

## اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف عصاره آبی کلاله زعفران بر میزان مالون دی آلدئید و سیستم آنتی اکسیدانی قلب و ناحیه پیش حرکتی کورتکس مغز موش های صحرایی نر جوان پس از یک جلسه فعالیت حاد و امانده ساز

امیر خسروی<sup>۱</sup>، بهمن میرزایی<sup>۲</sup>، جواد مهربانی<sup>۳</sup>، بهرام رسولیان<sup>۴</sup>

۱. استادیار دانشگاه آیت الله العظمی بروجردی (ره) بروجرد

۲. دانشیار دانشگاه گیلان\*

۳. استادیار دانشگاه گیلان

۴. دانشیار دانشگاه علوم پزشکی لرستان

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۷/۰۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۶

### چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف عصاره آبی کلاله زعفران بر میزان مالون دی آلدئید و سیستم آنتی اکسیدانی قلب و ناحیه پیش حرکتی کورتکس مغز موش های صحرایی نر جوان پس از یک جلسه فعالیت حاد و امانده ساز بود. ۶۴ سر موش سه ماهه (وزن  $26 \pm 212$ ) در چهار زیرگروه (هر زیرگروه ۱۶ سر) (۱-CW = مصرف آب مقطر؛ ۲-CSW = مصرف عصاره آبی زعفران؛ ۳-ETW = مصرف آب مقطر + تمرین؛ ۴-ETSW = مصرف عصاره آبی زعفران + تمرین) دسته بندی شدند. موش های زیرگروه تمرین در پنج روز متوالی هفته، پنج جلسه ۶۰ دقیقه ای با سرعت ۲۵ متر در دقیقه در شیب ۱۰ درصد روی نوارگردان دویدند. در پایان دوره آزمایش، نیمی از هر زیرگروه بدون و امانده شدن و نیم دیگر بلافاصله پس از و امانده شدن قربانی شدند و مقادیر سوپراکسیداز دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون پروکسیداز، غلظت پروتئین و مالون دی آلدئید قلب و ناحیه پیش حرکتی کورتکس مغز به صورت دستی اندازه گیری شد. داده های حاصل از آنالیز واریانس دوراهه و تک راهه با اندازه گیری های مکرر نشان داد که در نتیجه و امانده سازی سطوح مالون دی آلدئید بافت های قلب (زیرگروه یک و سه) و ناحیه پیش حرکتی کورتکس مغز (زیرگروه یک، دو و سه) بطور معناداری افزایش نشان داد. با وجود این، اثر تعاملی تمرین هوازی و عصاره زعفران (زیرگروه سه) از افزایش سطوح پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کرد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد اثر تعاملی تمرین هوازی و عصاره زعفران آسیب های اکسایشی ناشی از فعالیت های و امانده ساز را در قلب و ناحیه پیش حرکتی مغز کاهش می دهد. با این وجود با توجه به مطالعات اندک صورت گرفته در این زمینه، نیاز به پژوهش های بیشتری است.

**واژگان کلیدی:** فعالیت و امانده ساز، زعفران، مالون دی آلدئید، آنتی اکسیدان

## مقدمه

فعالیت بدنی منظم هوازی با شدت پایین تا متوسط، ابزاری مناسب برای جلوگیری و یا درمان بسیاری از بیماری‌ها، کاهش شاخص‌های پایه‌ای عوامل خطرزای سکته و وقوع سکته‌های قلبی، کاهش مرگ و میر ناشی از بیماری‌های کرونر قلبی (۱،۲)، جلوگیری از اختلالات عصبی مثل اضطراب، افسردگی، بیماری‌های مرتبط با تخریب و تضعیف سیستم اعصاب مرکزی از جمله پارکینسون، آلزایمر و بهبود عملکرد مغز هستند (۳). گرچه هنوز علل دقیق اثرات ورزش در حال بررسی است اما مشخص شده که بخش مهمی از این تأثیرات با گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۱</sup> و تغییرات در هموستاز ردوکس سلول‌ها در ارتباط است. در خلال این نوع فعالیت‌ها افزایش مصرف اکسیژن، تولید گونه‌های فعال اکسیژن را به غلظتی می‌رساند که منجر به بهینه کردن سیگنال‌های اکسیداتیو و تنظیم مسیرهای سیگنالینگ و بیان ژنی در بافت‌های مختلف از جمله مغز و قلب می‌شود و منجر به بهبود عملکرد تنفس میتوکندریایی، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، بیان پروتئین‌های شوک گرمایی در حد نیاز و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در این بافت‌ها می‌شود (۴). برخلاف فعالیت بدنی هوازی سبک، فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز، به‌ویژه در مواقعی که در مدت و یا شدت غیر متعارف انجام شوند، اثرات نامطلوبی بر قلب از جمله افزایش خطر آسیب به عملکرد بطن، ایسکمی، سکته، ایست قلبی و افزایش خطر وقوع حملات قلبی منجر به مرگ و غیر آن چهار تا ۵۶ برابر مواقع استراحت دارد (۵). مغز نیز همچون قلب از عوارض ناشی از فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز در امان نیست. پژوهش‌های متعدد نشان داده که میزان پراکسیداسیون لیپیدی بافت مغز متعاقب این نوع فعالیت‌ها به‌طور معناداری افزایش یافته که منجر به تضعیف حافظه، یادگیری و به‌طور کلی کاهش عملکرد مغز می‌شود (۶-۸). دقیقاً مشخص نیست که چرا فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز چنین اثرات خطرناکی بر سلامتی اشخاص دارند، ولی بدون شک یکی از عوامل اصلی وقوع این رخدادها مربوط به تولید گونه‌های فعال اکسیژن فراتر از ظرفیت دفع سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی این سلول‌ها، بروز استرس اکسیداتیو و در پی آن نکروز و آپوپتوز سلولی است (۹). در طی این گونه فعالیت‌ها، اکسیژن مصرفی کل بدن به ۱۰ تا ۲۰ برابر و در سطح برخی سلول‌های فعال تا ۲۰۰ برابر سطوح استراحتی افزایش می‌یابد. قلب نیز از این شرایط مستثنی نیست، حتی در وضعیت استراحت میزان اکسیژن مصرفی به‌ازای هر گرم عضله قلبی بیشتر از اکسیژن مصرفی عضلات اسکلتی در وضعیت تمرینات بیشینه است. در خلال تمرینات ورزشی نیز جریان خون قلب به بیش از چهار برابر وضعیت استراحت افزایش یافته و ظرفیت استخراج اکسیژن سلول‌های قلبی از

### 1. Reactive oxygen species

مویرگها به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. میزان جریان خون مغز نیز در حین فعالیت‌های ورزشی سبک تا متوسط افزایش یافته و با افزایش شدت ورزش در فعالیت‌های شدید و وامانده‌ساز، میزان افزایش اکسیژن مصرفی از طریق افزایش برداشت اکسیژن از خون تأمین می‌شود و احتمال هیپوکسی نیز در طی این‌گونه فعالیت‌ها وجود دارد. در چنین شرایطی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بافت‌های مغز و قلب به علت هیپوکسی (۱۰)، کاهش منابع گلیکوژن، تغییرات در درجه حرارت و pH، برهم خوردن هموستاز یون‌های کلسیم و عدم زوجیت تنفس میتوکندریایی همچنین تبدیل گزانتین دهیدروژناز<sup>۱</sup> به گزانتین اکسیداز<sup>۲</sup> در عضلات قلبی (۱۱) و واکنش هابر وایس به علت غلظت بالای آهن و مس آزاد در مغز، تولید هیدروژن پراکسیداز از طریق واکنش‌های تسریع شده توسط مونو آمین اکسیداز A، B در غشاء میتوکندری گلیال و نورون‌ها، واکنش‌های هیدروژن پراکسیداز و یون کلسیم، نیکوتین آدنین دی‌نوکلئید فسفات اکسیداز و عوامل التهابی موجود در سیستم گردش خون و در انتها ضعف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز (۱۲) منجر به برهم خوردن تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و مواد پراکسیدان از یک طرف و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از طرف دیگر شده و منجر به بروز استرس اکسیداتیو در سلول بافت‌های قلب و مغز می‌شود. در صورت به وجود آمدن استرس اکسیداتیو خفیف یا ملایم، غالباً بافت‌ها با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اثر آن را خنثی می‌نمایند. در مقابل در شرایط حاد مثل انجام فعالیت‌های حاد وامانده‌ساز ممکن است سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی صدمه دیده و میزان پراکسیداسیون لیپیدی بافت قلب و مغز به طور معناداری افزایش یابد (۸، ۱۳، ۱۴-۶). علاوه بر اثرات منفی استرس اکسیداتیو بر قلب و مغز این رخداد، پیامدهای منفی دیگری در بدن از جمله تسریع روند پیری، آسیب‌های عضلانی و لنفوئیدی، التهاب بافتی، خستگی عضلانی، اختلال در بازگشت به حال اولیه، اختلال و کاهش کارایی سیستم ایمنی و وضعیت اکسیداسیون عضلانی به همراه دارد (۱۵). ممکن است مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی از طریق کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، بلوکه کردن پراکسیداسیون لیپیدی، تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، دخالت در متابولیسم گلیکوژن جهت برآورده کردن انرژی مورد نیاز سلول‌های فعال و حفظ استحکام ساختار میتوکندری در جلوگیری از این اختلالات مفید باشند (۱۶). با توجه به مزایای ذکر شده، ورزشکاران انواع متنوعی از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله ویتامین‌های E و C ترکیبی از این ویتامین‌ها، بتاکاروتن، گلوتاتیون<sup>۳</sup>، اناستیل‌سیستین و پلی‌ساکاریدها را مصرف می‌کنند. ویتامین‌ها، به‌ویژه ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی،

