● مقاله تحقیقی

بررسی نقش مکمل یاری بذر کدو و فعالیت ورزشی استقامتی بر عوامل استرس اکسیداتیوی

فاطمه زیرراهیان[۱]، *طاهره باقرپور[۲]، نعمت اله نعمتی[۳]، ویدا حجتی[۴]

چکیده

مقدمه: در سالهای اخیر توجه به استفاده از گیاهان با خواص آنتی‌اکسیدانی معطوف شده است. این پژوهش با هدف بررسی نقش مکمل یاری بذر کدو و فعالیت ورزشی بر عوامل استرس اکسیداتیوی بافت کبد رت‌های نر مسموم شده با پراکسید هیدروژن انجام شد.

روش بررسی: تعداد۴۸ سر رت نر بالغ از نژاد ویستار به صورت تصادفی به شش گروه هشت تایی (شامل شم، بذر کدو g/Kg ۱، بذر کدو g/Kg ۲، تمرین، تمرین+ بذر کدو g/Kg ۱و تمرین+بذر کدو g/Kg ۲) تقسیم شدند. جهت القا استرس اکسیداتیو تزریق درون صفاقی H_2O_2 با دوز ۲mmol/Kg به صورت سه بار در هفته انجام شد. القا مکمل بذر کدو به صورت ۰/۵ میکروگرم روزانه به صورت خوراکی با غلظت UI/ml ۳۰۰۰۰۰ خورانده شد. پروتکل تمرین با سرعت ۸m/min و شیب ۱۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه بر روی تردمیل در هفته اول شروع و به تدریج به سرعت ۲۰m/min با زاویه ۱۰ درجه به مدت ۶۰ دقیقه در هفته هشتم رسید.

یافته‌ها: نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین استقامتی اثر معنی‌داری بر غلظت ATP، PAB، MDA و 6-Methylguanine بافت کبد دارد (p=۰/۰۰۱). بذر کدو نیز اثر معنی‌داری بر غلظت ATP، PAB بافت کبد داشت (p=۰/۰۰۱). تعامل تمرین و بذر کدو نیز اثر معنی‌داری برغلظت PAB، MDA و 6-Methylguanine داشت (p=۰/۰۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری: مصرف مکمل بذرکدو به همراه تمرین استقامتی می‌تواند باعث کاهش استرس اکسیداتیو در بافت کبد گردد.

کلمات کلیدی: کدو، دانه، تمرین استقامتی، استرس اکسیداتیو

فصلنامه علمی پژوهشی ابن‌سینا / اداره بهداشت، امداد و درمان نهاجا (سال بیست و دوم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۹، مسلسل ۷۱)

تاریخ دریافت: ۹۸/۵/۷ تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۲۱

۱. دانشجوی دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دامغان، ایران

۲. استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دامغان، ایران (*مؤلف مسئول)

bagherpoor_ta@yahoo.com

۳. دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دامغان، ایران

۴. استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، گروه زیست شناسی، دامغان، ایران

مقدمه

اثرات مفید فعالیت ورزشی در بهبود سلامتی و پیشگیری از بیماری‌های مختلف به‌خوبی شناخته‌شده است [۱]. در مدت فعالیت ورزشی سنگین انتشار اکسیژن به عضلات اسکلتی فعال به دلیل افزایش اکسیژن مصرفی، ۱۰ تا ۲۰ برابر افزایش می‌یابد [۲]. چنین شتابی در میزان متابولیسم اکسیداتیو، با افزایش گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) [1] همراه است، بنابراین فعالیت ورزشی ممکن است باعث ایجاد استرس اکسیداتیو شود[۱].

نامطلوب بودن وضعیت تغذیه‌ای در ورزشکاران به دلیل کاهش کیفیت زندگی یا عدم توجه به آن، زمینه بروز بسیاری از بیماری‌ها از جمله قلبی- عروقی، دیابت و سرطان را فراهم می‌کند [۳] و از آنجا که مصرف مواد غذایی حاوی آنتی‌اکسیدان از بروز این بیماری‌ها جلوگیری می‌کند، مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی مورد توجه قرار گرفته است. ورزشکاران نیز برای کاهش سطوح و یا حذف رادیکال‌های آزاد مکمل‌های ویتامینی را مصرف می‌کنند [۴]. علاوه بر مصرف مواد ویتامینی مانند ویتامین‌های E, A و C که دارای خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانی هستند، توجه به سایر آنتی‌اکسیدان‌ها در رژیم غذایی مانند میوه و سبزیجات ضروری است.

در سالهای اخیر توجه اکثر پژوهشگران به استفاده از گیاهان دارویی و طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی معطوف شده است. از طرفی دیگر، در حال حاضر مصرف بعضی از گیاهان دارویی برای درمان و پیشگیری بسیاری از بیماریها افزایش یافته است. بنابراین با توجه به اینکه مصرف مکمل‌های گیاهی در مقایسه با داروهای صنعتی اثرات جانبی کمتری دارد، احتمالاً استفاده از این مکمل‌های گیاهی در برخی موارد می‌تواند جایگزین مناسبی برای دارودرمانی باشد. یکی از این گیاهان طبیعی ضد اکسایشی بذر کدو[2] است [۵].

