocin-diabetic mice. Anat Rec 1998;251:240-4.

39. Steensberg A, Morrow J, Toft AD, Bruunsgaard H, Pedersen BK. Prolonged exercise, lymphocyte apoptosis and F2-isoprostanes. Eur J Appl Physiol 2002;87:38-42. doi: 10.1007/s00421-002-0584-6

40. Tuan TC, Hsu TG, Fong MC, Hsu CF, Tsai KK, Lee CY, Kong CW. Deleterious effects of short-term, high-intensity exercise on immune function: evidence from leucocyte mitochondrial alterations and apoptosis. Br J Sports Med 2008;42:11-15. doi: 10.1136/bjsm.2006.029314

41. Wang JS, Huang YH. Effects of exercise intensity on lymphocyte apoptosis induced by oxidative stress in men. Eur J Appl Physiol 2005;95:290-7. doi: 10.1007/s00421-005-0005-8

42. Schumacher Y, Schmid A, König D, Berg A. Effects of exercise on soluble transferring receptor and other variables of the iron status. Br J Sports Med 2002;36:195-9. doi: 10.1136/bjsm.36.3.195

43. Shemshaki A, Ghanbari N, Rajab H, Hedayati M, Salami F. Intense alpine skiing exercise on anti-oxidant status of male skiers. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism 2006;9:291-7.[Persian].

44. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. Free Radic Biol Med 2008;44:126-31. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.001

45. Poirier B, Lannaud-Bournoville M, Conti M, Bazin R, Michel O, Bariety J, et al. Oxidative stress occurs in absence of hyperglycemia and inflammation in the onset of kidney lesions in normotensive obese rats. Nephrol Dial Transplant 2000; 15:467-76.

46. Ascensao A, Ferreira R, Magalhaes J. Exercise-induced cardioprotection--biochemical morphological and functional evidence in whole tissue and isolated mitochondria. Int J Cardiol 2007;117:16-30. doi: 10.1016/j.ijcard.2006.04.076

47. Wang GG, Li W, Lu XH, Zhao X, Xu L. Taurine attenuates oxidative stress and alleviates cardiac failure in type I diabetic rats. Croat Med J 2013;54:171-9.

48. Ascensão A, Magalhães J, Soares J, Ferreira R, Neuparth M, Marques F, et al. Endurance training attenuates doxorubicin-induced cardiac oxidative damage in mice. Int J Cardiol 2005;100:451-60. doi: 10.1016/j.ijcard.2004.11.004

49. Turgut G, Demir S, Genç O, Karabulut I, Akalin N. The effect of swimming exercise on lipid peroxidation in the rat brain, liver and heart. Acta Physiol Pharmacol Bulg 2003;27:43-5.

50. Santana-Filomeno F, Kormanovski A, Hernández-Cruz T, Campos-Rodríguez R. Oxidant/antioxidant response during fasting and exhaustive swimming in the kidney of trained mice. Journal of Cell and Animal Biology 2012;6:175-81. doi: 10.5897/JCAB11.055

51. Swamy MS, Sivanna N, Tamatam A, Khanum F. Effect of poly phenols in enhancing the swimming capacity of rats. Functional Foods in Health and Disease 2011;1:482-91

52. Saxton JM, Donnelly AE, Roper HP. Indices of feer-radical mediated damage following maximum voluntary eccentric and concentric muscular work. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1994;68:189-93.

53. Jorde UP, Colombo PC, Ahuja K, Hudaihed A, Onat D, Diaz T, et al. Exercise-induced increases in oxidized low-density lipoprotein are associated with adverse outcomes in chronic heart failure. J Card Fail 2007;13:759-64. doi: 10.1016/j.cardfail.2007.06.724

54. Cooke M, Iosia M, Buford T, Shelmadine B, Hudson G, Kerksick C, et al. Effects of acute and 14-day coenzyme Q10 supplementation on exercise performance in both trained and untrained individuals. J Int Soc Sports Nutr 2008;5:8. doi: 10.1186/1550-2783-5-8

55. Kim JD, Yu BP, McCarter RJ, Lee SY, Herlihy JT. Exercise and diet modulate cardiac lipid peroxidation and antioxidant defenses. Free Radic Bio Med 1996;20:83-8.