1. Xanthine dehydrogenase
2. XanthineOxidase
3. Glutathione

رتبه نخست مصرف مکمل‌های ورزشی را بین ورزشکاران به خود اختصاص داده‌اند (۱۷). با وجود این، در پژوهش‌های متعددی عدم تأثیر این‌گونه مکمل‌ها بر تولید رادیکال‌های آزاد، و یا تسریع روند پراکسیداسیون لیپیدی در بافت‌های مختلف، بلوکه کردن سیگنال‌های سلولی تولیدشده جهت سازگاری بافت‌های مختلف با ورزش، آلودگی به مواد ممنوعه، خطر وقوع سرطان و ژنوتوکسین در مصرف‌کنندگان گزارش شده‌است (۱۸). علاقمندی ورزشکاران به مصرف آنتی‌اکسیدان‌های با منشأ طبیعی و عملکرد مؤثرتر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در کاهش سطوح گونه‌های فعال اکسیژن در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، سهولت دسترسی، کاهش عوارض جانبی و قیمت مناسب، به‌عنوان جایگزین‌های شایسته برای داروهای صنعتی، همواره مورد بحث بوده و در چند دهه اخیر به‌طور خاص مورد توجه پژوهش‌گران قرار گرفته‌است (۱۹).

گیاه زعفران از هزاران سال پیش تاکنون دارای مصارف درمانی و غذایی بوده و منبعی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله فلاونوئیدها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها (ریبوفلاوین و تیامین)، آمینواسیدها، مینرال‌ها، صمغ‌ها و همچنین کاروتنوئیدهای مثل سافرانال، کروسستین و کروسین است (۲۰). کاروتنوئیدهای موجود در زعفران با خنثی کردن اکسیژن‌های منفرد، انتقال الکترون، پذیرش و اضافه کردن الکترون و فلاونوئیدهای موجود در زعفران از طریق واکنش با عناصر واکنش‌پذیر گونه‌های فعال اکسیژن، اختلال در عوامل وادار کننده عمل سنتز نیتريت، اختلال در عملکرد اکسایتین اکسیداز، کاهش تعداد لکوسیت‌های ساکن در خلال رپرفیوژن، به‌دام انداختن آهن آزاد، کاهش انتشار و رهاسازی پراکسیداز و بلوکه کردن متابولیسم آراشیدونیک اسید، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند (۲۱). خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی زعفران در پژوهش‌های مختلفی گزارش شده‌است (۲۲). جاسپریت<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی اثرات محافظتی عصاره آبی زعفران در مقابل آسیب‌های ایسکمی ناشی از ایزوپروترنال بر قلب عنوان کردند این عصاره عملکرد انقباضی و ساختار سلول‌های عضلانی و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی قلب را از آسیب‌های ایسکمی محافظت کرده و منجر به حفظ شاخص‌های همودینامیک و عملکردی بطن چپ و جلوگیری از آسیب به ساختار و یکپارچگی بطن چپ و همچنین تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی قلب از طریق تحلیل استرس اکسیداتیو شده و شاخص‌های ذکر شده را حفظ نموده است و ایسکمی را به تأخیر می‌اندازد (۲۳). در پژوهش دیگری مهدی زاده و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثرات محافظتی عصاره زعفران بر سکنه‌های قلبی ناشی از ایزوپروترنال عنوان کردند این

عصاره از افزایش شاخص‌های آسیب قلبی در سرم (لاکتات دهیدروژناز<sup>۱</sup>، کراتین کیناز میوکاردا قلب<sup>۲</sup>) و مالون‌دی‌آلدئید<sup>۳</sup> بافت قلب جلوگیری کرده که نشان دهنده اثرات محافظتی عصاره زعفران و ساfranال در مقابل سکنه از طریق جلوگیری از تغییر در وضعیت ردوکس سلول که منجر به تحلیل استرس اکسیداتیو در بافت قلب شده است (۲۴). حسین زاده و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی اثرات ساfranال بر صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو ناشی از فرآیند ایسکمی - رپرفیوژن در ناحیه هیپوکامپ مغز موش عنوان کردند این ترکیب از افزایش سطوح مالون‌دی‌آلدئید هیپوکامپ مغز و کاهش توان آنتی‌اکسیدانی این ناحیه از مغز در نتیجه ایسکمی جلوگیری می‌کند (۲۵). همچنین تمدن فرد و همکاران (۲۰۱۳) عنوان کردند کروسین به دلیل کاهش استرس اکسیداتیو هیپوکامپ موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین<sup>۴</sup> و در نتیجه کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید این ناحیه از مغز از تقلیل تعداد نرون‌های هیپوکامپ موش‌های دیابتی شده جلوگیری کرده و موجب بهبود حافظه و یادگیری در این موش‌ها می‌شود (۲۶).

با توجه به اهمیت جلوگیری از وقوع شرایط استرس اکسیداتیو ناشی از تمرینات وامانده‌ساز در قلب و ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس بافت مغز، این پژوهش به بررسی اثر هشت هفته تمرینات استقامتی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سطوح مالون‌دی‌آلدئید قلب و ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس بافت مغز، و در پی آن، اثر یک جلسه فعالیت وامانده‌ساز بر این شاخص‌ها پرداخته است تا مشخص شود، آیا یک جلسه فعالیت وامانده‌ساز می‌تواند منجر به وقوع شرایط استرس اکسایشی در قلب و ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس بافت مغز شود؟ آیا واکنش سیستم دفاع ضداکسایشی قلب و ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز به یک جلسه فعالیت وامانده‌ساز یکسان است؟ آیا تمرین استقامتی می‌تواند موجب تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از وقوع شرایط اکسایشی در قلب و ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز شود؟ آیا سازگاری ایجاد شده در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت‌های قلب و ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز با تمرین استقامتی یکسان است؟ بخش دوم پژوهش به بررسی این موضوع می‌پردازد که آیا مصرف هشت هفته‌ای عصاره زعفران در تقویت سیستم دفاع آنزیمی بافت‌های قلب و ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز در تعامل با تمرینات ورزشی و یا به‌تنهایی مؤثر است، و آیا این تأثیر در بافت‌های ذکر شده متفاوت است؟ علاوه بر این، مطالعه حاضر در صدد پاسخگویی به این سؤال است که آیا عصاره گیاه زعفران به‌تنهایی و یا در تعامل با

- 
1. lactate dehydrogenase
  2. creatine kinase MB
  3. malondialdehyde (MDA)
  4. Streptozotocin

تمرینات استقامتی به شکل یکسانی قادر به جلوگیری از وقوع شرایط استرس اکسیداتیو در قلب و ناحیه پیش حرکتی کورتکس بافت مغز پس از یک جلسه تمرین وامانده ساز می باشد؟ بنابراین، با توجه به کمبود اطلاعات در مورد اثر مصرف عصاره کلاله زعفران بر سیستم دفاع ضد اکسایش قلب و ناحیه پیش حرکتی کورتکس بافت مغز و اثر مصرف این عصاره در جلوگیری از وقوع احتمالی استرس اکسیداتیو متعاقب تمرینات وامانده ساز، پژوهش حاضر به بررسی اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف عصاره آبی کلاله زعفران بر میزان مالون دی آلدئید و سیستم آنتی اکسیدانی قلب و ناحیه پیش حرکتی کورتکس مغز موش های نر جوان پس از یک جلسه فعالیت حاد وامانده ساز می پردازد.