بذر کدو که از منابع غنی اسیدهای چرب غیر اشباع، آنتی‌اکسیدان‌ها و فیبر است، که به عنوان ضد گرفتگی عروق و محافظت کننده کبد شناخته می‌شود [۵]. از خصوصیات روغن دانه کدو رنگ سبز تیره، که ناشی از حضور رنگدانه‌های کلروفیلی و کارتنوئیدی فراوان است. همچنین این روغن سرشار از اسید اولئیک و اسید چرب ضروری لینولئیک اسید است. بذر کدو با کاهش سرطان، سلامت قلب، بیضه، پروستات، بهبود خواب و کاهش قند خون در ارتباط است. از طرفی استرول عمده این روغن دلتا-۷-استنول و توکوفرول آن عمدتاً گاما توکوفرول است که نقش آنتی‌اکسیدانی دارد. دانه‌های کدو سرشار از آنتی‌اکسیدان هستند که وجود آنها در غلظت کم اکسیداسیون را به تأخیر می‌اندازند یا کاهش می‌دهند [۵].

تمرین تداومی منظم هم به عنوان عاملی مؤثر در تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن شناخته شده است. مالون دی آلدهید (MDA)[3] از محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدی است که از آن به طور وسیع به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو استفاده می‌شود. همچنین مالون دی آلدئید یک گروه کربونیل تولید شده در طی پراکسیداسیون لیپیدها است [۵]. به طور کلی اگر چه فعالیت ورزشی از یکسو با افزایش فشار اکسایشی، احتمال تشکیل رادیکال‌های آزاد مضر را افزایش می‌دهند، اما از سوی دیگر با القای آنزیم‌های ضد اکسایشی سبب کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شوند[۵]. مطالعات تأثیر تمرینات منظم و با شدت متوسط را در افزایش ظرفیت دفاع ضداکسایشی و کاهش فشار اکسایشی نشان داده‌اند [۵]. خورجهانی و همکاارن (۱۳۹۷) در پژوهشی به بررسی تأثیر ورزش اجباری تردمیل دوران نوجوانی بر علائم اضطراب و استرس اکسیداتیو روده رت‌های نر بالغ دچار استرس جدایی از مادر پرداختند. نتایج پژوهش آنها نشان داد که استرس جداسازی نوزاد از مادر توانسته بود ضمن بروز رفتارهای شبه اضطرابی، وضعیت اکسایشی روده را نیز به میزان معنی داری تغییر دهد [۶]. همچنین گواهی و همکاران (۱۳۹۸) در پژوهشی به بررسی

1. Reactive oxygen species
2. Pumpkin seeds
3. Malondialdehyde

مکمل کلرلا ولگاریس[1] و استرس اکسیداتیو پرداختند. نتایج آنها نشان داد که فعالیت بدنی تناوبی با شدت بالا همراه با مکمل‌دهی کلرلا می‌تواند اثرات مفیدتری بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در افراد دارای اضافه وزن داشته باشد [۷]. به نظر می‌رسد تمرین ورزشی استقامتی به طور منظم سازگاری‌های آنتی‌اکسیدانی مناسبی را ایجاد می‌کند و مانع از افزایش عوامل فشار اکسایشی می‌شود. با توجه به مطالب فوق‌الذکر و از آنجا که مسمومیت با آب اکسیژنه منجر به آسیب اکسیداتیو شده و ممکن است فعالیت بدنی منظم با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به کاهش فشار اکسیداتیو شود. همچنین در این زمینه استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی احتمال دارد بتواند این اثر فعالیت بدنی منظم را تقویت کند؛ با توجه به نتایج جستجوهای ما تاکنون تحقیقی که اثر همزمان فعالیت بدنی منظم و عصاره بذر کدو را بر آسیب اکسیداتیو بررسی کرده باشد یافت نشد. لذا پژوهش حاضر به دنبال بررسی این مسئله است که آیا تلفیق تمرین استقامتی و مصرف بذر کدو بر بهبود نشانگان استرس اکسیداتیو و تخریب DNA بافت کبد در رت‌های نر مسموم شده با پراکسیدهیدروژن اثر دارد یا خیر.