56. Kon M, Tanabe K, Akimoto T, Kimura F, Tanimura Y, Shimizu K, et al. Reducing exercise-induced muscular injury in kendo athletes with supplementation of coenzyme Q10. Br J Nutr 2008;100:903-9. doi: 10.1017/S0007114508926544

57. Saxton JM, Donnelly AE, Roper HP. Indices of free-radical-mediated damage following maximum voluntary eccentric and concentric muscular work. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1994;68:189-93.

58. McBride JM, Kraemer WJ, Triplett-Mcbride T, Sebastianelli W. Effect of resistance exercise on free radical production. Med Sci Sports Exerc 1998;30:67-72.

59. Hernandez-Torres RP, Ramos-Jimenez A, Torres-Duran PV, Romero-Gonzalez J, Mascher D, Posadas-Romero C, et al. Effects of single sessions of low-intensity continuous and moderate-intensity intermittent exercise on blood lipids in the same endurance runners. J Sci Med Sport 2009;12:323-31. doi: 10.1016/j.jsams.2007.12.002

60. Ziegler S, Schaller G, Mittermayer F, Pleiner J, Mihaly J, Niessner A, et al. Exercise training improves low-density lipoprotein oxidability in untrained subjects with coronary artery disease. Arch Phys Med Rehabil 2006;87:265-9.

61. Afzalpour ME, Gharakhanlou R, Gaeini AA, Mohebbi H, Hedayati M, Khazaei M. The effects of aerobic exercises on the serum oxidized LDL and total antioxidant capacity in non-active men. CVD Prevention and Control 2008;3:77-82. doi: 10.1016/j.cvdpc.2008.01.002

62. Margonis K, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Douroudos I, Chatzinikolaou A, et al. Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: implications for diagnosis. Free Radic Biol Med 2007;43:901-10. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.05.022

63. Rauscher FM, Sanders RA, Watkins JB. Effects of coenzyme Q10 treatment on antioxidant pathways in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. J Biochem Mol Toxicol 2001;15:41-6.

64. Ouali K, Trea F, Toumi ML, Bairi M, Siaud P, Guellati M. Oxidative stress in streptozotocin-inducedexperimental diabetes in

rats is associated with changes of antioxidant status of heart tissue. Sci Technologie C 2007;18-23.

65. Raedschelders K, Ansley DM, Chen DD. The cellular and molecular origin of reactive oxygen species generation during myocardial ischemia and reperfusion. Pharmacol Ther 2012;133:230-55. doi: 10.1016/j.pharmthera.2011.11.004

66. Ascensão A, Magalhães J, Soares J, Oliveira J, Duarte JA. Exercise and cardiac oxidative stress. Rev Port Cardiol 2003; 22:651-78.

67. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S, Yokota T. Oxidative stress in cardiac and skeletal muscle dysfunction associated with diabetes mellitus. J Clin Bioche Nutr 2011;48:68-71. doi: 10.3164/jcbn.11-012FR

68. Navarro AA, Sanchez–Del-Pino MJ. Age and exercise-related changes in lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in liver and soleus muscle tissue of rats. Mech Ageing Dev 1998;104:91-102.

69. Gunduz F, Senturk UK, Kuru O, Aktekin B, Aktekin MR. The effect of one year swimming exercise on oxidant stress and antioxidant capacity in aged rats. Physiol Res 2004;53:171-6.

70. Cholewa J, Poprzęcki S, Zajac A, Waskiewicz Z. The influence of vitamin C on blood oxidative stress parameters in basketball players in response to maximal exercise. Science & Sports 2008;23:176-82. doi: 10.1016/j.scispo.2008.01.004

71. Jorde UP1, Colombo PC, Ahuja K, Hudaihed A, Onat D, Diaz T, et al. Exercise-induced increases in oxidized low-density lipoprotein are associated with adverse outcomes in chronic heart failure. J Card Fail 2007;13:759-64. doi: 10.1016/j.cardfail.2007.06.724

72. Vincent HK, Bourguignon CM, Weltman AL, Vincent KR, Barrett E, Innes KE, et al. Effects of antioxidant supplementation on insulin sensitivity, endothelial adhesion molecules, and oxidative stress in normal-weight and overweight young adults. Metabolism 2009;58:254-62. doi: 10.1016/j.metabol.2008.09.022