## روش پژوهش

مطالعه حاضر از نوع تجربی است و در پژوهشکده پژوهش های داروهای گیاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام گرفت. کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل های کار روی حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته اخلاق در پژوهش این دانشگاه بود. تعداد ۹۰ سر موش صحرایی نر بالغ سه ماهه نژاد ویستار از دانشگاه شهید بهشتی تهران تهیه شد. پس از انتقال موش ها به محیط آزمایشگاه، به صورت گروه های چهار سر موش در قفس های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. طی دوره پژوهش، حیوانات به صورت آزاد به غذا و آب مورد نیازشان دسترسی داشتند. به منظور جمع آوری اطلاعات پس از انتقال حیوانات به محیط جدید (حیوان خانه)، به مدت دو هفته در این محیط نگهداری شدند تا از این طریق استرس احتمالی ناشی از تغییر محل نگهداری و همچنین، تغییر احتمالی شرایط فیزیولوژیکی، حیوان مجدداً به وضعیت اولیه برگردانده شود. تمامی حیوانات (۹۰ سر موش) در ابتدای هفته سوم مجبور به دویدن در سرعت ۱۶/۶ متر در دقیقه و به مدت پنج دقیقه بر روی تردمیل شدند. از بین آنها ۷۲ سر موش صحرایی که توانایی دویدن در این سرعت را داشتند انتخاب شدند و پس از قربانی کردن هشت سر موش از آنها (جهت تعیین متغیرهای پایه) ۶۴ سر موش باقی مانده با وزن تقریبی  $26 \pm 212$  گرم به صورت تصادفی به دو گروه اصلی کنترل (C)، و تجربی (ET)، (هر گروه ۳۲ سر موش) و هر گروه به دو زیرگروه فرعی (هر زیرگروه ۱۶ سر موش) تقسیم شدند. در گروه کنترل، یک زیرگروه CW = حلال عصاره زعفران (آب مقطر) (میانگین وزنی  $20 \pm 206$ ) و زیرگروه دیگر CSW = عصاره آبی زعفران (میانگین وزنی  $16 \pm 224$ ) دریافت کردند و در گروه تجربی یک زیرگروه ETW = آب مقطر + ۸ هفته تمرین (میانگین وزنی  $15 \pm 218$ )

و زیرگروه دیگر ETSW = عصاره زعفران +۸ هفته تمرین را (میانگین وزنی  $14 \pm 224$ ) مطابق با پروتکل‌های توضیح داده شده در بخش بعدی انجام دادند.

جهت تهیه و خوراندن عصاره زعفران و حلال، کلالة خشک زعفران<sup>۱</sup> خوراکی معروف به زعفران پوشالی از قائنات تهیه شد. به‌منظور تهیه عصاره آبی، بعد از افزودن ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ۱۰ گرم پودر زعفران، محلول در ظرف پوشیده به‌مدت سه روز در شیکر انکوباتور قرار گرفت. سپس نمونه صاف شده و عصاره آبی جدا گردید و با دستگاه فریزدرایر<sup>۲</sup> به‌صورت پودر درآمد (۲۰). موش‌های زیرگروه‌های CSW و ETSW، عصاره آبی کلالة زعفران را به‌میزان ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در دو میلی‌لیتر آب مقطر حل شده، روزانه رأس ساعت هشت صبح به‌مدت ۶۵ روز (نه هفته + دو روز) از طریق گاواژ دریافت کردند. همزمان به موش‌های زیرگروه‌های CW و ETW، نیز روزانه به‌همان میزان دو میلی‌لیتر آب مقطر به‌عنوان حلال عصاره زعفران گاواژ شد.

چهار نوع پروتکل ورزشی در این پژوهش استفاده شد اولین پروتکل جهت آشناسازی موش‌های گروه آزمایش (گروه تمرین) با نوارگردان به‌مدت یک هفته اجرا شد. دومین پروتکل نیز توسط موش‌های همین گروه به‌مدت هشت هفته اجرا شد. پروتکل ورزشی سوم جهت تحمل پروتکل ورزشی وامانده‌ساز توسط گروه کنترل به‌موازات هفته هشتم تمرینات گروه تمرین و به‌مدت یک هفته اجرا شد. پروتکل ورزشی چهارم در پایان هشت هفته تمرین فقط یکبار جهت وامانده‌سازی موش‌های گروه تمرین و کنترل و به‌منظور بررسی اثرات یک جلسه تمرین وامانده‌ساز بر شاخص‌های مورد نظر انجام شد (شکل یک).

پروتکل آشناسازی با نوارگردان توسط موش‌های گروه آزمایش (گروه تمرین) و پیش از شروع پروتکل هشت هفته‌ای به‌مدت یک هفته انجام شد. این پروتکل شامل پنج جلسه پنج تا ۲۵ دقیقه‌ای در پنج روز جداگانه در طی یک هفته در سرعت ۱۶/۶۷ متر در دقیقه و در شیب صفر تا دو درصد بود. در خلال این دوره، زمانی که موش‌ها از دویدن بر روی نوارگردان اجتناب می‌کردند شوک الکتریکی ضعیفی به آن‌ها وارد می‌شد و موش‌ها را مجبور به دویدن می‌کرد. برای جلوگیری از اثرات شوک الکتریکی در نتایج پژوهش، مدت کوتاهی پیش از دادن شوک الکتریکی صدایی ایجاد می‌شد تا حیوانات یاد بگیرند که پس از شنیدن آن صدا شوک وارد می‌شود و بنابراین با ایجاد صدا از توقف اجتناب می‌کردند (۲۷).

- 
1. Crocus sativus L
  2. Freez-Dryer

پس از برنامه آشناسازی حیوانات با نوارگردان، موش‌های گروه تمرین یک دوره هشت هفته‌ای تمرینات استقامتی را، مطابق برنامه‌ای که در ادامه توضیح داده خواهد شد، انجام دادند. هفته اول، مدت تمرین ۳۵ دقیقه، شیب سه درصد، سرعت ۱۶/۶۷ متر بر دقیقه؛ هفته دوم، مدت تمرین ۴۰ دقیقه، شیب چهار درصد، سرعت ۱۸/۳۳ متر بر دقیقه؛ هفته چهارم، مدت تمرین ۵۰ دقیقه، شیب شش درصد، سرعت ۲۱/۶۷ متر بر دقیقه؛ هفته پنجم، مدت تمرین ۵۵ دقیقه، شیب هفت درصد، سرعت ۲۳/۳۳ متر بر دقیقه؛ هفته ششم تا هشتم مدت تمرین ۶۰ دقیقه و سرعت ۲۵ متر بر دقیقه ثابت بود. اما شیب از هشت درصد در هفته ششم تدریجاً به ۱۰ درصد در ابتدای هفته هشتم رسید. در تمامی دوره هشت هفته‌ای تمرینات استقامتی تعداد جلسات تمرین در هفته، پنج جلسه بود. لازم به ذکر است شیب و سرعت نهایی هر جلسه تمرین به تدریج در طی ۱۵ دقیقه ابتدایی شروع هر جلسه تمرین قابل دستیابی بود. پس از هفته اول پروتکل، در انتهای هر جلسه تمرین سرعت نوارگردان در طی پنج دقیقه به آرامی کاهش داده می‌شد تا مرحله سردکردن پس از تمرین رعایت شود (۲۷). پروتکل ورزشی جهت تحمل پروتکل ورزشی و امانده‌ساز توسط موش‌های گروه کنترل (C)، به موازات هفته هشتم تمرین استقامتی گروه تجربی (ET) به مدت یک هفته، هر هفته پنج روز متوالی و هر روز یک جلسه (بین پنج تا ۱۵ دقیقه) و در سرعتی بین ۱۶/۶۷ تا ۲۰ متر بر روی تردمیل در شیب صفر درصد دویند. سرعت و مدت به‌طور تدریجی افزایش داده شد. این پروتکل فقط به منظور آماده‌سازی موش‌های گروه کنترل برای تحمل پروتکل و امانده‌ساز طراحی شده و تغییر معناداری در سیستم دفاع ضد اکسایش ایجاد نمی‌کند (۲۷). تمرین بر روی تردمیل ۱۲ کاناله انجام گرفت.