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع تحقیقات تجربی است. این مطالعه تجربی در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود با کد IR.IAU.SHAHROOD.REC.1398.032 تصویب و بر اساس راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. در این پژوهش ۴۸ سر رت نر نژاد ویستار از انستیتو پاستور تهران با میانگین وزنی حدود ۲۲۰-۲۰۰ گرم خریداری گردیده و به طور جداگانه در قفس‌های ویژه نگهداری رت قرار داده شدند. پس از انتقال رتها به حیوان خانه، رت‌ها به مدت یک هفته جهت تطابق با محیط جدید، بدون دریافت هیچ نوع مداخله‌ای در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف به طول ۳۰، عرض و ارتفاع ۱۵ سانتی متر ساخت شرکت رازی راد، نگهداری شدند. در این زمان رتها به غذای مخصوص جوندگان به صورت پلت دسترسی داشته وهمچنین از آب شهری برخوردار بودند. همچنین آزمودنی‌ها در دمای $۲۲ \pm ۲^{\circ}C$ و رطوبت ۵ ± ۵۰٪ در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی) قرار گرفتند. در این تحقیق کلیه اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگهداری مناسب و عدم اجبار در تمرینات مد نظر قرار گرفت.

پس از یک هفته آشنایی با محیط جدید، رتها به صورت تصادفی به شش گروه (هشت تایی) ذیل تقسیم شدند:

الف) گروه کنترل: رتها بر روی یک تردمیل شش کاناله به مدت ۵ روز در هفته برای مدت ۲ ماه و با سرعت ۲ متر در دقیقه برای ۵ دقیقه قرار گرفتند. رت‌ها محلول نرمال سالین (۰/۹ درصد) را به صورت خوراکی از طریق یک لوله گاواژ دریافت کردند.

ب) گروه‌های دریافت مکمل: این گروه‌ها بذر کدو را به میزان ۱ یا ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن در روز از طریق یک لوله گاواژ برای مدت ۸ هفته دریافت کردند. این دو گروه هیچگونه تمرینی را انجام ندادند.

ج) گروه تمرین: این گروه بر روی یک تردمیل شش کاناله برای انجام تمرینات استقامتی به صورت ۵ روز در هفته به مدت ۸ هفته با سرعت ۲۳ متر بر دقیقه، روزانه ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. تمام رت‌ها دوره ۸ هفته‌ای را تکمیل کردند پروتکل تمرین بین ساعت ۶ و ۸ صبح اجرا گردید.

د) گروه‌های تمرینی و بذر کدو: این گروهها ۱ یا ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم مکمل بذر کدو را دریافت کردند و تمرینات استقامتی (همانگونه که در گروه تمرین شرح داده شد)، انجام دادند.

تمامی گروهها ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ساخت شرکت سیگما آلدریچ را به مدت ۱۴ روز و به صورت درون صفاقی دریافت نمود.

1. Chlorella vulgaris

بذر خشک کدو از پژوهشگاه گیاهان دارویی تهیه شد. سپس با آسیاب برقی به صورت پودر درآمد. پودر حاصله در دو مرحله یک ساعته در اتانول ۸۰٪ به نسبت یک به ده خیسانده شد. پس از آن از فیلتر کاغذی ۰/۲ میلی‌متری عبور نمود. ماده باقی مانده در دستگاه پرکولاسیون قرار داده شد تا اتانول آن تبخیر گردد. هر ۵۰ میلی‌گرم پودر عصاره خشک باقیمانده در ۰/۱ میلی لیتر آب مقطر حل شده و با روش گاواژ دو ساعت بعد از تمرین به رت‌ها خورانده شد.

در روز آزمایش، بافت موردنظر بعد از جداسازی و شستشو با محلول PBS، درمحلول RNA Later (Ambion, L/N: 1206029) قرار داده شد. این محلول برای تثبیت و محافظت از بافت RNA سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کل RNA از ۳۰ میلی‌گرم بافت (وزن مرطوب) با استفاده از مینی کیت کیاژن[1] استخراج شد.

۳۰ میلی گرم (بافت مرطوب) با استفاده از روتور-استاتور[2] هموژنیزه شد. محلول هوموژنات در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه با افزودن ۵۹۰ میکرولیتر آب بدون RNase و ۱۰ میکرولیتر پروتئیناز K به محلول انکوبه شد. سپس به مدت ۳ دقیقه در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و به لوله جدید منتقل شد. پس از آن به مقدار نصف حجم (معمولاً ۴۵۰ میکرولیتر) اتانول خالص به محلول حاوی RNA اضافه شد. پس از شستشو با بافر RW1 به طور مستقیم به مخزن مجهز به فیلتر مخصوص، در مرحله آخر، RNA با اضافه کردن ۳۰ میکرو لیتر آب آزاد RNase جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

بافت کبد بعد از کشتن رت به روش قطع نخاع جدا شده و بعد از شستن با محلول PBS بلافاصله در نیتروژن مایع (۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) منجمد شده و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قبل از استخراج پروتئین ذخیره می‌شود.

1. QIAGEN, Germany
2. TissueRuptor (230V, 50-60 Hz QIAGEN, Germany)

پروتئین کل بافت کبد با استفاده از کیت پرو-پرب[3] استخراج شد. برای تعیین غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده ازکیت BCA[4] انجام شد. غلظت پروتئین نمونه‌ها از طریق نمودار خطی غلظت استاندارد کیت BCA محاسبه و جهت انجام وسترن بلات آماده شدند.