73. Judge S, Jang YM, Smith A, Selman C, Phillips T, Speakman JR, et al. Exercise by lifelong voluntary wheelrunning reduces subsarcolemmal and interfibrillar mitochondrial hydrogen peroxide production in the heart. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2005;289:R1564-72. doi: 10.1152/ajpregu.00396.2005

74. Gaieni AA, Mogharnesi M, Goudarzi M, Soori R. The estimate of the blood lipid variables using young students' BF% and LBM indicators. Journal of Sport Sciences 2005;1:49-58.

75. Afzalpour ME, Gharakhanlou R, Gaieni AA, Mohebi H, Hedayati M. Effects of moderate and vigorous aerobic exercise on the serum aryl esterase enzyme activity and total antioxidant capacity in sedentary men. Research on Sport Sciences 2005; 9:34.

76. Warner DS, Sheng H, Batinić-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. J Exp Biol 2004;207:3221-31. doi: 10.1242/jeb.01022

77. Pinho RA, Andrades ME, Oliveira MR, Pirola AC, Zago MS, Silveira PC, et al. Imbalance inSOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. Cell Biol Int 2006;30:848-53. doi: 10.1016/j.cellbi.2006.03.011

78. Díaz-Castro J, Guisado R, Kajarabille N, Garacia C, Guisado I, de Teresa C, et al. Coenzyme Q10 supplementation ameliorates inflammatory signaling and oxidative stress associated with

strenuous exercise. Eur J Nutr 2011;51:791-9. doi 10.1007/s00394-011-0257-5

79. Vani M, Reddy GP, Reddy GR, Thyagraju K, Reddanna P. Glutathion-S-transferase, superoxide dismutase, xanthine oxidase, catalase, glutathione proxidase and lipid peroxidation in the liver of exercised rats. Biochem Int 2000;21:17-26.

80. Watson TA, MacDonald-Wicks LK, Garg ML. Oxidative stress and antioxidants in athletes undertaking regular exercise training. Int J Sport Nutr Exerc Metab 2005;15:131-46.

82. Ogonovsky H, Sasvari M, Dosek A, Berkes I, Kaneko T, Tahara S, et al. The effects of moderate, strenuous and overtraining on oxidative stress markers and DNA repair in rat liver. Can J Appl Physiol 2005;30:186-95.

81. Parise G, Phillips SM, Kaczor JJ, Tarnopolsky MA. Antioxidant enzyme activity is up- regulated after unilateral resistance exercise training in older adults. Free Radic Bio Med 2005;39:289-95. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.03.024

83. Siadat ZD, Kiani K, Sadeghi M, Shariat AS, Farajzadegan Z, Kheirmand M. Association of vitamin D deficiency and coronary artery disease with cardiovascular risk factors. J Res Med Sci 2012;17:1052-5.

84. Radák Z, Sasvári M, Nyakas C, Pucsok J, Nakamoto H, Goto S. Exercise preconditioning against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in proteins of rat myocardium. Arch Biochem Biophys 2000;376:248-51. doi: 10.1006/abbi.2000.1719

85. Li SF, Liu HX, Zhang YB, Yan YC, Li YP. The protective effects of alpha-ketoacids against oxidative stress on rat spermatozoa in vitro. Asian J Androl 2010;12:247-56. doi: 10.1038%2Faja.2009.78

86. Maletic S, Dragicevic-Djokovic LM, Ognjanovic B, Zikic R, StajnA, Kostic M. Alterations of rat reticulocyte (anti) oxidant status and energy metabolism influenced by hydrogen-peroxide. Acta Biologica Iugoslavica Serija C 1999;35:???.