پروتکل تمرینی و امانده‌کردن به این شیوه انجام شد که ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها در مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و سپس ۳۰ دقیقه با سرعت ۲۵ متر در دقیقه و در آخر، سرعت ۳۰ متر در دقیقه در شیب ۱۰ درصد تا زمان اماندگی بر روی تردمیل دویند (۲۷). زمانی که موش‌ها سه بار به شوک الکتریکی تعبیه شده در ابتدای تردمیل واکنش نمی‌دادند و به حالت خوابیده به پشت باقی می‌ماندند، و امانده محسوب می‌شدند.

تمامی موش‌ها (۷۲ سر موش) در سه مرحله قربانی شدند. مرحله اول در ابتدای پژوهش، پس از ۴۸ ساعت استراحت متعاقب مرحله غربالگری، پیش از شروع برنامه آشناسازی موش‌ها با تردمیل جهت ثبت و مشخص کردن سطوح پایه شاخص‌های مورد نظر (هشت سر موش) مرحله دوم، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین استقامتی یعنی در پایان هشت هفته تمرین جهت مشاهده تأثیر تمرین و مصرف عصاره زعفران (هشت سر از هر زیرگروه) و سومین مرحله بلافاصله پس از فعالیت

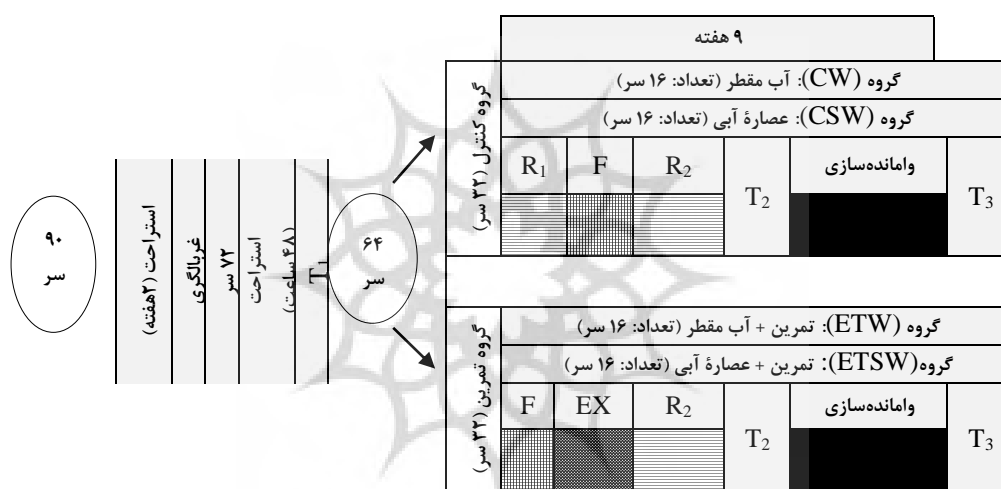


استقامتی و ماندگاری جهت مشاهده اثرات آن بر شاخص‌های مورد نظر (هشت سر باقیمانده از هر زیرگروه) انجام شد.

بلافاصله پس از واماندگی تمامی موش‌ها با داروی کلروفورم بیهوش و کشته شدند. برای جداسازی بافت‌های مغز از روش توصیف شده توسط کوئللو<sup>۱</sup> استفاده شد (۲۸). به‌طور اختصار، بعد از جداسازی سر از بقیه بدن با گیوتین و انجام برش طولی در جمجمه، کل بافت نرم مغز در روی یخ خشک قرار داده شد و قسمت جلویی مغز جدا گردید. قلب نیز بلافاصله بعد از قطع شدن سر موش‌ها سریعاً خارج شد. بافت‌ها در سالین بسیار سرد شستشو و هموژنات ۱۰ درصد در ۱/۱۵ درصد (w/v) کلرور پتاسیم تهیه گردید. هموژنات با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و محلول شناور جهت سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی از طریق اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌آلدئید و همچنین برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز<sup>۲</sup>، کاتالاز<sup>۳</sup>، گلوکاتیون پرکسیداز<sup>۴</sup> مورد استفاده قرار گرفت. مالون‌دی‌آلدئید، به‌عنوان مقیاسی از پراکسیداسیون چربی، در قالب واکنش تیوباربیتوریک اسید<sup>۵</sup> و با استفاده از روش استرن بارو و چیز من<sup>۶</sup> در بافت قلب و با روش ساتو<sup>۷</sup> (۲۹) در ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مورد سنجش قرار گرفت و مقدار تیوباربیتوریک اسید به‌صورت نانومول در میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (۳۰). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌صورت واحدهای قراردادی در میلی‌گرم پروتئین عنوان گردید. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در بافت قلب توسط روش نیشیکیمی<sup>۸</sup> (۳۱) و در ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس به‌روش سان<sup>۹</sup> و همکاران (۱۹۸۸) (۳۲) اندازه‌گیری شدند. هر واحد از فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به‌صورت غلظت آنزیم مورد نیاز برای ممانعت از تولید رنگ تا ۵۰ درصد در یک دقیقه، تحت شرایط مطالعه، تعیین شد. فعالیت کاتالاز در بافت قلب توسط روش کلایبورن<sup>۱۰</sup> (۳۳) و در ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس به روش آبی<sup>۱۱</sup> (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد (۳۴). براساس تجزیه

1. Cuello
2. Superoxide\_Dismutase (SOD)
3. Catalase (CAT)
4. Glutathione peroxidase (GPX)
5. Thiobarbituric acid reacting substances (TBARS)
6. Cheesman and Esterbauer
7. Satho
8. Nishikimi
9. Sun
10. Claiborne
11. Abei

پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ nm، به شکل "فعالیت کاتالاز در دقیقه" محاسبه گردید. فعالیت گلووتاتیون پراکسیداز با استفاده از روش روتورک و همکاران<sup>۱</sup> (۳۵) و بر اساس واکنش  $H_2O + GSSG$  : (گلووتاتیون احیا)  $H_2O_2 + 2GSH$  (گلووتاتیون اکسید) در هر دو بافت مورد سنجش قرار گرفته و به صورت میکرومول گلووتاتیون اکسید/دقیقه/میلی گرم پروتئین بیان گردید. غلظت پروتئین ناحیه پیش حرکتی کورتکس مغز با رسم استاندارد با استفاده از محلول ۱ mg/ml آل‌بومین سرم گاوی<sup>۲</sup> به روش برادفورد اندازه‌گیری و محاسبه گردید (۳۶).



شکل ۱- طرح شماتیک نحوه جمع‌آوری داده‌های پژوهش

T1: هشت سر قربانی شدند

T2: هشت سر از هر زیرگروه قربانی شدند (۳۲ سر)

T3: هشت سر موش باقی مانده از هر زیرگروه قربانی شدند (۳۲ سر).

F: آشناسازی با نوارگردان (یک هفته)

R<sub>1</sub>: استراحت (هشت هفته)

R<sub>2</sub>: استراحت (۴۸ ساعت)

EX: فعالیت ورزشی (هشت هفته)

1. Rotruck
2. Bovine Serum Albumin (BSA)

جهت تجزیه و تحلیل آماری یافته‌های پژوهش از آزمون K-S برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. در مرحله پیش‌آزمون و پس‌آزمون، برای مقایسه میانگین وزنی و زمان وامانده‌شدن، مقایسه میانگین متغیرهای مورد اندازه‌گیری زیرگروه‌های مختلف از تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. به‌منظور مشاهده تأثیر نوع کارآزمایی (زمان/تمرین/کنترل) و وضعیت مصرف دو نوع مکمل (مصرف آب مقطر/مصرف عصاره آبی زعفران) در طول زمان بر تمام متغیرهای مورد اندازه‌گیری، از تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر دوراهه ۳×۲ استفاده شد. در صورت مشاهده اثر تعاملی بین عامل‌ها و زمان، برای مقایسه درون‌گروهی از تحلیل واریانس اندازه‌گیری مکرر (آزمون تعقیبی بونفرونی) استفاده شد. در تمام آزمون‌ها، سطح معناداری برابر با  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. از نرم افزار اس.پی.اس.اس نسخه ۱۶ جهت انجام عملیات آماری استفاده شد.