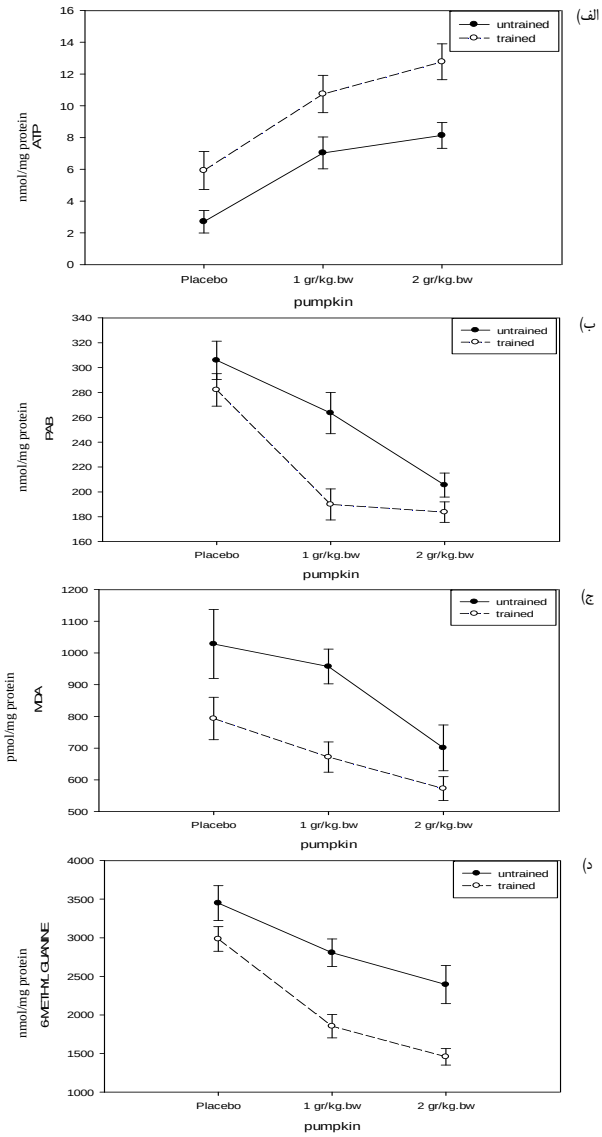
در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های میانگین و انحراف معیار استفاده شده است. در بخش آمار استنباطی و آزمون فرضیه‌ها، پس از غربالگری داده‌ها از نظر توزیع طبیعی (آزمون کولموگروف-اسمیرنوف)، تجانس واریانس (آزمون لوین) و دیتای پرت (نمودار جعبه‌ای) با استفاده از تحلیل دوراهه واریانس برای گروههای مستقل نتایج به دست آمده مورد تحلیل قرار گرفت. بر اساس این مدل ابتدا اثرهای اصلی تمرین و بذر کدو به تنهایی بر پیامدهای مورد مطالعه مورد آزمون قرار گرفت. سپس اثر تعاملی تمرین و بذر کدو مورد آزمون قرار گرفت. سطح معناداری نیز برای تمام محاسبات $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون تحلیل واریانس دوراهه مشخص شد، تمرین اثر معنی داری بر غلظت ATP بافت کبد دارد ($p=۰/۰۰۱$) دریافت بذر کدو نیز اثر معنی‌داری بر غلظت ATP بافت کبد داشت ($p=۰/۰۰۱$). اما تعامل تمرین و بذر کدو اثر معنی‌داری برغلظت ATP بافت کبد نداشت ($p=۰/۱$) (نمودار ۱-الف).

نتایج آزمون تعقیبی مربوط به تأثیر بذر کدو بر غلظت ATP، PAB[5]، MDA و متیل گوانین[6] در جدول ۱ ارائه شده است. همچنین مداخله بذر کدو در سه سطح دریافت بذر کدو دوز ۱ گرم، دریافت بذر کدو دوز ۲ گرم و عدم دریافت یا همان گروه کنترل در نظر گرفته شد. نتایج آزمون‌های دو به دو در

3. PRO-PREP, Intron, UK
4. Micro BCA Protein Assay kit (Thermo Scientific™- US)
5. prooxidant antioxidant balance
6. 6-methylguanine



نمودار ۱- غلظت (الف) ATP، (ب) PAB، (ج) MDA و (د) متیل گوانین بافت کبد در گروههای مورد مطالعه

الف) با افزایش دوز مصرفی، میانگین ATP در گروه‌های تمرین کرده و تمرین نکرده افزایش یافته است
ب، ج و د) با صرفنظر از اثر مکمل، میانگین گروه‌های تمرین کمتر از گروه‌هایی است که تمرین نکرده‌اند.

جدول ۱ ارائه شده است.

نتایج تحلیل واریانس دو راهه جهت تعیین اثر تمرین، بذر کدو و تعامل تمرین و بذر کدو بر غلظت PAB، MDA و متیل گوانین کبد رت‌های مسموم شده با پراکسید هیدروژن در جدول ۲ ارائه شده است.