87. Makino A, Skelton MM, Zou AP, Cowley AW. Increased renal medullary H2O2 leads to hypertension. Hypertension 2003;42:25-30. doi: 10.1161/01.HYP.0000074903.96928.91

88. Halder SK, Sharan C, Al-Hendy A. 1,25-dihydroxyvitamin D3 treatment shrinks uterine leiomyoma tumors in the Eker rat model. Biol Reprod 2012;86:116. doi: 10.1095/biolreprod.111.098145

89. Husain K, Hazelrigg SR. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: effect of regular exercise on the heart. Biochim Biophys Acta 2002;1587:75-82. doi: 10.1016/S0925-4439(02)00070-4

90. Plant DR, Gregorevic P, Warmington SA, Williams DA, Lynch GS. Endurance training adaptations modulate the redox–force relationship of rat isolated slow-twitch skeletal muscles. Clin Exp Pharmacol Physiol 2003;30:77-81

91. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Mafakheri M. Neuroprotective effect of silymarin in 6-hydroxydopamine hemi-parkinsonian rat: involvement of estrogen receptors and oxidative stress. Neurosci Lett 2010;480:206-10. doi: 10.1016/j.neulet.2010.06.038

92. Jadhav S, Sarkar S, Tripathi H. Cytogenetic effects of a mixture of selected metals following subchronic exposure through drinking water in male rats. Indian J Exp Biol 2006;44:997-05.

Journal of Knowledge & Health
in Basic Medical Sciences 2018; Vol 13, No 2

DOI: 10.22100/jkh.v13i2.1935

Original Article

The Simultaneous Effect of Regular Exercise and Vitamin D on Apoptosis Level and Antioxidant Enzymes of Heart Tissue of Male Rats Exposed to Oxygenated Water

Mehdi Pirooz (Ph.D. Student)[1], Mohammad Ali Azarbayjani (Ph.D.)[1*], Seyed Ali Hosseini (Ph.D.)[2], Maghsoud Peeri (Ph.D.)[1]

1- Dept. of Sport Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2- Dept. of Sport Physiology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran.

Received: 14 May 2018**, Accepted:** 27 May 2018

Abstract:

Introduction: *Biological effects of strong oxidizing compounds in the human body are controlled by antioxidant agents. Disorders of the organs may be result of reactions between free radicals and cells membrane. It has been shown that the main objective of the oxygen radicals is the lipids cell membrane. The aim of this study was to evaluate the myocardial cellular vulnerability and the evaluation of antioxidant enzymes in the heart tissue of male rats.*

Methods: *Sixty adult male wistar rats, 220 ± 220 gram and 8-10 weeks years old, were randomly assigned into 10 groups of six by considering stress, vitamin D and regular exercise activities. Groups were control, water Oxygenated water H_2O_2 (H); twice Oxygen water of $2H_2O_2$ (2H), Oxygen water + Vitamin D (HD), Oxygen water doubles + Vitamin D (2HD), Oxygenated water + Exercise (HE), Oxygenated water twice + Exercise (2HE)), Oxygenated Water + Exercise + Vitamin D (HDE), Oxygenated Water + Double Exercise + Vitamin D (2HDE) and finally Diethyl Sulfoxide + Saline (DMSO) were subjected to an intervention protocol for 8 weeks. Then, the concentration of antioxidant enzymes in measuring heart tissue analysis of variance was analyzed by the three-way anova. The significance level was set at 0.05.*

Results: *The results showed that exercise increased SOD and GPX, but catalase increase was not significant. Also, exercise interaction with vitamin D also increased the antioxidant enzymes, but these enzymes did not increase in groups which did not complete the exercise. On the other hand the concentration of malondialdehyde MDA increased in these groups. The combination of exercise, vitamin D and oxygenated water has a synergistic effect on inhibiting the activity of the FAS protein, and is effective in protect and controlling the complications of apoptosis and myocardial inflammation.*

Conclusion: *Concerning the use of different doses of H_2O_2 in comparison with the training group and D alone or in the control group, it was shown that the combination of endurance training and D increased significantly the activity of SOD and GPX enzymes.*

Keywords: Oxidative stress, Regular exercise activity, Malondialdehyde, SOD, CAT.

Conflict of Interest: No

***Corresponding author:** M.A. Azarbayjani**, Email:** m_azarbayjani@iauctb.ac.ir*

Citation: Pirooz M, Azarbayjani MA, Hosseini SA, Peeri Maghsoud. The simultaneous effect of regular exercise and vitamin d on apoptosis level and antioxidant enzymes of heart tissue of male rats exposed to oxygenated water. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2018;13(2):29-41.