یافته‌های حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه، نشان می‌دهد در ابتدای شروع مطالعه، تفاوت معناداری بین میانگین وزنی زیرگروه‌های مختلف مشاهده نشد. همچنین تفاوت معناداری بین زمان وامانده‌شدن زیرگروه‌های مختلف مشاهده شد (جدول یک). همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب زیرگروه ETSW به‌طور معناداری در مرحله دوم و سوم اندازه‌گیری نسبت به سایر زیرگروه‌ها کمتر و میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب زیرگروه ETSW در مرحله دوم اندازه‌گیری به‌طور معناداری نسبت به سایر زیرگروه‌ها بیشتر بود (شکل دو و سه).

جدول ۱- زمان وامانده‌شدن گروه‌های مختلف در انتهای پژوهش (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

گروه	تیمار	زمان وامانده‌شدن (دقیقه)
C	CW = آب مقطر	$12/6 \pm 1/7^L$
	CSW = آب مقطر + عصاره زعفران	$15/5 \pm 3$
ET	ETW = تمرین + عصاره زعفران	$39/7 \pm 5^*$
	ETSW = تمرین + عصاره زعفران	$42/6 \pm 8^{*H}$

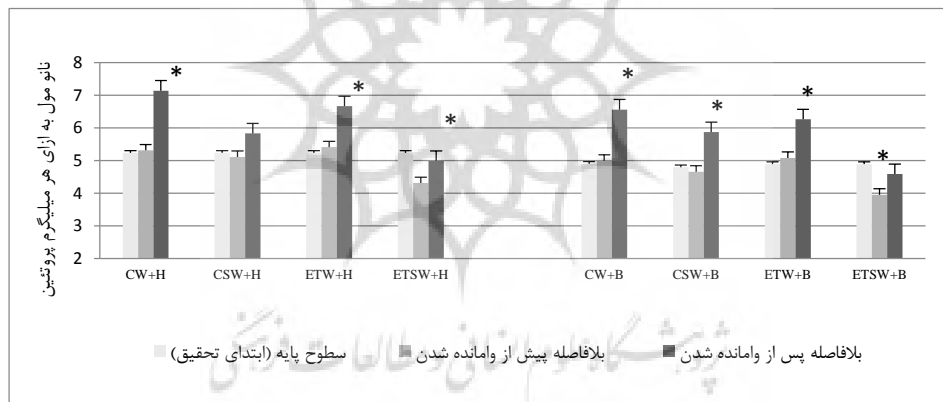
\* اختلاف معنا دار با سایر گروه‌ها.

L و H به ترتیب کمترین و بیشترین میزان نسبت به سایر گروه‌ها، سطح معناداری ( $P < 0.05$ ).

ابتدا با مشاهده معناداری تأثیر تعاملی نوع کارآزمایی (زمان/تمرین/کنترل) و وضعیت مصرف دو نوع مکمل (مصرف آب مقطر/مصرف عصاره آبی زعفران)، (زمان  $\times$  فعالیت ورزشی ( $P = 0.001$ ))؛ زمان  $\times$  دو نوع مکمل ( $P = 0.001$ )؛ زمان  $\times$  فعالیت ورزشی  $\times$  دو نوع مکمل ( $P = 0.006$ ) در طول

زمان بر تمام متغیرهای مورد اندازه‌گیری با استفاده از تحلیل واریانس اندازه‌گیری مکرر دورا، در ادامه برای مقایسه درون گروهی از تحلیل واریانس اندازه‌گیری مکرر یک‌راهه استفاده شد و نتایج زیر حاصل گردید.

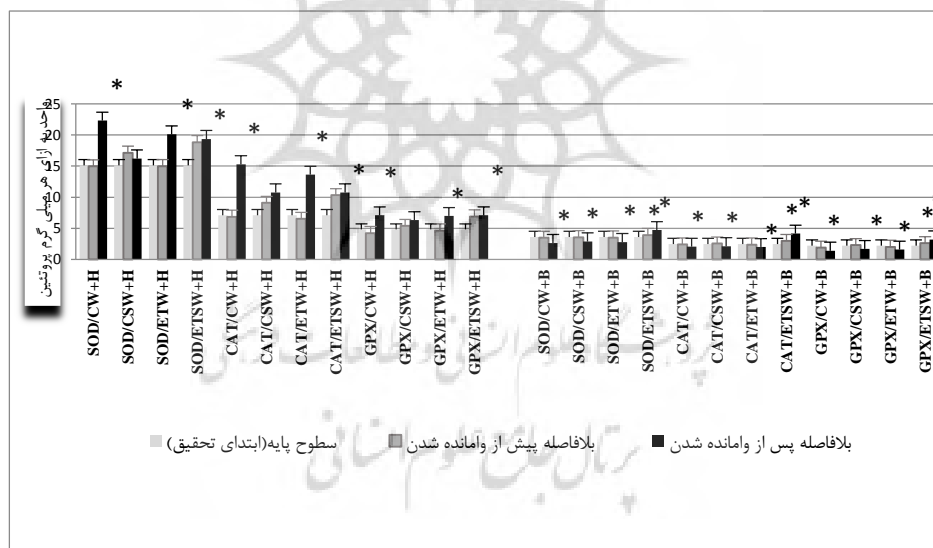
میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز زیرگروه ETSW = مصرف عصاره + تمرین ( $P=0.043$ )؛ همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب این زیرگروه ( $P=0.022$ ) به‌طور معناداری در مرحله دوم در مقایسه با مرحله اول کاهش نشان داد (شکل دو). در سایر زیرگروه‌ها اختلاف معناداری بین مرحله دوم در مقایسه با مرحله اول مشاهده نشد (شکل دو). همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز زیرگروه‌های CW = آب مقطر ( $P=0.001$ )؛ CSW = عصاره زعفران ( $P=0.001$ )؛ ETW = تمرین + آب مقطر ( $P=0.001$ ). همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب زیرگروه‌های CW = آب مقطر ( $P=0.001$ )؛ ETW = تمرین + آب مقطر ( $P=0.001$ ) به‌طور معناداری در مرحله سوم در مقایسه با مرحله دوم افزایش نشان داد (شکل دو).



شکل ۲- میزان MDA ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز (B) و بافت قلب (H) در طی سه مرحله اندازه‌گیری \* تغییر معنادار نسبت به مرحله قبلی اندازه‌گیری ( $P < 0.05$ )

میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتاتیون پراکسیداز ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز در زیرگروه ETSW = مصرف عصاره + تمرین ( $SOD, P=0.016$ ;  $CAT, P=0.001$ ); و در بافت قلب هم در این زیرگروه ( $SOD, P=0.043$ ;  $CAT, P=0.036$ );  $GPx, P=0.022$ ) به‌طور معناداری در مرحله دوم در مقایسه با مرحله اول افزایش نشان داد (شکل سه).

سایر زیرگروه‌ها اختلاف معناداری بین مرحله دوم در مقایسه با مرحله اول مشاهده نشد (شکل سه). همچنین میزان فعالیت هر سه آنزیم ناحیه پیش حرکتی کورتکس مغز زیرگروه‌های CW = آب مقطر (SOD, P=0.001; CAT, P=0.001; GP<sub>x</sub>, P=0.001) عصاره زعفران = CSW (SOD, P=0.001; CAT, P=0.001; GP<sub>x</sub>, P=0.001) تمرین + آب مقطر (SOD, P=0.001; CAT, P=0.001; GP<sub>x</sub>, P=0.002) به‌طور معناداری در مرحله سوم در مقایسه با مرحله دوم کاهش و در زیرگروه ETCW = تمرین + عصاره زعفران (SOD, P=0.001; CAT, P=0.001; GP<sub>x</sub>, P=0.005) به‌طور معناداری افزایش نشان داد. همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های بافت قلب زیرگروه‌های CW = آب مقطر (SOD, P=0.001; CAT, P=0.001; GP<sub>x</sub>, P=0.001) و تمرین + آب مقطر = ETW (SOD, P=0.001; CAT, P=0.001; GP<sub>x</sub>, P=0.002) به‌طور معناداری در مرحله سوم در مقایسه با مرحله دوم افزایش نشان داد. فعالیت آنزیم‌های بافت قلب در سایر زیرگروه‌ها در این مرحله تغییر معناداری مشاهده نشد (شکل سه).