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون تحلیل واریانس دوراهه تمرین اثر معنی‌داری بر غلظت PAB، MDA و متیل گوانین بافت کبد دارد (نمودار ۱-ب، ج، د).

نتایج آزمون بون فرونی (جدول ۱) نشان داد غلظت MDA در پایان دوره به طور معنی‌داری در گروه‌های دریافت

جدول ۱- نتایج آزمون تعقیبی بن فرونی در گروههای مطالعه

متغیر	گروه	گروه‌ها	مقدار p
ATP	کدو ۲[a]	کدو ۱[b]	۰/۰۰۱
		کنترل	۰/۰۰۰۱
	کدو ۱[b]	کنترل	۰/۰۰۰۱
PAB	کدو ۲[a]	کدو ۱[b]	۰/۰۰۰۱
		کنترل	۰/۰۰۰۱
	کدو ۱[b]	کنترل	۰/۰۰۰۱
MDA	کدو ۲[a]	کدو ۱[b]	۰/۰۰۰۱
		کنترل	۰/۰۰۲
	کدو ۱[b]	کنترل	۰/۰۰۰۱
6-methylguanine	کدو ۲[a]	کدو ۱[b]	۰/۰۰۱
		کنترل	۰/۰۰۱
	کدو ۱[b]	کنترل	۰/۰۰۱

a: دریافت بذر کدو با دوز دو گرم؛ b: دریافت بذر کدو با دوز یک گرم

کننده بذر کدو از گروه کنترل کمتر بود. همچنین گروه دریافت کننده ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بذر کدو نسبت به گروه دریافت کننده یک گرم، MDA کمتری داشتند.

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر به بررسی نقش مکمل یاری بذر کدو و فعالیت ورزشی بر عوامل استرس اکسیداتیوی بافت کبد رت‌های نر مسموم شده با پراکسید هیدروژن پرداخته است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد پس از اجرای پروتکل ۸ هفته‌ای، تمرین اثر معنی‌داری بر غلظت ATP بافت کبد دارد. بر اساس گزارش‌های موجود، عوامل متعددی بر غلظت ATP کبدی اثرگذار هستند [۸]. آنچه که مسلم است فعالیت ورزشی از جمله عوامل بارزی است که موجب تغییرات غلظتATP کبد می‌شود. البته تاکنون پاسخ‌های متفاوتی در این مورد گزارش شده است. برخی پژوهشگران افزایش معنی‌دار و تعدادی نیز

جدول ۲- نتایج آزمون تحلیل واریانس دوراهه مستقل در گروههای مطالعه

متغیر	عامل	مجموع مربعات	df	میانگین مربعات	F	مقدار p
PAB	تمرین	۱۶۵۵۶/۹۸	۱	۱۶۵۵۶/۹۸	۹۹/۱۸	۰/۰۰۱
	بذرکدو	۷۲۰۶۵/۰۹	۲	۳۶۰۳۲/۵۵	۲۱۵/۸۵	۰/۰۰۱
	تمرین+ بذرکدو	۶۰۳۴/۳۰	۲	۳۰۱۷/۱۵	۱۸/۰۷	۰/۰۰۱
MDA	تمرین	۴۹۱۹۶۴/۳۳	۱	۴۹۱۹۶۴/۳۳	۱۰۴/۶۷	۰/۰۰۰۱
	بذرکدو	۵۴۱۹۰۶/۸۳	۲	۲۷۰۹۵۳/۴۲	۵۷/۶۵	۰/۰۰۰۱
	تمرین+بذرکدو	۴۵۰۴۰/۸۹	۲	۲۲۵۲۰/۴۵	۴/۷۹	۰/۰۱۴
	خطا	۱۶۹۱۹۸/۴۰	۳۶	۴۶۹۹/۹۶		
متیل گوانین	تمرین	۶۴۵۸۰۲۸/۴۸	۱	۶۴۵۸۰۲۸/۴۸	۱۹۰/۳۰	۰/۰۰۰۱
	بذرکدو	۱۲۱۹۷۵۵۹/۶۷	۲	۶۰۹۸۷۷۹/۸۳	۱۷۹/۷۲	۰/۰۰۰۱
	تمرین+ بذرکدو	۵۳۶۰۰۹/۴۷	۲	۲۶۸۰۰۴/۷۴	۷/۹۰	۰/۰۰۱
	خطا	۱۲۲۱۶۷۲/۸۹	۳۶	۳۳۹۳۵/۳۶		

کاهش معنی‌دار [۹، ۱۰] و برخی دیگر عدم تغییر معنی‌دار [۸] در غلظت ATP کبدی را گزارش نموده‌اند. قنبری و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند که تمرین استقامتی کوتاه مدت و بلند مدت موجب افزایش معنی‌دار در غلظت ATP کبد گردید، در حالی که تمرین‌های ۹ هفته‌ای تغییری در غلظت ATP کبد ایجاد نکرد [۸]. هاگتون و همکاران (۲۰۰۷) کاهش ATP کبدی را به دنبال فعالیت تمرینی در موش صحرایی گزارش کردند [۸]. از دلایل این تفاوت می‌توان به تغییر متابولیت‌های کبدی در اثر تمرین یاد شده نام برد و مهمترین علت کاهش ATP کبدی را، تلاش کبد برای کاهش لاکتات تولیدی در طی تمرین دانست. بر اساس پژوهش‌های یاد شده به نظر می‌رسد عواملی مانند شدت تمرین، مدت تمرین، طول دوره تمرین و فاصله آخرین جلسه تمرین تا بیهوشی در غلظت ATP کبد نقش مهمی داشته باشند [۸]. دریافت بذر کدو نیز اثر معنی‌داری بر غلظت ATP بافت کبد داشت. به طوری که با افزایش میزان دوز مصرفی میزان مصرف ATP افزایش نشان داد. تا کنون مطالعه‌ای به بررسی اثر بذر کدو بر میزان ATP نپرداخته است. با این وجود، با توجه به اینکه بذر کدو علاوه بر چربی، پروتئین، کربوهیدرات و فیبر دارای مواد دیگری مانند مواد معدنی و عناصر عالی نیز هست و بر اساس گزارش‌ها، بذر کدو خاصیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی دارد و نیز مطالعات نشان داده‌اند که زمان واماندگی شنا را افزایش می‌دهد و به عنوان یک ماده ضدخستگی شناخته می‌شود که می‌تواند عملکرد ورزشی را بالا ببرد [۱۱]، لذا به نظر می‌رسد افزایش ATP کبد در راستای افزایش عملکرد کلی منطقی به نظر برسد. اما تعامل تمرین و بذر کدو اثر معنی‌داری بر غلظت ATP بافت کبد نداشت. در واقع کاهش معنی‌داری در رابطه با تعامل تمرین و بذر کدو مشاهده نشد. شاید یکی از دلایل این عدم معناداری تلاش کبد و سیستم آنتی‌اکسیدانی برای رفع استرس اکسیاتیو و میزان لاکتات تولیدی به دنبال فعالیت ورزشی باشد. برای کسب نتایج بهتر بود بلافاصله بعد از تمرین نیز میزان ATP سنجیده می‌شد که بتوان نتایج را بهتر تفسیر کرد ولی با توجه به محدودیت‌های پژوهش این قابلیت وجود نداشت.

در این مطالعه، PAB به عنوان یک فاکتور که تصویری از فعالیت استرس اکسیداتیو و مقایسه آن با سیستم آنتی‌اکسیدانی است، مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه حاضر میزان PAB بعد از ۸ هفته تمرین کاهش یافت. صرفه نظر از تمرین استقامتی، بذر کدو نیز به تنهایی توانسته اثرات معناداری بر PAB داشته باشد به طوری که با افزایش دوز مصرفی میزان PAB کاهش بیشتری داشته است. از طرف دیگر تعامل بین تمرین و بذر کدو سبب کاهش در میزان PAB در هر دو گروه شده است. در مطالعه ابوسیف در سال ۲۰۱۴ که به بررسی تأثیر روغن بذر کدو بر مواجهه با مسمومیت کبدی ناشی از الکل و استرس اکسیداتیو پرداخته است، نشان داده شد که مکمل‌دهی با روغن بذر کدو به رتهایی که با الکل مسموم شده بودند و موش‌هایی که تحت استرس اکسیداتیو قرار گرفته بودند در هر دو گروه بر شاخص‌های مسیر آپاپتوز در بافت کبد تأثیر داشت و باعث کاهش آنها شد و این مطالعه نتیجه می‌گیرد که ظاهراً ترکیباتی در روغن تخم کدو وجود دارد که کبد را در برابر استرس اکسیداتیو و الکل محافظت می‌نماید [۸]. انجام تمرینات ورزشی از طریق افزایش عوامل آنتی‌اکسیدانی می‌تواند میزان استرس اکسیداتیو بعد فعالیت را کاهش دهد که این مکانیسم یکی از سازگاری‌هایی است که بدن با تمرین می‌تواند کسب کند. از طرفی بذر کدو نیز دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده که به نظر می‌رسد اثرات تمرین و بذر کدو توانسته است میزان استرس اکسیداتیو را بیشتر کاهش دهد به طوری که با افزایش دوز مصرفی کدو، میزان استرس اکسیداتیو در گروه تمرین کرده کاهش بیشتری نشان داد.

بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد، تمرین اثر معنی‌داری بر غلظت MDA بافت کبد دارد، به طوری که بعد از ۸ هفته تمرین میزان کاهش آن در گروه تمرین کرده بیشتر بود. نتایج تحقیق حاضر با برخی تحقیقات همسوست [۱۲] و با برخی ناهمسو است [۱۳، ۱۴]. هیتکامپ و همکاران در

پژوهشی روی ۳۰ زن نتیجه گرفتند که ۸ هفته فعالیت استقامتی موجب کاهش ظرفیت MDA می‌شود [۱۲]. شین و همکاران پژوهشی روی ۱۶ زن شامل ۸ زن با سابقه فعالیت هوازی و ۸ زن غیرفعال انجام دادند [۱۳]. آنها نتیجه گرفتند میزان MDA پلاسما بعد از یک جلسه فعالیت هوازی در گروه تمرین کرده بیشتر بود. که دلیل افزایش آن بعد از فعالیت، به احتمال زیاد، به دلیل شدت اجرای فعالیت (شدت بالا) و پراکسیداسیون چربی‌ها ناشی از فشار اکسایشی (تولید زیاد رادیکال هیدروکسیل) است.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بذر کدو سبب کاهش MDA می‌شود و این کاهش در گروهی دوز ۲ گرمی مصرف کرده بودند بیشتر بود. از طرفی نشان داد که تعامل بذر کدو با تمرین سبب کاهش معنادار در MDA می‌شود. در پژوهشی که توسط شیر و همکاران انجام شد نشان داده شده است که روغن دانه کدو به واسطه تأثیرات آنتی‌اکسیدانی توانسته است میزان آب میان بافتی ناشی از ایسکمی مغزی را در دوز ۰/۷۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت کاهش دهد. نتایج این پژوهش نشان داد روغن تخم کدو میزان نفوذپذیری سد خونی-مغزی و ادم مغزی را کاهش می‌دهد که این به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و اسیدها چرب غیراشباع موجود در دانه کدو است [۱۳].

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان متیل گوانین بعد از ۸ هفته تمرین کاهش نشان داد. از طرفی با افزایش دوز بذر کدو میزان متیل گوانین کاهش معنادار داشت. همچنین نتایج نشان داد که تعامل تمرین و بذر کدو سبب کاهش معنادار در متیل گوانین در گروه تمرین کرده نسبت به گروه بی تمرین می‌شود، به این صورت که تغییرات متیل گوانین در دوزهای مختلف گروه‌های تمرینی یا غیرتمرین الگوی یکسانی نداشت. به گونه‌ای که آزمودنی‌هایی که دوز ۱ گرم را خورده بودند، میزان کاهش متیل گوانین آنها بستگی به تمرین کردن یا نکردن آنها داشت. یکی از مراحل ترمیم DNA برداشت متیل از اتم ۰۶ -گوانین ایجاد شده تحت تأثیر عوامل آلکیله‌کننده است [۱۵]. وجود نوکلئوتید گوانین متیله در موقعیت ۶ اتم اکسیژن باعث تبدیل جفت G:C به A:T می‌شود که یک جهش از نوع ترانزیش محسوب می‌شود. آنزیم ۶ متیل گوانین متیل ترانسفراز مسئول ترمیم این ناهنجاری است که عامل آلکیل را از موقعیت ۶ اتم اکسیژن نوکلئوتید گوانین برداشته و باعث حفظ ساختار ژنوم اولیه می‌شود [۱۵]. عدم بیان این پروتئین و افزایش پروتئین متیل گوانین سبب افزایش خطر ابتلا به سرطان و عوامل متیله کننده را افزایش می‌دهد [۱۷،۱۶]. انجام فعالیت ورزشی و سازگاری‌های آن سبب کاهش عوامل استرس‌زا مانند عوامل اکسیدانی می‌شود. از طرفی مقالات مختلف نشان داده‌اند که بذر کدو با کاهش بعضی سرطان‌ها مرتبط است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تمرین همراه با بذر کدو اثرات زیان بار اکسیدان‌ها بر DNA را تقلیل می‌دهد.

نتایج این تحقیق نشان داد که تمرین استقامتی همراه با بذر کدو سبب کاهش عوامل استرس‌زا می‌شود. این نتایج نشان داد که بذر کدو خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد و سبب بهبود ریکاوری بهتر بعد فعالیت می‌شود. این تحقیق اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی بذر کدو در مطالعات قبلی را بیشتر تأیید می‌کند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود به تصویب رسیده است (با کد IR.IAU.SHAHROOD.REC.1398.032). بدین وسیله از تمامی افرادی که در انجام پژوهش حاضر همکاری کردند تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارضی در منافع انتشار این مقاله وجود ندارد.