شکل ۳- میزان MDA ناحیه پیش حرکتی کورتکس مغز (B) و بافت قلب (H) در طی سه مرحله اندازه‌گیری \* تغییر معنادار نسبت به مرحله قبلی اندازه‌گیری (P < 0.05).

## بحث و نتیجه گیری

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که فعالیت حاد و امانده‌ساز موجب افزایش معنادار میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز در زیرگروه‌های CW,CSW,ETW و افزایش معنادار شاخص مذکور در بافت قلب زیرگروه‌های CW,ETW گردید. روزا<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۷) تساکیریس<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۶) تورگت<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۲) همسو با پژوهش حاضر عنوان کردند غلظت مالون‌دی‌آلدئید بافت مغز متعاقب یک وهله فعالیت حاد و امانده‌ساز به‌طور معناداری افزایش می‌یابد (۸-۶). از سویی، نتایج این بخش از پژوهش با نتایج پژوهش‌های لئو و همکاران (۲۰۰۰)، سومانی و همکاران (۱۹۹۶)، آکیگوس و همکاران (۲۰۰۶) که عنوان کردند یک وهله فعالیت حاد و امانده‌ساز اثر معناداری بر مالون‌دی‌آلدئید مغز ندارد در تضاد است (۳۹-۳۷). همچنین وندیتی و همکاران (۱۹۹۶)، خانا و همکاران (۱۹۹۹) افزایش معناداری میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب را پس از یک وهله فعالیت حاد و امانده‌ساز در گروه‌های کنترل گزارش کردند که با نتایج پژوهش حاضر همسو است (۱۳،۱۴). با وجود این، نتایج این بخش از پژوهش با نتایج مطالعهٔ خانان<sup>۴</sup> و همکاران (۱۹۹۹) بجمما<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۰۰) که گزارش کردند یک وهله فعالیت حاد و امانده‌ساز تأثیر معناداری بر میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب ندارد در تضاد است (۱۳،۴۰). مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان مارکر پراکسیداسیون لیپیدی استرس اکسیداتیو، فرآوردهٔ نهایی تجزیهٔ لیپیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن است. بنابراین افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب و ناحیهٔ پیش‌حرکتی مغز نشان‌دهندهٔ افزایش آسیب غشاء سلولی در این بافت‌ها به‌علت افزایش استرس اکسیداتیو و از سویی، اختلال در مکانیزم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی این بافت‌ها در واکنش به یک وهله فعالیت حاد و امانده‌ساز است (۴۱). در بخش دیگری از یافته‌های پژوهش حاضر فرضیهٔ فوق مبنی بر کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکوتایون پرکسیداز) در نتیجه بروز استرس اکسیداتیو نشان داده شد، به شکلی که در ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز زیرگروه‌های (CW,CSW, ETW) که میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز آن‌ها متعاقب و امانده‌شدن افزایش معناداری یافته بود، به‌طور معناداری کاهش نشان داد و در مقابل میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مذکور در ناحیهٔ پیش‌حرکتی کورتکس مغز

- 
1. Rosa
  2. Tsakiris
  3. Turgut
  4. Khanna
  5. Bejma

گروه ETSW که میزان مالون دی‌آلدئید آن تغییر معناداری نیافته بود به‌طور معناداری نسبت به پیش از وامانده‌شدن افزایش نشان داد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین خط دفاعی سیستم دفاع آنزیمی علیه تولید گونه‌های فعال اکسیژن در خلال ورزش‌های وامانده‌ساز است. کاهش میزان فعالیت این آنزیم نشان‌دهنده کاهش بلوکه‌شدن تشکیل یون هیدروکسیل از پراکسید هیدروژن است. بنابراین غلظت رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد که منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود (۴۲). همچنین فعالیت کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز باعث جلوگیری از تشکیل رادیکال هیدروکسیل، از طریق تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن دو اتمی می‌شود. گلووتاتیون پراکسیداز توسط پراکسید هیدروژن به گلووتاتیون<sup>۱</sup> تبدیل می‌شود (۴۲). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن تبدیل می‌کند. حذف پراکسید هیدروژن برای تکمیل کار سوپراکسید دیسموتاز جهت کاهش آثار مضر استرس اکسیداتیو حیاتی است. حذف پراکسید هیدروژن را آنزیم کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز با تبدیل آن به آب و اکسیژن انجام می‌دهند. علاوه بر این، کاتالاز درگیر در سم‌زدایی غلظت بالای پراکسید هیدروژن و گلووتاتیون پراکسیداز بوده و نسبت به کاهش پراکسید هیدروژن حساس است (۴۲). بنابراین کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان‌دهنده نارسایی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان برای مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه افزایش میزان مالون دی‌آلدئید است. در مقابل، افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور احتمالاً ناشی از افزایش ظرفیت دفع گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در بافت است که باعث شده میزان مالون دی‌آلدئید ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز موش‌ها در زیرگروه ETSW و میزان مالون دی‌آلدئید بافت قلب در زیرگروه‌های CSW, ETSW بر خلاف سایر زیرگروه‌ها افزایش معناداری نشان ندهد. با توجه به یافته دیگر پژوهش حاضر مبنی بر افزایش معنادار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز و کاهش سطوح مالون دی‌آلدئید ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب در وضعیت استراحت پیش از وامانده‌شدن نسبت به سطوح پایه ابتدای پژوهش، در زیرگروه عصاره آبی زعفران + تمرینات ورزشی (ETSW) سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی این زیرگروه تقویت شده است و باعث شد در حین وامانده‌سازی، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب کارآیی لازم را برای دفع گونه‌های فعال اکسیژن تولیدی داشته‌باشد و از افزایش معنادار مالون دی‌آلدئید نسبت به پیش از وامانده‌شدن جلوگیری شود. نتایج این بخش از پژوهش در مورد جلوگیری از افزایش معنادار مالون دی‌آلدئید مغز در واکنش به فعالیت وامانده‌ساز با استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، با نتایج پژوهش‌های روزا و همکاران (۲۰۰۷) و آکیل و همکاران (۲۰۱۱)

#### 1. Glutathione (GSH)

(۶،۴۳)، و در مورد استفاده از زعفران برای جلوگیری از افزایش مالون‌دی‌آلدئید مغز در محیط آزمایشگاهی، با نتایج پژوهش‌های حسین زاده و همکاران (۲۰۰۵)، تمدن فرد و همکاران (۲۰۱۳) (۲۵،۲۶) همسو است و در مورد اثرات جلوگیری کننده عصاره زعفران بر پراکسیداسیون بافت قلب با نتایج پژوهش‌های جاسپریت و همکاران (۲۰۱۰)، مهدی زاده و همکاران (۲۰۱۳) همسو است (۲۳،۲۴). از تئوری هورمزیس<sup>۱</sup>، که در مورد تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است، می‌توان در توجیه این مورد که چرا مصرف عصاره زعفران (زیرگروه CSW) و یا تمرین ورزشی (زیرگروه ETW) به‌تنهایی نتوانست متعاقب هشت هفته تغییر معناداری در سطوح پایه‌ای شاخص‌های مالون‌دی‌آلدئید و یا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ایجاد کند و در عوض ترکیب ورزش و مصرف عصاره زعفران (زیرگروه ETSW) اثرات معنادار مثبتی را بر شاخص‌های فوق داشت، کمک گرفت. بر اساس تئوری هورمزیس، گونه‌های فعال اکسیژن از طریق فعال‌سازی مسیرهای حساس دوگانه درون سلولی، بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دیگر محافظان پروتئینی سلولی را جهت سازگاری با استرس اکسیداتیو و با هدف حفظ هموستاز سلولی افزایش می‌دهد (۱۲). غلظت‌های بالا و یا عدم تولید گونه‌های فعال اکسیژن نقش بازدارنده‌ای در سازگاری‌های درون‌سلولی دارند. غلظت بهینه درون‌سلولی هیدروژن پراکسید جهت تنظیم مثبت رونویسی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در محدوده دو تا ۱۵ میکرومول، بسته به نوع سلول موردنظر، مطلوب گزارش شده‌است (۱۲). از سویی، همانطور که عنوان شد، عصاره زعفران در پژوهش جاری فقط از افزایش معنادار مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص افزایش گونه‌های فعال اکسیژن فراتر از ظرفیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی جلوگیری کرده و نقش بلوکه کننده ۱۰۰ درصدی را در جلوگیری از افزایش مالون‌دی‌آلدئید نداشته‌است. بنابراین، با تولید این گونه‌های فعال اکسیژن در طی هشت هفته تمرین به سلول اجازه سازگاری با شرایط و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را داده‌است. بنابراین، عصاره زعفران نقش تعدیل‌کننده‌ای در تولید گونه‌های فعال اکسیژن داشته و در حقیقت شرایطی را فراهم آورده که میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن در پژوهش حاضر در زیرگروه ETSW در حد تمریناتی با شدت پایین‌تر تنظیم شود. از طرفی، زیرگروه ETW که فقط تمرین ورزشی انجام دادند، احتمالاً به‌دلیل شدت بالای تمرین در پروتکل پژوهش حاضر و تولید بیش از حد بهینه گونه‌های فعال اکسیژن که دارای اثرات بلوکه‌کنندگی بر تنظیم مثبت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دارند و از سویی زیرگروه دریافت‌کننده عصاره زعفران (زیرگروه CSW) به‌دلیل عدم تولید گونه‌های فعال اکسیژن به‌دلیل عدم تمرین ورزشی، افزایش فعالیت در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت‌های آن‌ها متعاقب هشت هفته



حاصل نشد. در دیگر یافته پژوهش حاضر مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز در زیرگروه‌های CW,ETW که میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب آن‌ها متعاقب فعالیت حاد و امانده‌ساز افزایش معناداری یافته بود، به‌طور معناداری افزایش نشان داد و در گروه‌هایی که مالون‌دی‌آلدئید آن‌ها افزایش نیافت، تغییر معناداری مشاهده نشد. این نتایج در مقایسه با واکنش ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز متعاقب فعالیت حاد و امانده‌ساز دارای الگوی متفاوتی بود. احتمالاً تفاوت در واکنش آنزیم‌های دو بافت متفاوت مربوط به تفاوت در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان این دو بافت باشد. عنوان شده که سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز نسبت به سایر بافت‌ها ضعیف‌تر است (۱۲). بنابراین، احتمالاً سایر بافت‌ها در خلال فعالیت‌های امانده‌ساز نسبت به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، آسیب‌پذیرتر بوده‌است و احتمالاً واکنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی این بافت به استرس اکسیداتیو نسبت به بافت‌های دیگر متفاوت باشد. احتمالاً یکی از دلایلی که مصرف عصاره زعفران در زیرگروه CSW نتوانست از افزایش معناداری مالون‌دی‌آلدئید ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز متعاقب امانده‌شدن جلوگیری کند، همین تفاوت در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی دو بافت مذکور باشد (در حالی که از افزایش مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب این زیرگروه متعاقب امانده‌شدن جلوگیری کرد). در انتها لازم به‌ذکر است که نتایج حاصل از پژوهش حاضر در مورد زیرگروه‌های CSW, CW که نشان داد بین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز و میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت قلب و ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز این زیرگروه‌ها در مرحله دوم اندازه‌گیری در مقایسه با مرحله اول تفاوت معناداری مشاهده نشد با نتایج پژوهش‌های بروکس و همکاران (۱۹۷۸) (۲۷) که عنوان کردند اجرای پروتکل تمرینی یک هفته‌ای تأثیر معناداری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نداشته و این پروتکل فقط جهت تحمل پروتکل‌های تمرینی و امانده‌ساز طراحی شده تأیید می‌کند.

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد انجام یک دوره تمرینات استقامتی و یا مصرف عصاره زعفران هر کدام به‌تنهایی تغییر معناداری در میزان مالون‌دی‌آلدئید و یا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در وضعیت استراحت پیش از تمرین در ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب ایجاد نمی‌کند و یا قادر به جلوگیری از افزایش معنادار میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز متعاقب یک وهله فعالیت و امانده‌ساز نیست. با وجود این، مصرف عصاره و انجام همزمان تمرین استقامتی، میزان مالون‌دی‌آلدئید را در ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز و بافت قلب کاهش و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در دو بافت ذکر شده افزایش می‌دهد و از تغییرات معنادار میزان مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی قلب و میزان مالون‌دی‌آلدئید ناحیه پیش‌حرکتی

کورتکس مغز متعاقب یک وهله فعالیت وامانده‌ساز هوازی جلوگیری می‌کند. همچنین مصرف عصاره زعفران به‌تنهایی از تغییرات معنادار شاخص‌های یاد شده در قلب، متعاقب وامانده‌شدن جلوگیری کرد. این اثرات عصاره زعفران احتمالاً از طریق تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و به‌ویژه بلوکه کردن تولید و عملکرد رادیکال‌ها و گونه‌های اکسیژن فعال اعمال می‌شود. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت‌های قلب و ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز به مصرف یک دوره عصاره زعفران ممکن است واکنش‌های متفاوتی داشته باشند؛ به شکلی که مصرف این عصاره به تنهایی در قلب منجر به تقویت این سیستم شده درحالی‌که در ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس چنین واکنش‌سازی قابل مشاهده نیست. مصرف عصاره زعفران در جهت جلوگیری از افزایش پراکسیداسیون لیپیدی بافت قلب و مصرف عصاره زعفران همزمان با تمرینات استقامتی در ناحیه پیش‌حرکتی کورتکس مغز به‌ویژه در فعالیت‌های ورزشی وامانده‌ساز هوازی تأثیرگذار است و از اثرات منفی ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی بافت قلب جلوگیری نمود. می‌توان به ورزشکاران رشته‌های استقامتی که در حال انجام تمرینات شدید هستند توصیه کرد از این عصاره استفاده کنند. گرچه در این زمینه نیازمند پژوهش‌های بیشتری به‌ویژه با استفاده از نمونه‌های انسانی هستیم که در آن‌ها شاخص‌های آسیب قلبی و یا سیستم اعصاب مرکزی موجود در سرم متعاقب ورزش‌های وامانده‌ساز پس از مصرف عصاره زعفران اندازه‌گیری شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل رساله دکتری، دانشگاه گیلان بود. در پایان، از راهنمایی‌های ارزنده آقایان دکتر بهمن میرزایی و دکتر بهرام رسولیان، همکاری پرسنل مرکز پژوهش‌های داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان جهت انجام این طرح و همچنین تأمین بخشی از بودجه مالی این طرح توسط مرکز یاد شده، تشکر و قدردانی می‌گردد.

### منابع

1) Haskell WL, Lee I-M, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation*. 2007;116(9):1081.

۲) بمبئی چی عفت. تاثیر پیاده روی منظم بر عوامل خطرزای قلبی عروقی و خطر بروز بیماری قلبی عروقی در زنان یائسه با سابقه سیکل عادت ماهیانه نامنظم در سنین باروری. فیزیولوژی ورزشی. ۱۳۹۲؛ ۵(۱۷): ۵۰-۱۳۱.

- 3) Bherer L, Erickson KI, Liu-Ambrose T. A review of the effects of physical activity and exercise on cognitive and brain functions in older adults. *Journal of aging research*. 2013;24(7):1-8.
- 4) Ascensão A, Magalhães J, Soares J, Ferreira R, Neuparth M, Marques F, et al. Endurance training attenuates doxorubicin-induced cardiac oxidative damage in mice. *International journal of cardiology*. 2005;100(3):451-60.
- 5) Tofler GH, Muller JE, Stone PH, Forman S, Solomon RE, Knatterud GL, et al. Modifiers of timing and possible triggers of acute myocardial infarction in the Thrombolysis in Myocardial Infarction Phase II (TIMI II) Study Group. *Journal of the American College of Cardiology*. 1992;20(5):1049-55.
- 6) Rosa EF, Takahashi S, Aboulafia J, Nouailhetas VL, Oliveira MG. Oxidative stress induced by intense and exhaustive exercise impairs murine cognitive function. *Journal of neurophysiology*. 2007;98(3):1820-6.
- 7) Tsakiris T, Angelogianni P, Tesseromatis C, Tsakiris S, Tsopanakis C. Alterations in Antioxidant Status, Protein Concentration, Acetylcholinesterase, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase, and Mg<sup>2+</sup>-ATPase Activities in Rat Brain after Forced Swimming. *International journal of sports medicine*. 2006;27(01):19-24.
- 8) 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 physiologica et pharmacologica Bulgarica*. 2002;27(2-3):43-5.
- 9) Kasap S, Genç A, Kar DE, Hisar . Serum cardiac markers in patients with acute myocardial infarction: oxidative stress, C-reactive protein and N-terminal probrain natriuretic peptide. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. 2007;41(1):50.
- 10) Atalay M, Sen CK. Physical Exercise and Antioxidant Defenses in the Heart. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1999;874(1):169-77.
- 11) Kregel KC. Invited review: heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *Journal of Applied Physiology*. 2002;92(5):2177-86.
- 12) Ji LL, Radak Z, Goto S. Hormesis and exercise: how the cell copes with oxidative stress. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2008;3(1):44.
- 13) Khanna S, Atalay M, Laaksonen DE, Gul M, Roy S, Sen CK. -lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise. *Journal of Applied Physiology*. 1999;86(4):1191-6.
- 14) Venditti P, Di Meo S. Antioxidants, tissue damage, and endurance in trained and untrained young male rats. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1996;331(1):63-8.
- 15) Ji L. Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. *Free Radical Biology and Medicine*. 1995;18(6):1079-86.
- 16) Messina S, Altavilla D, Seminara P, Minutoli L, Monici MC, Bitto A, et al. Lipid Peroxidation Inhibition Blunts Nuclear Factor- $\kappa$ B Activation, Reduces Skeletal Muscle Degeneration, and Enhances Muscle Function in Mice. *The American journal of pathology*. 2006;168(3):918-26.
- 17) Corrigan B, Kazlauskas R. Medication use in athletes selected for doping control at the Sydney Olympics (2000). *Clinical Journal of Sport Medicine*. 2003;13(1):33-40.

- 18) Lonn E, Bosch J, Yusuf S, Sheridan P, Pogue J, Arnold J, et al. Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial. *JAMA: the journal of the American Medical Association*. 2005;293(11):1338-47.
- 19) Aviram M, Dornfeld L, Kaplan M, Coleman R, Gaitini D, Nitecki S, et al. Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugs under experimental and clinical Research*. 2002;28(2-3):49-62.
- 20) Hosseinzadeh H, Modagheh MH, Saffari Z. Crocus sativus L.(Saffron) extract and its active constituents (crocin and safranal) on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2009;6(3):343-50.
- 21) Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*. 2001;74(4):418-25.
- (۲۲) معمار باشی عباس، رجبی علی. تأثیر ده روز مصرف خوراکی زعفران بر علائم بیوشیمیایی و عملکردی کوفتنگی عضلانی تأخیری. *فیزیولوژی ورزشی*. ۱۳۹۲؛ ۵ (۱۸): ۶۶-۵۳.
- 23) Sachdeva J, Tanwar V, Golechha M, Siddiqui KM, Nag TC, Ray R, et al. Crocus sativus L.(saffron) attenuates isoproterenol-induced myocardial injury via preserving cardiac functions and strengthening antioxidant defense system. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2012;64(6):557-64.
- 24) Mehdizadeh R, Parizadeh MR, Khooei A-R, Mehri S, Hosseinzadeh H. Cardioprotective effect of saffron extract and safranal in isoproterenol-induced myocardial infarction in wistar rats. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2013;16(1):56.
- 25) Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR. Safranal, a constituent of Crocus sativus (saffron), attenuated cerebral ischemia induced oxidative damage in rat hippocampus. *J Pharm Pharm Sci*. 2005;8(3):394-9.
- 26) Tamaddonfard E, Farshid AA, Asri-Rezaee S, Javadi S, Khosravi V, Rahman B, et al. Crocin Improved Learning and Memory Impairments in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2013;16(1):91.
- 27) Brooks GA, White TP. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *Journal of applied physiology*. 1978;45(6):1009-15.
- 28) Cuello AC. *Brain microdissection techniques*: John Wiley & Sons; 1983.
- 29) Kei S. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*. 1978;90(1):37-43.
- 30) Esterbauer H, Cheeseman KH. [42] Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in enzymology*. 1990;186:407-21.
- 31) Nishikimi M, Appaji Rao N, Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochemical and biophysical research communications*. 1972;46(2):849-54.

- 32) Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*. 1988;34(3):497-500.
- 33) Claiborne A. Catalase activity. *CRC handbook of methods for oxygen radical research*. 1985;1:283-4.
- 34) Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*. 1984;105:121-6.
- 35) Rotruck J, Pope A, Ganther H, Swanson A, Hafeman DG, Hoekstra W. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*. 1973;179(4073):588-90.
- 36) Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 1976;72(1):248-54.
- 37) Liu J, Yeo HC, Övervik-Douki E, Hagen T, Doniger SJ, Chu DW, et al. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *Journal of Applied Physiology*. 2000;89(1):21-8.
- 38) Somani SM, Husain K. Exercise training alters kinetics of antioxidant enzymes in rat tissues. *Biochemistry and molecular biology international*. 1996;38(3):587.
- 39) Acikgoz O, Aksu I, Topcu A, Kayatekin BM. Acute exhaustive exercise does not alter lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. *Neuroscience letters*. 2006;406(1):148-51.
- 40) Bejma J, Ramires P, Ji L. Free radical generation and oxidative stress with ageing and exercise: differential effects in the myocardium and liver. *Acta physiologica scandinavica*. 2000;169(4):343-51.
- 41) Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullou M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2006;64(2):178-89.
- 42) Warner DS, Sheng H, Batini -Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *Journal of experimental biology*. 2004;207(18):3221-31.
- 43) Akil M, Bicer M, Menevse E, Baltaci A, Mogulkoc R. Selenium supplementation prevents lipid peroxidation caused by arduous exercise in rat brain tissue. *Bratislavské lekárske listy*. 2011;112(6):314.

ارجاع دهی به روش ونکوور

خسروی امیر، میرزایی بهمن، مهربانی جواد، رسولیان بهرام. اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف عصاره آبی کلالة زعفران بر میزان مالون دی آلدئید و سیستم آنتی اکسیدانی قلب و ناحیه پیش حرکتی کورتکس مغز موش های صحرائی نر جوان پس از یک جلسه فعالیت حاد وامانده ساز. *فیزیولوژی ورزشی*. بهار ۱۳۹۴؛ ۷(۲۵): ۳۰-۱۰۹.

**The interaction effects of aerobic training and Saffron extracts consumption on anti-oxidant defense system of heart and brain premotor cortex of young male rats following an acute bout of exhaustive endurance exercise**

**A. Khosravi<sup>1</sup>, B. Mirzaei<sup>2</sup>, J. Mehrabani<sup>3</sup>, B. Rasoulian<sup>4</sup>**

1. Assistant Professor at Ayatollah Boroujerdi University
2. Associate Professor at University of Guilan\*
3. Assistant Professor at University of Guilan
4. Associate Professor at Lorestan University of Medical Sciences

Received date: 2014/01/06

Accepted date: 2014/08/25

---

**Abstract**

The present study aims to investigate the interaction effects of aerobic training and Saffron extracts consumption on anti-oxidant defense system of heart and brain premotor cortex of young male rats following an acute bout of exhaustive endurance exercise. Sixty four Rats with an age of 3 moons (weight  $212 \pm 26$  gr) were assigned to four equal subgroups: 1-CW; Distilled water received. 2- CSW; aqueous saffron extract received; 3- ETW; Distilled water + training. 4- ETSW; aqueous saffron extract + training. The Rats in an aerobic training group ran on a treadmill (60 min /day, 5 days/wk at 25m/min in 10% Incline) for 5 consecutive days a week. Control group did not exercise. At the end of the study period, half of each subgroup immediately before, and remained rats were killed immediately after exhaustive and measured manually, the activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and malondialdehyde and protein concentration levels of heart and brain premotor cortex. The data were analyzed by two and one-way repeated ANOVA, Showed that Lipid peroxidation levels, in the heart (subgroups 1 3) and brain premotor cortex (subgroups 1 2, 3) tissues were significantly increased due to exhaustive. The interactive effect between exercise and Saffron extracts (subgroups 3) prevented the increased lipid peroxidation level due to exhaustive. Results of the study indicate that interaction of aerobic training and Saffron extracts can reduce the lipid peroxidation level, in the heart and brain premotor cortex tissues due to exhaustive exercise. However, since few studies have been conducted in this area, more research is needed.

**Keywords:** Saffron extracts, Anti-oxidant enzymes, Exhaustive exercise

---

---

\* Corresponding author

E-mail: bmirzaei2000@yahoo.com