References

1. Oyagbemi AA, Azeez O, Saba A. Interactions between reactive oxygen species and cancer, the roles of natural dietary ntioxidants and their molecular mechanisms of action. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2009;10(4):535-544.
2. Packer L. Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. Journal of sports sciences. 1997;15(3):353-363.
3. Gomes EC, Silva AN, Oliveira MRd. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. Oxidative medicine and cellular longevity. 2012;2012:1-12.
4. Dabidi Roshan V, Moslehi Najafabadi E. The effect of short-term vitamin e supplementation on performance markers and lipid peroxidation at rest and after exhaustive exercises. Harakat. 2009:65-80. [Persian]
5. 5. Radák Z. Free radicals in exercise and aging. Canada: Human Kinetics; 2000.
6. Khoorjahani A, Peeri M, Azarbayjani M. The effect of mandatory treadmill exercise on anxiety-like behaviors and bowel oxidative stress following the maternal separation stress in male rats. EBNESINA. 2018; 20 (2): 22-29. [Persian]
7. Govahi A, Tahmasebi W, Azizi M. Evaluation of the simultaneous effect of Chlorella vulgaris supplementation and high intensity interval training on resting levels of oxidative stress markers and aerobic fitness in overweight healthy men. EBNESINA. 2019;21(3):12-22. [Persian]
8. Ghanbari-Niaki A, Fathi R, Hedayati M. Effect of 8 weeks endurance training with two different durations on plasma HDL-ghrelin in male rats. Iranian journal of endocrinology and metabolism. 2011;13(3):309-314. [Persian]
9. Huang C-C, Lin W-T, Hsu F-L, Tsai P-W, Hou C-C. Metabolomics investigation of exercise-modulated changes in metabolism in rat liver after exhaustive and endurance exercises. European journal of applied physiology. 2010;108(3):557-566.
10. Ghanbari-Niaki A, Jafari A, Abednazari H, Nikbakht H. Treadmill exercise reduces obestatin concentrations in rat fundus and small intestine. Biochemical and biophysical research communications. 2008;372(4):741-745.
11. Wang S-Y, Huang W-C, Liu C-C, Wang M-F, Ho C-S, Huang W-P, et al. Pumpkin (Cucurbita moschata) fruit extract improves physical fatigue and exercise performance in mice. Molecules. 2012;17(10):11864-11876.
12. Heitkamp H, Wegler S, Brehme U, Heinle H. Effect of an 8-week endurance training program on markers of antioxidant capacity in women. Journal of sports medicine and physical fitness. 2008;48(1):113-119.
13. Shin Y-A, Lee J-H, Song W, Jun T-W. Exercise training improves the antioxidant enzyme activity with no changes of telomere length. Mechanisms of ageing and development. 2008;129(5):254-260.
14. Pialoux V, Mounier R, Rock E, Mazur A, Schmitt L, Richalet J-P, et al. Effects of acute hypoxic exposure on prooxidant/antioxidant balance in elite endurance athletes. International journal of sports medicine. 2009;30(02):87-93.
15. Khatami F, Mohebbi SR, Ghiyasi S, Montazer Haghighi M, Soltani M, Zali MR. The effect of O6-methyl guanine methyl teranferase in colorectal cancer. World journal of sport sciences 2009;33(2):88-94. [Persian]
16. Gerson SL. MGMT: its role in cancer aetiology and cancer therapeutics. Nature reviews cancer. 2004;4(4):296-307.
17. Ishibashi T, Nakabeppu Y, Sekiguchi M. Artificial control of nuclear translocation of DNA repair methyltransferase. Journal of biological chemistry. 1994;269(10):7645-7650.

Investigate the role of supplements of pumpkin seeds and exercise activity on oxidative stress factors

Fatemeh Zirrahian[1], *Tahereh Bagherpoor[2], Nematollah Nemati[3], Vida Hojati[4]

Abstract

Background: In recent years, investigations on the use of plants as a source for antioxidant components have been increased. This study aimed to investigate the role of supplements of pumpkin seeds and exercise activity on tissue oxidative stress factors in liver of male rats poisoned with hydrogen peroxide.

Materials and methods: A total of 48 adult male Wistar rats were randomly assigned to six groups of n = 8 including sham, pumpkin seeds 1g/Kg, pumpkin seeds 2g/kg, exercise, training+pumpkin seeds 1g/Kg, and training+pumpkin seeds 2g/Kg. To induce oxidative stress, intraperitoneal injection of H_2O_2 at a dose of 2mmol/Kg was given three times a week. The induction of pumpkin seed supplement was administered orally at 0.5 µg daily at a concentration of 300,000 UI/ml. The endurance training protocol started at 8m/min with 10-degree incline was started for 30 minutes on the treadmill in the first week and gradually increased to 20m/min with 10-degree incline for 60 minutes on the eighth week.

Results: The results of this study showed that endurance training had a significant effect on the concentration of ATP, PAB, MDA, and 6-Methylguanine in liver tissue (p=0.001). Pumpkin seeds also had a significant effect on the concentration of ATP, PAB in liver tissue (p=0.001). Exercise in combination with pumpkin seeds supplementation had significant effect on the concentration of PAB, MDA, and 6-Methylguanine in the liver tissue (p=0.001).

Conclusion: Complementary nutrition with pumpkin seeds and endurance training can reduce oxidative stress in the liver tissue.

Keywords: Pumpkin, Seeds, Endurance Training, Oxidative Stress

1. PhD student, Department of Physical Education and Sport Science, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
2. Assistant professor, Department of Physical Education and Sport Science, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
(*Corresponding author)
bagherpoor_ta@yahoo.com
3. Associate professor, Department of Physical Education and Sport Science, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
4. Assistant professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran